

ČESKOSLOVENSKÁ  
VĚDECKÁ SPOLEČNOST  
PRO MYKOLOGII

ČESKÁ  
MYKOLOGIE

ROČNÍK

44

ČÍSLO

4

ACADEMIA/PRAHA

LISTOPAD 1990

ISSN 0009 - 0476

# ČESKÁ MYKOLOGIE

Časopis Čs. vědecké společnosti pro mykologii k šíření znalostí hub po stránce  
vědecké i praktické  
pošt. příhr. 106, 111 21 Praha 1

Ročník 44

Číslo 4

Listopad 1990

Vedoucí redaktor: prof. RNDr. Zdeněk Urban, DrSc.

Redakční rada: RNDr. Dorota Brillová, CSc.; RNDr. Marie Červená, CSc.;  
RNDr. Petr Fragner; MUDr. Josef Herink; RNDr. Věra Holubová, CSc.; RNDr.  
František Kotlaba, CSc. (zástupce vedoucího redaktora); RNDr. Vladimír Musilek,  
DrSc., člen koresp. ČSAV; doc. RNDr. Jan Nečásek, CSc.; inž. Cyprián Paulech,  
CSc.; RNDr. Václav Šašek, CSc.

Výkonný redaktor: RNDr. Mirko Svrček, CSc.

Příspěvky zasílejte na adresu výkonného redaktora: Národní muzeum, Václavské  
nám. 68, 115 79 Praha 1, telefon 26 94 51—59.

3. sešit vyšel 22. října 1990

## OBSAH

P. Fragner a P. Miřejovský: Klíč k histologickému určování původců systémových mykóz IV.	193
J. Klán a D. Baudišová: Enzymatická aktivita myceliových kultur saprotrofních makromycetů (Basidiomycotina). I. Metody stanovení hydroláz	203
J. Klán a D. Baudišová: Enzymatická aktivita myceliových kultur saprotrofních makromycetů (Basidiomycotina a Ascomycotina). II. Metody stanovení oxidoreduktáz	212
J. Klán: Význam ligninového testu v mykotoxikologii a chemotaxonomii hub	220
J. Klán a D. Baudišová: Toxicita muchomůrky zelené ( <i>Amanita phal- loides</i> ) v octovém nálevu	225
F. Kotlaba a Z. Pouzar: Studie o typech chorošů popsaných A. Pilá- tem — III.	228
J. Vlasák: <i>Antrodiella citrinella</i> — nový choroš pro ČSFR	238
O. Fassatiová a M. Pěčková: <i>Sagenomella bohémica</i> Fassatiová et Pěčková sp. n. (Moniliales)	240
J. Benada: Méně časté příznaky napadení obilnin dvěma parazitickými houbami	243
V. Šašek: Významné životní výročí RNDr. Anastázie Ginterové, CSc.	244
S. Sebek a C. Paulech: Významná životní jubilea členů Čs. vědecké společnosti pro mykologii v roce 1990	250
Referáty o literatuře: E. J. H. Corner, <i>Ad polyporaceas</i> V., VI. (F. Kotlaba a Z. Pouzar, str. 249); D. F. Farr, G. F. Bills, G. P. Chamuris et A. Y. Roseman, <i>Fungi on plants and plant products in the United States</i> (Z. Urban, str. 253); M. J. Larsen et L. A. Cobb-Pouille, <i>Phenillinus</i> (Hymeno- chaetaceae). A survey of the world taxa (F. Kotlaba a Z. Pouzar, str. 254); S. Sunhede, <i>Geastraceae</i> (Basidiomycotina) (F. Kotlaba a Z. Pouzar, str. 255).	
Přílohy: černobílé tabule:	
XI. <i>Puccinia persistens</i> var. <i>triticina</i> (Erikss.) Urb. et Mark.	
XII. Enzymatická aktivita of <i>Flammulina ononidis</i> a <i>Gymnopilus hybridus</i>	

# ČESKÁ MYKOLOGIE

ČASOPIS ČESKOSLOVENSKÉ VĚDECKÉ SPOLEČNOSTI PRO MYKOLOGII

ROČNÍK 44

1990

SEŠIT 4

## Klíč k histologickému určování původců systémových mykóz IV

Key to histological identification of causative agents in systemic mycoses IV

*Petr Fragner a Pavel Miřejovský*

(Dokončení)

Na základě vlastních zkušeností a údajů literatury se autoři pokusili o sestavení klíče, určujícího houby podle morfologie houbových elementů, nalézáných v histologických preparátech z lidských a zvířecích tkání.

IV. část obsahuje: Stručné informace o druzích a varietách, které zahrnují poznámky o výskytu a charakteru onemocnění lidí a zvířat, morfologii hub ve tkáních a histopatologické obrazy.

Sdělení je zakončeno seznamem literatury.

Based on author's experience and data from literature the key suggests identification of microscopical fungi according to morphology of mycotic elements found in histological sections from human and animal tissues.

Part IV: Concise information about species and varieties comprising remarks on occurrence and character of diseases in humans and animals, morphology of fungi in tissues and histopathological pictures.

The article is concluded by a list of literature.

### Zygomycetes

Nález houbových elementů v histologických preparátech je u všech druhů této skupiny velmi podobný nebo stejný. Je charakterizován coenocytickým myceliem (tj. neseptovanými vlákny, nebo jen s ojedinělými přehrádkami), často velmi širokým. Vlákna jsou větvená, deformovaná, s četnými zúženými a ztluštěninami, 2–25  $\mu\text{m}$  široká. V některých případech převládá šíře 4–6,5  $\mu\text{m}$ , kolem 10  $\mu\text{m}$  nebo 15  $\mu\text{m}$ , v jiných se vyskytují vlákna různějších rozměrů současně. Někdy vlákna 2–8  $\mu\text{m}$  v průměru se rozšiřují v kulovité, oválné a nepravidelné útvary (vesikuly), až 20  $\mu\text{m}$  velké.

K určení rodů a druhů zygomycetů je nutná kultivace. Určení druhů podle histologických preparátů je možné jen ve zcela ojedinělých případech, kdy se ve tkáních (v lokalizacích přístupných vzduchu) vytvářejí též sporangia, sporangiospory a další charakteristické součásti.

Histopatologie zygomykóz. Přesto, že různé druhy zygomycetů mají tendenci vyvolávat různé formy onemocnění (kožní, podkožní, systémové), jejich tkáňová odezva je až na výjimky stereotypní. Jde o hnisavě nekrotické až abscedující změny, prostoupené typickými, širokými houbovými vlákny. Jen u méně obvyklých, chronických onemocnění se může vedle hnisání uplatnit granulomatózní obrovskobuněčná složka zánětlivé reakce. K základním charakteristikám zygomycetů patří schopnost angioinvasze. Jejím důsledkem jsou mykotické trombózy s infarkty i běžná hematogenní či lymfogenní diseminace. Houbová vlákna se však šíří i podél cév, nervů a fascií.

Výjimkami s určitými histopatologickými zvláštnostmi jsou zejména léze vyvolané *Basidiobolus haptosporus* (lokalizované na podkoží trupu a končetin) a *Conidiobolus coronatus* (omezené převážně na rinofaciální oblast).

*Absidia corymbifera* (Cohn in Lichtheim) Saccardo et Trotter 1912  
Syll. Fung. 21:825.

Basionym: *Mucor corymbifer* Cohn in Lichtheim 1884, Zentralbl. Klin. Med. 7: 149.

Synonymum: *Absidia ramosa* (Lindt) Lendner 1908, Les mucorinées de la Suisse, Berne, 3: 1—180.

Lidská onemocnění. Diseminovaná onemocnění s postižením plic, srdce a mozku. Pancarditis při diseminované absidióze (Fragner, Mifejovský a Lukášová 1983), stomatomaxilární a rinocerebrální projevy (Fragner, Mifejovský a Lukášová 1985); otitidy (Fragner et al. 1979), nález v trepanační dutině po tympanoplastické operaci (Fragner a Maňák 1968), granulomy v kůži.

Spontánní onemocnění zvířat. Zmetání krav; mukormykóza cervikálních uzlin a laryngu u psa; postižení mízních a mezenterálních uzlin mladého skotu; akutní, ulcerující onemocnění předžaludků a tenkých střev skotu (Vítovec Vladík a Fragner 1976), uzlinová absidióza vepře (Fragner, Vítovec a Vladík 1975); postižení vzdušných vaků a ledvin papouška atd.

Nález houby v histologických preparátech. Pevně neseptovaná vlákna, 2,5 — 4,5 — 8,5  $\mu\text{m}$  v průměru, místy deformovaná, zaškrabovaná nebo rozšiřující se až na 10 — 20  $\mu\text{m}$ . Mají četné, laterální pupeny, krátké větve nebo pahýly po nich.

Na povrchu srdce (případ pancarditis) jsme našli nepravidelnou a poměrně řídkou spleť větvených, neseptovaných a deformovaných vláken, 2,5 — 6,5  $\mu\text{m}$  v průměru, z nichž některá prorůstala hluboko do tkáně. V osrdečnickovém vazivu byla na několika místech vlákna uspořádána převážně rovnoběžně s povrchem orgánu a tak hustě propletena, či činila dojem organizovaného houbového pletiva.

Ve frontálních a maxilárních sinech (případ stomatomaxilární a rinocerebrální absidiózy) jsme našli úlomky jednak rovných vláken, 2 — 6  $\mu\text{m}$  v průměru, jednak vláken větvených, většinou deformovaných a nestejně silných, 3 — 8  $\mu\text{m}$  v průměru, která se místy rozšiřovala v kulovité, oválné a nepravidelné útvary až 20  $\mu\text{m}$  velké. Septa byla patrná jen zcela ojediněle.

*Apophysomyces elegans* Misra, Srivastava et Lata 1979  
Mycotaxon 8:377—382.

Výskyt onemocnění. USA.

Lidská onemocnění. Zygomykózy po úrazech (Wieden et al. 1985), postižení ledvin a měchýře (Lawrence et al. 1986).

Spontánní onemocnění zvířat nejsou známa.

Nález houby v histologických preparátech. Úlomky větvených, tenkostěnných, deformovaných, neseptovaných nebo jen náhodně septovaných vláken, 5 — 25  $\mu\text{m}$ .

*Basidiobolus haptosporus* Drechsler 1947  
Bull. Torrey Bot. Club 74:403—413.

Výskyt. Afrika (Uganda, Kamerun, Sudan, Nigérie, Ghana, Kongo), Indonésie, Indie, jižní Amerika (Brazílie).

Lidská onemocnění. Basidiobolomycosis, "subcutaneous phycomycosis", entomophthoromycosis basidiobolae, "creeping granuloma". Podkožní granulomy v ústech, na trupu a dolních končetinách (např. Harman et al. 1964, Tio et al. 1966,



Bittencourt et al. 1979, 1982), postižení lymfatických cév a uzlin s elefantiázou (Kamalam et Thambiah 1982), mykóza maxilárního sinu (Dworzak et al. 1978). Méně časté je postižení plic, žaludku, jater a střev.

Spontánní onemocnění zvířat. Je známo pouze jedno onemocnění koně.

Nález houby v histologických preparátech. Neseptovaná, větvená vlákna, 8 – 20  $\mu\text{m}$  v průměru.

Histopatologie basidiobolomykózy má určité zvláštnosti ve srovnání s ostatními zygomykózami. Houba postrádá schopnost průniku do cév. Podobně jako u *Conidiobolus coronatus* jsou v zánětlivých ložiscích nakupeny rozpadávající se eosinofilní leukocyty (včetně volných granul a Charcotových — Leydenových krystalů), kolem pak palisádovitě uspořádané epitelioidní buňky a mnohojaderné obchvatné buňky. Houbové elementy či jejich fragmenty jsou nepočtené a převážně extracelulární. Vyskytují se mezi nekrotizujícími eosinofily a bývají obdány Splendorovým — Hoeffliho materiálem.

*Conidiobolus coronatus* (Cost.) Batko 1964

Entomophaga, Mem. Hors. Ser. 2:129.

Basionym: *Boudierella coronata* Constantin 1897, Bull. Soc. Mycol. France 13:40.

Synonyma: *Delacroixia coronata* (Cost.) Sacc. et Syd. 1899, Syll. Fung. 14:457.

*Entomophthora coronata* (Cost.) Kevorkian 1937, J. Agric. Univ. Puerto Rico 21:198.

Výskyt. Houba se vyskytuje geopolitně, ale onemocnění jsou známa především z tropů Afriky (Nigérie), jižní a střední Ameriky (Kolumbie, Brazílie, Costa Rica).

Lidská onemocnění. Rhinophycomycosis entomophthorae, rhino-entomophthoramyosis, entomophthoramyosis conidiobolae. Postižení paranazálních dutin (např. Martinson a Clarková 1967, Martinson 1971, Segura et al. 1981), podkožní projevy v obličeji (Restrepová et al. 1967, Towersey et al. 1988), nosní granulom (Andrade et al. 1967), nosní projevy s přechodem do laryngu (Okafor et al. 1983).

Spontánní onemocnění zvířat. Rhinofykomykóza šimpanze v Africe, koní v Kostarice, Texasu a Australii. Geopolitně napadá různý hmyz.

Nález houby v histologických preparátech. Coenocytická vlákna, 15  $\mu\text{m}$  v průměru.

Histopatologie má zvláštnosti ve srovnání s ostatními zygomykózami. Změny jsou shodné s těmi, které byly uvedeny u *Basidiobolus haptosporus*, ale jsou omezeny na rinofaciální oblast.

*Conidiobolus incongruus* Drechsler 1960

Amer. J. Bot. 47:368–377.

Izolován z perikardu a plic 15 měsíčního chlapce ve Virginii (Gilbert et al. 1970, Eckert et al. 1972, kulturu určili King et Jong 1976). V pokuse patogenní pro králiky.

Nález houby v histologických preparátech. Tenkostěnná, nepravidelně větvená vlákna, 4 – 8  $\mu\text{m}$  v průměru, jen s příležitostnými septy.

Histopatologie. Zánětlivá reakce jen málo vybočuje z obecného schématu, uvedeného u zygomykóz. Odlišné je to, že houba nemá tendenci k angioinvasi a trombózám. Shluky hyf jsou někdy provázeny Splendorovým — Hoeffliho fenoménem. Obklopuje je tuberkuloidně granulomatózní tkáň. V okolním zánětlivém infiltrátu nemají polymorfonukleáry ani eosinofily významnější podíl, zřetelná je však fibrotizace granulační tkáně.

*Cunninghamella bertholletiae* Stadel 1911

Výskyt onemocnění. Převážně v USA.

Lidská onemocnění. Postižení plic (Kwon-Chungová et al. 1975: agens určeno původně jako *C. elegans*; Rex et al. 1988) a srdce, diseminace; další dva případy systémové zygomykózy (McGinnis et al. 1982), jeden rinocerebrální (Brennan et al. 1983), infekce rány. Rex et al. (1988) uvádějí přehled celkem 10 případů onemocnění. Nálezy *C. bertholletiae* jsou udávány z plic, plicní arterie, jater, srdce, ledviny (též transplantované), sleziny, esofagu, žaludku, střev, rekta, lymfatických uzlin, hlasivek, orbity a sfenoidálního sinu, mozku, meningů, kraniálních nervů a z bércevého vředu.

Nález houby v histologických preparátech. Široká, hyalinní, málo septovaná vlákna, nepravidelně větvená, různého průměru.

Histopatologie. U diseminovaných lézí je pozoruhodná jejich centrace na cévy, na kterých byla patrná — na rozdíl od jiných zygomykóz (až na projevy *Saksenaia vasiformis*) — obrovskobuněčná vaskulitida s obchvatnými buňkami v trombozovaných arteriích i v jejich okolí. Tromby v akutních lézích byly tvořeny převážně hyfami, v chronických lézích se však už houbové elementy nepodařilo prokázat.

*Rhizomucor pusillus* (Lindt) Schipper 1978

Studies in mycology. CBS, Baarn, 17: 54.

Basionym: *Mucor pusillus* Lindt 1886, Arch. Exp. Path. Pharm. 21: 269—298. Synonymum: *Rhizomucor parasiticus* Lucet et Costantin 1899, C. R. Acad. Sci., Paris, 129: 1032.

Lidská onemocnění. Paranasální sinusitis a orbitocelulitis, postižení zrakového nervu a tvrdé pleny mozkové, na žilních a tepenných větvích mukormykotická trombangiitida (Fragner, Kulháňková a Lukášová 1983), oční keratitis, otomykózy.

Spontánní onemocnění zvířat. Systémová onemocnění koně a telete, zmetání hovězího dobytka, plicní mukormykóza tuleň, postižení mediastinálních uzlin krávy a býčka (Fragner, Vítovec a Vladík 1975).

Nález houby v histologických preparátech. Větvená, převážně neseptovaná, místy různě deformovaná, ztlustělá a zaškrcovaná vlákna, 4,0 — 6,5 — 13  $\mu\text{m}$  v průměru.

*Rhizopus arrhizus* Fischer 1892 var. *arrhizus* J. J. Ellis 1985

Phycomycetes, in: Rabenhorst's Kryptogamen-Flora IV. Abt.: Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz, E. Kummer, Leipzig, p. 233—234, 1892; Mycologia 77: 243—247, 1985.

Synonymum: *Rhizopus oryzae* Went et Prinsen Geerligs 1895, Verhandelingen Kon. Akad. Wetensch., Amsterdam, 2. sectie, 4:(2): 1—31.

Lidská onemocnění. Dva případy zygomykózy maxilárních a etmoidálních dutin (England et al. 1981); mozkový absces, rinocerebrální a jiné orgánové mykózy s postižením plic, jater, sleziny, močového měchýře a kůže. Novější případ onemocnění mozku s přehledem literatury uvádějí Oliveri et al. (1988).

Nález houby v histologických preparátech (jako *R. oryzae*). Propletená, neseptovaná, poměrně málo větvená vlákna, různě deformovaná a jakoby nafouklá, 4 — 18  $\mu\text{m}$ , nejčastěji kolem 10  $\mu\text{m}$  v průměru (Fragner a Rokos 1964).

U jednoho rinocerebrálního onemocnění (La Touche et al. 1964) byla nalezena úplná sporangia s kolumelami a spori, chlamydospory a sporangiofory s rhizoidy, takže určení druhu bylo možné z histologických preparátů.

Histopatologie. Vedle projevů, vyskytujících se obecně při zygomykózách, byly v plicích popsány abscesové kaverny a v diseminovaných ložiscích ischemické nekrózy, mikroabscesy a obrovskobuněčná granulomatózní reakce.

## FRAGNER a MÍREJOVSKÝ: KLÍČ SYSTÉMOVÝCH MYKÓZ IV

### *Rhizopus rhizopodiformis* (Cohn) Zopf 1890 in Schenck (Ed.)

Handbuch der Botanik. Breslau, 4, p. 587.

**Basionym:** *Mucor rhizopodiformis* Cohn 1884 in Lichtheim, Zentralbl. Klin. Med. 7: 148.

**Synonymum:** *Rhizopus cohnii* Berlese et De Toni 1888 in Saccardo, Sylloge Fungorum, VII, Pars I, p. 181.

Lidské onemocnění. Postižení plic s diseminací (Levy et al. 1986).

Spontánní onemocnění zvířat. Systémová onemocnění králíka a vepře, mukormykózy plodů krav, jater vepře (Fragner, Vítovec a Vladík 1972), paraventrikulární a ventrikulární mukormykóza býků (Vítovec, Vladík a Fragner 1976).

Nález houby v histologických preparátech. Úlomky větvených, neseptovaných, deformovaných vláknem, 2 – 15  $\mu\text{m}$  širokých, nejčastěji v rozmezí 6,5 – 10,5  $\mu\text{m}$ .

### *Saksenaea vasiformis* Saksena 1953

Mycologia 45: 426–436.

Výskyt. Nálezy v půdě Indie, Hondurasu, Izraele, Panamy a USA. Onemocnění popsána z Austrálie, Kolumbie, Indie, Iráku, Izraele a USA.

Lidská onemocnění. Dosud je známo 14 případů (přehled viz Padhye et al. 1988). Vstupní branou byla kůže (často po vážných úrazech), jednou snad i v. kateter (nosokomiální infekce: Oberle et al. 1983), jednou sinusy (pansinusitis: Kaufman et al. 1988). Kromě kožních a podkožních projevů (např. Ellis a Kaminská 1985) docházelo k diseminaci do mozku (Ajello, Dean et Irwin 1976, Dean et al. 1977), do plic a mediastina (Torellová et al. 1981), do oka, kostí a kloubů.

Nález houby v histologických preparátech. Větvená, neseptovaná nebo málo septovaná vlákna, 3,3 – 5  $\mu\text{m}$ , 4 – 6  $\mu\text{m}$ , 6 – 10  $\mu\text{m}$  nebo 5 – 20  $\mu\text{m}$  široká.

Histopatologie. Ve srovnání s jinými zygomycózami se v lézích vedle ischemických nekrot a hnisavé kolikvace víc uplatňuje granulomatózní reakce s tuberkuloidními tuzlíky a množstvím mnohojaderných elementů Langhansova typu i obchvatných. Vedle mykotických trombóz některé zprávy zmiňují i arteritidu (podobně jako u *C. bertholletiae*).

Dodatek při korektuře.

*Cunninghamella*. Další případ s kožními projevy na stehně s postižením kolenního kloubu.

Mostaza J. M., Barbado F. J. et al. (1989): Cutaneous mucormycosis due to *Cunninghamella bertholletiae* in a patient with AIDS. — Rev. Inf. Dis., Chicago, 11: 316–318.

*Saksenaea vasiformis*. Další nález byl popsán z lokálně invazivní zygomycózy v ráně po těžké popálenině.

Goldschmied—Reouven A., Shvoron A. et al. (1989): *Saksenaea vasiformis* infection in a burn wound. — J. Med. Vet. Mycol., Abingdon, 27: 427–429.

### Literatura

- AJELLO L. (1967): Comparative ecology of respiratory mycotic disease agents. — Bact. Rev. 31: 6–24.
- AJELLO L. (1977): Systemic mycoses in modern medicine. — Contr. Microbiol. Immunol. 3: 2–6.
- AJELLO L. (1980): Natural habitats of the fungi that cause pulmonary mycoses. — Medical Mycology, Zbl. Bakt. Suppl. 8, Stuttgart—New York, 31–42.
- AJELLO L. (1983): Histoplasmosis — a dual entity: histoplasmosis capsulati and histoplasmosis duboisii. — L'Igiene Moderna, Fidenza, 79: 3–30.
- AJELLO L., DEAN D. F. et IRWIN R. S. (1976): The zygomycete *Saksenaea vasiformis* as a pathogen of humans with a critical review of the etiology of zygomycosis. — Mycologia, New York, 68: 52–62.

- AJELLO L., IGER M. et al. (1980): Drechslera rostrata as an agent of phaeohyphomycosis. — *Mycologia*, New York, 72: 1094—1102.
- ANDRADE Z. A., ARAÚJO L. P. et al. (1967): Nasal granuloma caused by *Entomophthora coronata*. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 16: 31—33.
- ATTAPATTU M. CH. et ANANDAKRISHNAN C. (1986): Extensive subcutaneous hyphomycosis caused by *Fusarium oxysporum*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 24: 105—111.
- BADER G. et BADER N. G. (1973): Morphologie der Gewebsformen von Erregern viszeraler Mykosen. Untersuchungen zur Polysaccharid- und Protein histochemie. (2. Mitteilung). — *Mykosen*, Berlin, 16: 71—81.
- BAKERSPIGEL A., WOOD T. et BURKE S. (1977): Pulmonaryallescheriasis. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 68: 299—303.
- BARDE A. K. et SINGH S. M. (1983): A case of onychomycosis caused by *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn. — *Mykosen*, Berlin, 26: 311—316.
- BEDNÁŘ B., SCHWARZ J. et KAPLAN W. (1978): Akutní histoplasmóza plíc, první nález v ČSSR. — *Čs. Patol.*, Praha, 14: 51—56.
- BERGE T. et KAPLAN W. (1967): Systemic candidiasis with asteroid body formation. — *Sabouraudia*, Edinburgh, 5: 310—314.
- BITTENCOURT A. L., LONDERO A. T. et al. (1979): Occurrence of subcutaneous zygomycosis by *Basidiobolus haptosporus* in Brasil. — *Mycopathologia*, Den Haag, 68: 101—104.
- BITTENCOURT A. L., SERRA G. et al. (1982): Subcutaneous zygomycosis caused by *Basidiobolus haptosporus*: presentation of a case mimicking Burkitt's lymphoma. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 31: 370—373.
- BLALOCK H. G., GEORG L. K. et DERIEUX W. T. (1973): Encephalitis in turkey poults due to *Dactylaria* (*Diplorhynchium*) *gallopava* — a case report and its experimental reproduction. — *Avian Dis.* 17: 197—204.
- BRASS K. (1969): Observaciones sobre la anatomía patológica, patógenesis y evolución de la paracoccidioidomycosis. — *Mycopath. Mycol. Appl.*, Den Haag, 37: 119—138.
- BRASS K. (1975): Aortitis paracoccidioidomycotica. — *Mykosen*, Berlin, 18: 341—347.
- BRENNAN R. O., CRAIN B. J. et al. (1983): Cunninghamella: A newly recognized cause of rhinocerebral mucormycosis. — *Amer. J. Clin. Path.*, Baltimore, 80: 98—102.
- BRYAN CH. S., DISALVO A. F. et al. (1980): *Petriellidium boydii* infection of the sphenoid sinus. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 74: 846—851.
- BURCK H. C. (1966): *Histologische Technik*. — Tieme, Stuttgart.
- BURGES G. E., WALLS CH. T. et MAIZE J. (1987): Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Exserohilum rostratum* in an immunocompetent host. — *Arch. Derm.*, Chicago, 123: 1346—1350.
- BUTLER T. M., GLEISER CH. A. et al. (1988): Case of disseminated African histoplasmosis in a baboon. — *J. Med. Primatol.* 17: 153—161.
- DEAN D. F., AJELLO L. et al. (1977): Cranial zygomycosis caused by *Saksenaeva vasiformis*. — *J. Neurosurg.*, Chicago, 46: 97—103.
- DENG Z., RIBAS J. L. et al. (1988): Infections caused by *Penicillium marneffei* in China and Southeast Asia: review of eighteen published cases and report of four more Chinese cases. *Rev. Inf. Dis.*, Chicago, 10: 640—652.
- DENG Z., YUN M. et AJELLO L. (1986): Human penicilliosis marneffei and its relation to the bamboo rat (*Rhizomys pruinosus*). — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 24: 383—389.
- DISALVO A. F., FICKLING A. M. et AJELLO L. (1973): Infection caused by *Penicillium marneffei*: description of first natural infection in man. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 60: 259—263.
- DOBY J. M. et KOMBILA-FAVRY M. (1978): Presence de formes sexuées (cleistothèces et hülle-cells), dans un cas humain d'aspergillose du sinus maxillaire chez *Aspergillus nidulans* associé à *Aspergillus fumigatus*. — *Mycopathologia*, Den Haag, 64: 157—163.
- DVORÁK J., OTČENÁSEK M. et HAMÁČEK F. (1970): Mykologie lidské adiaspiromykózy vyvolané *Emmonsia crescens* Emmons et Jellison 1960. — *Studia Pneumol. Phtiseol. Cechosl.*, Praha, 30: 310—319.
- DWORZACK D. L., POLLOCK A. S. et al. (1978): Zygomycosis of the maxillary sinus and palate caused by *Basidiobolus haptosporus*. — *Arch. Intern. Med.*, Chicago, 138: 1274—1276.

- ECKERT H. L., KHOURY R. S. et al. (1972): Deep Entomophthora phycomycotic infection reported for the first time in the United States. — Chest, Chicago, 61: 392—394.
- ELLIS D. H. et KAMINSKI G. W. (1985): Laboratory identification of Saksenaea vasiformis: a rare cause of zygomycosis in Australia. — J. Med. Vet. Mycol., Abingdon, 23: 137—140.
- ELLIS J. J. (1985): Species and varieties in the Rhizopus arrhizus — Rhizopus oryzae group as indicated by their DNA complementarity. — Mycologia, New York, 77: 243—247.
- ENGLAND A. C., WEINSTEIN M. et al. (1981): Two cases of rhinocerebral zygomycosis (mucormycosis) with common epidemiologic and environmental features. — Amer. Rev. Respir. Dis., New York, 124: 497—498.
- ESTES S. A., MERZ W. G. et MAXWELL L. G. (1977): Primary cutaneous phaeohyphomycosis caused by Drechslera spicifera. — Arch. Derm., Chicago, 113: 813—815.
- FRAGNER P. (1987): Stručný přehled patogenních aktinomycet. — Čs. Derm., Praha, 62: 120—126.
- FRAGNER P. (1987): Mikroskopická diagnostika onychomykóz. — Čes. Mykol., Praha, 41: 153—161.
- FRAGNER P. (1987): AIDS zvyšuje výskyt kryptokokózy: Kryptokokóza — častá příčina smrti u nemocných AIDS. — Mykol. Listy, Praha, 28: 11—17.
- FRAGNER P., HAVEL S. et KLEINT Z. (1956): Výskyt aspergillosy po pleurektomii. — Rozhl. Tuberk., Praha, 16: 414—416.
- FRAGNER P., HEJZLAR J. et RUBES M. (1979): Otomykózy a mykoflóra otitid. — Čes. Mykol., Praha, 33: 229—236.
- FRAGNER P., KULHANKOVÁ J., LUKÁŠOVÁ M. (1983): Mukormykóza mozku vyvolaná Mucor pusillus. — Čes. Mykol., Praha, 37: 90—92.
- FRAGNER P. et MAŇÁK J. (1968): Absidia corymbifera in der Trepanationshöhle nach tympanoplastischer Operation. — Čes. Mykol., Praha, 22: 68—76.
- FRAGNER P. et MĚREJOVSKÝ P. (1983): Neobvyklé tvary kryptokoků v lidské tkáni a v kultuře. Popis generalizovaného onemocnění a přehled výskytu kryptokoků v ČSSR. — Čes. Mykol., Praha, 37: 35—41.
- FRAGNER P., MĚREJOVSKÝ P. et LUKÁŠOVÁ M. (1983): Pankarditis při diseminované lidské absidióze. — Čes. Mykol., Praha, 37: 252—256.
- FRAGNER P., MĚREJOVSKÝ P. et LUKÁŠOVÁ M. (1985): Stomatomaxilární a rhinoorbitální absidióza. — Čes. Mykol., Praha, 39: 150—154.
- FRAGNER P. et ROKOS J. (1964): Příklad mukormykózy (Rhizopus oryzae). — Čas. Lék. Čes., Praha, 103: 1084—1087.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1972): Rhizopus cohnii v mukormykóze vepře a diskuse o podobných rhizopech. — Čes. Mykol., Praha, 26: 167—178.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1974): Aspergillus flavus ve viscerální mykóze kuřice. — Čes. Mykol., Praha, 28: 233—237.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1975): Mucor pusillus jako původce uzlinové mukormykózy býčka. — Čes. Mykol., Praha, 29: 59—60.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1975): Enzootie diseminované viscerální aspergilózy u krůt. — Čes. Mykol., Praha, 29: 115—118.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1975): Absidióza vepře. — Čes. Mykol., Praha, 29: 119—123.
- FRAGNER P., VÍTOVEC J. et al. (1970): Bronchopulmonary aspergillosis in lamb. — Mycopath. Mycol. Appl., Den Haag, 40: 337—340.
- FRELIER P. F., SIGLER L. et NELSON P. E. (1985): Mycotic pneumonia caused by Fusarium moniliforme in an alligator. — Sabouraudia, Edinburgh, 23: 399—402.
- FUSTE F. J., AJELLO L. et al. (1973): Drechslera hawaiiensis: causative agent of a fatal fungal meningo-encephalitis. — Sabouraudia, Edinburgh, 11: 59—63.
- GARI M., FRUIT J. et al. (1985): Scedosporium (Monosporium) apiospermum multiple brain abscesses. — Sabouraudia, Edinburgh, 23: 371—376.
- GEORG L. K., BIERER B. W. et COOKE W. B. (1964): Encephalitis in turkey poult due to a new fungus species (Diplorhynchium gallopavum). — Sabouraudia, Edinburgh, 3: 239—244.
- GILBERT E. F., KHOURY G. H. et PORE R. S. (1970): Histopathological identification of Entomophthora phycomycosis. — Arch. Path., Chicago, 90: 583—587.
- GLUCKMAN S. J., RIES K. et ABRUTYN E. (1977): Allescheria (Petriellidium) boydii sinusitis in a compromised host. — J. Clin. Microbiol., Washington, 5: 481—484.



- GORDON M. A. et NORTON S. W. (1985): Corneal transplant infection by *Paecilomyces lilacinus*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 23: 295—301.
- GORELKIN L. et CHANDLER F. W. (1988): Pseudomicrobes: some potential diagnostic pitfalls in the histopathologic assessment of inflammatory lesion. — *Hum. Path.*, Philadelphia, 19: 954—959.
- GUYOTAT D., PIENS M. A. et al. (1987): A case of disseminated *Scedosporium apiospermum* infection after bone marrow transplantation. — *Mykosen*, Berlin, 30: 151—154.
- HARMAN R. R. M., JACKSON H. et WILLIS A. J. P. (1964): Subcutaneous phycomycosis in Nigeria — *Brit. J. Derm.*, London, 76: 408—420.
- HILLERDAL G. (1981): Pulmonary *Aspergillus* infection invading the pleura. — *Thorax*, London, 36: 745—751.
- HORÁČEK J. et ULIČNÁ L. (1969): Třetí případ chromomykózy v ČSSR. — *Čs. Derm.*, Praha, 44: 118—120.
- JAYANETRA P., NITIYANANT P. et al. (1984): Penicilliosis marneffeii in Thailand: report of five human cases. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 33: 637—644.
- JIRÁSEK L., FRAGNER P., PAVLÁSKOVÁ I. (1976): Případ epidermální sporotrichózy. — *Čs. Derm.*, Praha, 51: 162—167.
- JOSHIMORI R. N., MOORE R. A. et al. (1982): Phaeohyphomycosis of brain. Granulomatous encephalitis caused by *Drechslera spicifera*. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 77: 363—370.
- KAPLAN W., CHANDLER F. W. et al. (1975): Equine phaeohyphomycosis caused by *Drechslera spicifera*. — *Can. Vet. J.* 16: 205—208.
- KAUFMAN L., PADHYE A. A. et PARKER S. (1988): Rhinocerebral zygomycosis caused by *Saksenaia vasiformis*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 26: 237—241.
- KIBELER C. C., MILKINS S. R. et al. (1988): Apparent pulmonary mycetoma following invasive aspergillosis in neutropenic patients. — *Thorax*, London, 43: 108—112.
- KING D. S. et JONG S. C. (1976): Identity of the etiological agent of the first deep entomophthoraceous infection of man in the United States. — *Mycologia*, New York, 68: 181—183.
- KOĐOUSEK R. (1972): Nález izolovaných sférul houby ze skupiny *Emmonsia crescens* v operačním vzorku apendixu u 7letého chlapce. — *Čs. Patol.*, Praha, 8: 160—162.
- KOĐOUSEK R., VORTEL V. et FINGERLAND A. (1970): Patologie lidské adiaspiromykózy vyvolané houbou *Emmonsia crescens* Emmons et Jellison 1960. — *Studia Pneumol. Phtiseol. Cechosl.*, Praha, 30: 320—336.
- KOSHI G., ANANDI V. et al. (1987): Nasal phaeohyphomycosis caused by *Bipolaris hawaiiensis*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 25: 397—402.
- KUTTIN E. S., KAPLAN W. et al. (1985): Sexual and asexual reproduction of *Aspergillus nidulans* in vivo. — *Mykosen*, Berlin, 28: 109—116.
- KWOCHKA K. W., CALDERWOOD MAYS M. B. et al. (1984): Canine phaeohyphomycosis caused by *Drechslera spicifera*: a case report and literature review. — *J. Amer. Animal. Hosp. Ass.* 20: 625—633.
- LATOUCHE C. J., SUTHERLAND T. W. et TELLING M. (1964): Histopathological and mycological features of a case of rhinocerebral mucormycosis (phycomycosis) in Britain. — *Sabouraudia*, Edinburgh, 3: 148—150.
- LAWRENCE D. N. et AJELLO L. (1986): Lobomycosis in western Brazil: report of a clinical trial with ketoconazole. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 35: 162—166.
- LAWRENCE R. M., SNODGRASS W. T. et al. (1986): Systemic zygomycosis caused by *Apophysomyces elegans*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 24: 57—85.
- LEVY M. G., MEUTEN D. J. et BREITSCHWERDT E. B. (1986): Cultivation of *Rhinosporidium seeberi* in vitro: interaction with epithelial cells. — *Science*, Wash., 234: 4775: 474—476.
- LEVY S. A., SCHMITT K. W. et KAUFMAN L. (1986): Systemic zygomycosis diagnosed by fine needle aspiration and confirmed with enzyme immunoassay. — *Chest*, Chicago, 89: 146—148.
- LOWE J. et BRADLEY J. (1986): Cerebral and orbital *Aspergillus* infection due to invasive aspergillosis of ethmoid sinus. — *J. Clin. Path.*, London, 39: 774—778.
- LURIE H. I. (1963): Histopathology of sporotrichosis. Notes on the nature of the asteroid body. — *Arch. Path.*, Chicago, 75: 421—437.
- LURIE H. I. et STILL W. J. S. (1969): The "capsule" of *Sporotrichum schenckii* and

- the evolution of the asteroid body. A light and electron microscopic study. — *Sabouraudia*, Edinburgh, 7: 64—70.
- Martison F. D. et CLARK B. M. (1967): Rhinophycomycosis entomophthorae in Nigeria. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 16: 40—47.
- MASLEN M., WHITEHEAD J. et al. (1988): Systemic mycotic disease of captive crocodile hatchling (*Crocodylus porosus*) caused by *Paecilomyces lilacinus*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 26: 219—225.
- MARIAT F. et SEGRÉTAİN G. (1956): Etude mycologique d'une histoplasmosse spontanée du singe africain (*Cynocephalus babuin*). — *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 91: 874—891.
- MATSUMOTO T. NISHIMOTO K. et al. (1984): Phaeoophomycosis caused by *Exophiala moniliae*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 22: 17—26.
- McGINNIS M. R., PADHYE A. A. et AJELLO L. (1987): *Cladosporium trichoides* var. *chlamydosporum*: an invalidly published name. — *Mycologia*, New York, 79: 803—805.
- McGINNIS M. R., WALKER D. H. et al. (1982): Zygomycosis caused by *Cunninghamella bertholletiae*. — *Arch. Path. Lab. Med.*, Chicago, 106: 282—286.
- MITCHELL R. G., CHAPLIN A. J. et MACKENZIE D. W. R. (1987): *Emericella nidulans* in a maxillary sinus fungal mass. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 25: 339—341.
- MONTE DE LA S. M., HUTCHINS G. M. (1985): Disseminated *Curvularia* infection. — *Arch. Path. Lab. Med.*, Chicago, 109: 872—874.
- MORTON S. J., MIDTHUN K. et MERZ W. G. (1986): Granulomatous encephalitis caused by *Bipolaris hawaiiensis*. — *Arch. Path. Lab. Med.*, Chicago, 110: 1183—1185.
- MÜLLER G. H., KAPLAN W. et al. (1975): Phaeoophomycosis caused by *Drechslera spicifera* in a cat. — *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 166: 150—154.
- NOVOTNÝ Z. et MAREK J. (1984): Rhinosporidiosis. — *Čs. Otolaryng.*, Praha, 33: 103—106.
- OKUDA CH., ITO M. et al. (1987): Disseminated cutaneous *Fusarium* infection with vascular invasion in a leukemic patient. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 25: 177—186.
- OLIVERI S., CAMMARATA E. et al. (1988): *Rhizopus arrhizus* in Italy as the causative agent of primary cerebral zygomycosis in a drug addict. — *Eur. J. Epid.* 4: 284—288.
- OTČENÁŠEK M., JIROUSEK Z. et al. (1984): Paecilomycosis of the maxillary sinus. — *Mykosen*, Berlin, 27: 242—251.
- PADHYE A. A., HELWIG W. B. et al. (1988): Subcutaneous phaeoophomycosis caused by *Xylohypha emmonsii*. — *J. Clin. Microbiol.* 26: 709—712.
- PADHYE A. A., KAPLAN W. et al. (1984): Subcutaneous phaeoophomycosis caused by *Exophiala spinifera*. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 22: 493—500.
- PADHYE A. A., KOSHI G. et al. (1988): First case of subcutaneous zygomycosis caused by *Saksenea vasiformis* in India. — *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 9: 69—77.
- PAUTLER K. B., PADHYE A. A. et AJELLO L. (1984): Imported penicilliosis marneffei in the United States: report of a second human infection. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 22: 433—438.
- PIERCE N. F., MILLAN J. C. et al. (1986): Disseminated *Curvularia* infection. — *Arch. Path. Lab. Med.*, Chicago, 110: 959—961.
- PROKŠ C., VÍTOVEC J. et VLADÍK P. (1972): Asteroide Körperchen bei Aspergillose. — *Mykosen*, Berlin, 15: 427—430.
- RANCK F. M., GEORG L. K. et WALLACE D. H. (1974): Dactylariosis — a newly recognized fungus disease of chickens. — *Avian Dis.* 18: 4—20.
- RESTREPO A. M., GREER D. L. et al. (1967): Subcutaneous phycomycosis: Report of the first case observed in Colombia, South America. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 16: 34—39.
- REX J. H., GINSBERG A. M. et al. (1988): *Cunninghamella bertholletiae* infection associated with deferoxamine therapy. — *Rev. Inf. Dis.*, Chicago, 10: 1187—1194.
- RIPPON J. W. et CARMICHAEL J. W. (1976): Petriellidiosis (allescheriosis): four unusual cases and review of literature. — *Mycopathologia*, Den Haag, 58: 117—124.
- SEGURA J. J., GONZALEZ K. et al. (1981): Rhinotomophthoromycosis: report of the first two cases observed in Costa Rica (Central America), and review of the literature. — *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 30: 1078—1084.

- SILVA-RIBEIRO V. L., FERREIRA-DA-CRUZ M. F. et al. (1987): Canine histoplasmosis in Rio de Janeiro: natural and experimental infections. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 25: 319—322.
- STEDHAM M. A., BUCCI T. J. et MARONPOT R. R. (1968): Sexual and asexual phases of *Aspergillus nidulans* in an egret. — *Mycopath. Mycol. Appl.*, Den Haag, 36: 289—292.
- STOLZ J. et ZELENKA J. (1966): Rhinosporidiosis jako mykóza preblastomatózní. — *Čs. Otolaryng.*, Praha, 15: 247—250.
- TAKAYASU S., AKAGI M. et SHIMIZU Y. (1977): Cutaneous mycosis caused by *Faecilomyces lilacinus*. — *Arch. Derm.*, Chicago, 113: 1687—1690.
- TIO T. H. et al. (1966): Subcutaneous phycomycosis. — *Arch. Derm.*, Chicago, 93: 550—553.
- TORELL J., COOPER B. H. et HELGESON N. G. P. (1981): Disseminated *Saksenea vasiformis* infection. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 76: 116—121.
- TOWERSEY L., WANKE B. et al. (1988): *Conidiobolus coronatus* infection treated with ketoconazole. — *Arch. Derm.*, Chicago, 124: 1392—1396.
- VALENSTEIN P. et SCHELL W. A. (1986): Primary intranasal *Fusarium* infection. — *Arch. Path. Lab. Med.*, Chicago, 110: 751—754.
- VENDITTI M., MICOZZI A. et al. (1988): Invasive *Fusarium solani* infections in patients with acute leukemia. — *Rev. Inf. Dis.*, Chicago, 10: 653—660.
- VÍTOVEC J. et FRAGNER P. (1978): Plicní a jaterní aspergilomy srnčí zvěře. — *Vet. Med.*, Praha, 23: 49—54.
- VÍTOVEC J., VLADÍK P. et FRAGNER P. (1972): Morphologie der Lungenveränderungen bei Aspergillose des Rehwildes. — *Mykosen*, Berlin, 15: 289—294.
- VÍTOVEC J., VLADÍK P. et FRAGNER P. (1976): Hromadný výskyt paraventrikulární a ventrikulární mukormykózy u býků ve výkrmu. — *Vet. Med.*, Praha, 21: 407—414.
- VÍTOVEC J., VLADÍK P. et al. (1974): Morfologie bronchopulmonálních aspergilóz srnčí zvěře a zajíců. — *Vet. Med.*, Praha, 19: 127—133.
- VÍTOVEC J., VLADÍK P. et al. (1975): Mucormycosis (*Mucor pusillus*) with asteroids in a young bull. — *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, Budapest, 25: 31—35.
- WALDRIP D. W., PADHYE A. A. et al. (1974): Isolation of *Dactylaria gallopava* from broiler-house-litter. — *Avian Dis.* 18: 445—451.
- WASHBURN R. G. et BENNETT J. E. (1986): Paracoccidioidomycosis case report: cure with amphotericin B and triple sulfa. — *J. Med. Vet. Mycol.*, Abingdon, 24: 235—237.
- WHEELER M. S., MCGINNIS M. R. et al. (1981): *Fusarium* infection in burned patients. — *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, 75: 304—311.
- WIEDEN M. A., STEINBRONN K. K. et al. (1985): Zygomycosis caused by *Apophysomyces elegans*. — *J. Clin. Microbiol.*, Washington, 22: 522—526.
- WOLF J. (1954): Mikroskopická technika. — *St. zdrav. nakl.*, Praha.

Adresy autorů: RNDr. P. Fragner, V Hodkovičkách 23/306, 147 00 Praha 4; Doc. MUDr. P. Miřejovský, DrSc., I. patologickoanatomický ústav FVL UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2.

# Enzyme activity of mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (Basidiomycotina)

## I. Methods of hydrolases estimation

### Enzymatická aktivita myceliových kultur saprotrofních makromycetů (Basidiomycotina).

#### I. Metody stanovení hydroláz

Jaroslav Klán and Dana Baudišová

A plate diffusion method was used to detect hydrolytic enzymes (lecithinases, lipases, amylases, proteinases, milk clotting enzymes, urease) in mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (*Basidiomycotina*). The results are demonstrated on selected 21 species of macromycetes. The proposed tests can be used for the primary screening of high-producing strains and in chemotaxonomical studies as an auxiliary biochemical criterion for determination of mycelial cultures.

K detekci hydrolytických enzymů (lecitináz, lipáz, amyláz, proteáz, syřidlových enzymů, ureázy) produkovaných myceliovými kulturami saprotrofních bazidiomycetů bylo použito plotnové difúzní metody. Výsledky jsou demonstrovány na 21 vybraných druzích makromycetů. Navržené testy mohou být použity k prvnímu screeningu vysokoprodukčních kmenů. Spektrum zjištěných enzymů lze využít chemotaxonomicky k determinaci myceliové kultury jako biochemické kritérium.

#### Introduction

Description of mycelial cultures may include, in addition to morphological and anatomic characteristics, some biochemical features or traits. Selection of suitable biochemical tests is offered, e. g., in the studies of Bilaj (1982); Booth (1971); Watling (1983). Boidin (1958), Nobles (1965) and Stalpers (1978) using enzymatic tests detected some oxidases for determination mycelial cultures of polypores. Musilek (1981) published an overview of the state of research into the enzyme of cultures of *Basidiomycetes*.

Eleven incubation methods have been suggested for estimation of extracellular hydrolases belonging to four subclasses (esterases, glycosidases, peptidases, amidases). They are simple plate diffusion methods that can serve for screening of high-producing strains and for further biochemical or genetic studies. Knowledge of the enzyme activity may further aid in assessing the ecological function of given species in nature and their position in the decomposition process. The tests could also be used in the chemotaxonomy of macromycetes, analogously to the tests commonly used for the determination of bacteria and yeasts.

A total of 127 species belonging to 6 orders (*Auriculariales*, *Aphyllphorales*, *Agaricales*, *Phallales*, *Nidulariales*, *Lycoperdales*) of the subphyllum *Basidiomycotina* were tested during static cultivations. The results are demonstrated here on 21 selected species. A review of all the species studied and their enzymatic activities, as well as evaluation of their taxonomic and ecological importance, will be the subject of a separate paper.

#### Materials

The mycelial cultures used in the experiments were isolated from fruiting bodies either by the explant method or from spore print (polysporic cultures).

Isolates were stored in a refrigerator at 5 °C on agar slants in test tubes on two media in parallel, and transferred once a year. Malt agar: 53 g malt extract agar-MEA (Imuna) containing 35 g malt extract, 5 g bactopectone and 13 g agar, supplemented with 8 mg tetracycline and 1000 ml double-distilled water. The pH was adjusted to 6 — 6.5 with 1 N KOH before sterilization. Apple-carrot agar: 10 g apple, 30 g carrot, 8 mg tetracycline, 15 g agar, 1000 ml double-distilled water.

Before testing the fungi were precultivated in Petri dishes on agar with malt extract (Imuna).

Unless otherwise stated, demineralized water was used for the preparation of media for enzyme detection. Sterilization was carried out for 25 min at 0.1 MPa, the medium pH being measured before the sterilization. Detection media were pipetted into Petri dishes to form a 3 mm layer, or on to titration plates. After setting they were inoculated by means of a sterile cork borer 9 mm in diameter, from the periphery of the colony. Incubation was carried out in the dark in a thermostat at 25 °C ± 0.5 °C, unless otherwise specified.

Selected species:

*Basidiomycotina — Agaricales:*

*Agrocybe dura* (Bolt.:Fr.) Sing. No. 96/I; *Bolbitius vitellinus* (Pers.) Fr. No. 48; *Calocybe constricta* (Fr.) Kühn. No. 118; *Coprinus atramentarius* (Bull.:Fr.) Fr. No. 54/II; *Coprinus comatus* (Müll. in Fl.Dan.:Fr.) Gray No. 56/I.; *Flammulina ononidis* Arnolds No. 37/I; *Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing. No. 49; *Gymnopilus hybridus* (Fr.:Fr.) Sing. No. 125/I; *Lepista saeva* (Fr.) Orton No. 58/III; *Leucoagaricus pudicus* (Bull.) Mos. No. 73/I; *Leucocoprinus denudatus* (Rabh.) Sing. No. 39; *Oudemansiella mucida* (Schrad.:Fr.) v. Hoehn. No. 77/I; *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quéf. No. 31/I; *Pluteus romellii* (Britz.) Sacc. No. 52; *Xeromphalina campanella* (Batsch: Fr.) Maire No. 42;

*Aphyllorphorales*

*Fomitopsis pinicola* (Sw.:Fr.) Karst. No. 108/I; *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst. No. 15/I; *Polyporus rhizophilus* Pat. No. 25/I; *Trametes hirsuta* (Wulf.:Fr.) Pilát No. 69;

*Lycoperdales*

*Bovista nigrescens* Pers.:Pers. No. 67; *Lycoperdon lividum* Pers. No. 109.

All cultures were from the Culture Collection of Fungi at the Institute for Toxicology, Faculty of Medicine, Charles University (Klán and Štípek 1987).

Methods of enzyme detection

**Lecithinases**

Lecithinase is a complex of enzymes belonging to nonspecific diesterases; it cleaves phosphate diesters of  $\beta$ -glycerol and choline. The determination was performed with soybean lecithin (Palma Šenkvice) with the approximate composition 29 % lecithin, 29 % cephalins, 31 % phosphatidyl inositol, and in parallel with synthetic lecithin (Serva). Soybean lecithin was also employed by Taylor (1977). We also tested the method of "lecithin film" used in bacteriology. Lecithin dissolved in diethyl ether is spread on the surface of a Petri dish with a nutrient medium and with added CaCO<sub>3</sub>. After evaporation of the diethyl ether the medium is inoculated. During decomposition of lecithin, hydrolysis of the esteric bond in phosphoric acid causes the medium to be acidized and CaCO<sub>3</sub> is dissolved. It gives rise to a clear zone. Our method is based on gradual steaming of lecithin.

Detection medium: 10 g lecithin, 5 g CaCO<sub>3</sub>, 15 g agar (Oxoid), 1000 ml water. Lecithin was steamed for 2 h in 100 ml water, left to stand for 48 h in a refrigerator at 5 °C, and again steamed for at least 30 min before use. Lecithin paste was homogeneously stirred into 1.5 % water agar of pH 6.2. CaCO<sub>3</sub> was sterilized separately and added to the medium cooled to 42 °C under constant shaking to prevent its sedimentation.

Incubation was carried out for 5 days and the activity was demonstrated by a cleared zone around the inoculum.

**Lipases**

In their studies of mycelial cultures, Dat et al. (1979), Hankin and Anagnostakis (1975) and Trigiano and Fergus (1979), used the same method with Tween 80 or



Tween 20. The method is based on the fact that liberated fatty acids are precipitated as calcium soaps after addition of  $\text{CaCl}_2$ . Nerud et al. (1982) studied the lipolytic activity in filtrates of wood-destroying *Basidiomycetes* during submerged cultivation with triolein as a substrate. Karnetová et al. (1984) who studied microorganisms made use of the fact that the liberated fatty acids acidify the environment and cause an acid pH shift, which can be detected with an acid-base indicator such as bromthymol blue. Yeoh et al. (1986) advocated the use of chromogenic lipid substrates such as p-nitrophenyl caprylate, p-nitrophenyl myristate and p-nitrophenyl palmitate. Lipases hydrolyse the ester bond between the p-nitrophenol group and the fatty acid molecule and the resulting p-nitrophenolate anion imparts a yellow colour to the medium. Kocková-Kratochvílová (1986) used bovine fat as substrate and the detection made use of opacity of the nutrient agar over the substrate.

Apart from the method with Tween 80 and Tween 20 we also used tributyrin as a substrate as did Taylor (1977).

Detection medium 1. 10 ml tributyrin (tributyryl-glycerol,  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_5$ ), 18 g agar with malt extract (Imuna), 8 g agar (Oxoid), 1000 ml, pH 6.5. Incubation was carried out for 2 days and the activity was demonstrated by a cleared zone around the inoculum.

Detection medium 2. 10 ml Tween 80 (polyoxyethylenesorbitan monooleate) or Tween 20 (polyoxyethylenesorbitan monolaurate), 8 g bactopectone, 0.15 g  $\text{CaCl}_2$ , 15 g agar (Oxoid), 1000 ml water, pH 6.5. The medium was inoculated with the mycelium side placed on the agar. Incubation was performed for 5–10 days and the activity was demonstrated by a zone of precipitate around the inoculum. To obtain clearer results the surface of the medium can be overlaid with methanolic iodine solution. The activity zone is evaluated after 4, 7 and 10 days. The zone can be milky or light opaque, observable in passing light, or flake-like, observable in reflected light.

### Amylases

Amylases hydrolyse starch to maltose or glucose. Fungi possess mostly  $\alpha$ -amylase (dextronic) which splits the polysaccharide backbone from the middle to oligosaccharides comprising 6–7 glucose units; it also further cleaves these oligosaccharides. Decomposition of starch to glucose is catalyzed by glucoamylase. The methods listed below cannot distinguish between the two enzymes.

The method of starch detection by iodine solution or the Lugol reagent was elaborated by a number of authors (Hankin and Anagnostakis 1975; Taylor 1974, 1977; Trigiano and Fergus 1979). Individual methods differ in the concentration of starch in the medium — from 0.2% (Hankin and Anagnostakis 1975; Musilek 1976) to 2.0% (Taylor 1974) — and also in the pH of the medium, from 5.2–5.4 (Taylor 1977) to pH 6 (Hankin and Anagnostakis 1975).

Detection medium 1. 18 g MEA (Imuna), 8 g agar (Oxoid), 10 g soluble starch according to Lelieur, 1000 ml phosphate-citrate buffer, pH 5.6. After a 3-day incubation the Petri dishes were overlaid with Lugol solution. Amylolytic activity was demonstrated by a light yellow zone (Tab. 2, 5A, according to the colour scale of Kornerup and Wanscher 1984) around the inoculum. The spots without activity are dark violet.

We also modified the method used in yeast genetic studies (Spencer et al. 1980).

Detection medium 2. 10 g soluble starch according to Lelieur, 20 g agar (Oxoid), 1000 ml water, pH 5.5. Incubation was carried out for 3 days, afterwards the Petri dishes were placed for 24 h in a refrigerator at 3–4 °C. Activity was demonstrated as a cleared zone around the inoculum, evaluated against a dark background.

### Proteolytic enzymes

Proteinases are enzymes degrading proteins. According to the pH optimum they can be divided into acid (milk clotting enzymes), neutral (e. g. gelatinase) and alkaline (caseinase). A test is presented for the detection of milk peptidases and the degradation of plant proteins.

### Gelatinase

The term gelatinase was introduced by Taylor (1974, 1977) while other authors, apparently correctly, do not use the term gelatinase but refer to a proteinase activity

demonstrated in the decomposition of gelatin. Hankin and Anagnostakis (1975) added 5 ml 8% gelatin to 100 ml Difco Nutrient agar and evaluated the cleared zones after incubation. We failed to reproduce the method and therefore used procedures based on the works of Das et al. (1979), Kocková-Kratochvílová (1980), Taylor (1974, 1977), with partial modification.

Detection medium 1. 20% gelatin in brewer's malt diluted with tap water to 7 °Bal, pH 6.8.

Detection medium 2. 20% gelatin in water, pH 6.5.

The gelatin was dissolved in steam, sterilized and dispensed into test tubes and Petri dishes. After a 3-day incubation at 20 °C  $\pm$  0.5 °C the "gelatinase" activity was demonstrated by liquefied zones around the inoculum in Petri dishes or liquefied gelatin underneath the culture in the test tubes. The results on both media were identical and the cultivation procedure was comparable.

### Caseinase

Detection medium. 10 g casein according to Hammarsten, 300 ml phosphate buffer according to Sørensen (pH 7.4), 15 g agar (Oxoid), 700 ml water, pH 7.4. Colloid solution of casein in phosphate buffer, prepared by dissolving casein in a boiling water bath, was added to 700 ml sterile 2.1% water agar. Incubation was carried out for 2 days. To increase the distinctness of the cleared zones, the surface of the detection medium after incubation was overlaid with trichloroacetic acid.

### Complex of milk peptidases

Defatted milk added to the water agar (Taylor 1977) can be employed to detect hydrolytic enzymes decomposing milk proteins.

Detection medium. 20 g dried defatted milk (Eligo), 15 g agar (Oxoid), 1000 ml water, pH 6. The milk was dissolved in 400 ml water and sterilized in steam for 1 h; it was then supplemented with 600 ml 2.5% sterile water agar. After a 2-day incubation the peptidase activity was demonstrated by a marked cleared zone around the inoculum. Milk clotting enzymes.

The reaction is based on the transformation of caseinogen to insoluble paracasein (precipitate).

Detection medium (modified according to Mišurcová et al. 1987): 40 g dried defatted milk (Eligo), 15 g agar (Oxoid), 0.1 g CaCl<sub>2</sub>, 1000 ml water, pH 5.3. The milk was dissolved in 200 ml sterile water and added to 1.9% water agar cooled to 40 °C. Incubation was carried out for 16–24 h at 35 °C and the activity was demonstrated by a precipitation (turbid) zone around the inoculum.

### Decomposition of plant proteins

Test for the decomposition of plant proteins may serve as a parallel assay to other tests determining proteolytic activity. Booth (1971) mentioned the method of Grossbard and Hall (1962) who used as a substrate a cytoplasmic protein isolated from lucerne by precipitate 2 N sulphuric acid.

We used a simple way of isolation of gluten from fine wheat flour. The flour was freed of all soluble substances by prolonged washing in water. The remaining gluten contained reserve proteins, prolamines and gluteins. Gluteins were isolated by dissolving in NaOH and subsequent partial precipitation with concentrated HCl. The resulting suspension of pH 7 was used to prepare the detection medium.

Detection medium. Gluteins prepared from 4 g gluten, 15 g agar (Oxoid), 370 ml 0.3% NaOH, 630 ml water. 370 ml of gluten suspension was added to 630 ml 2.3% sterile water agar. After a 2-day incubation the activity was evaluated from cleared zones around the inoculum.

### Urease (E.C. 3.5.1.5)

Urease catalyzes the hydrolysis of urea to carbon dioxide and ammonia which increases the pH of the medium. This pH rise can be monitored by an acid-base indicator. Hankin and Anagnostakis (1975) used bromthymol blue (5 ml/l) for the purpose while Kocková-Kratochvílová (1986) used phenol red (0.01 g/l).

Detection medium. 9.1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 9.5 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12 H<sub>2</sub>O, 1000 ml water, 15 g agar (Oxoid), 20 g urea (reagent grade), 0.1 g phenol red, pH 6.4. Urea and phenol red were added to the sterile medium at 40 °C. Incubation was conducted for 4 days and the activity was demonstrated as a change in the indicator colour from dark orange to purple red or violet red (Tab. 14, 8A-B in Kornerup and Wanscher 1984).

Table 1. Hydrolase activity of selected species

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Agrocybe dura</i>	(isolated 1983)	++	++	×	++	++	0	0	+	×	0	++
<i>Bolbitius vitellinus</i>	(1978)	++	+++	×	++	+	+	++	+	×	++	+++
<i>Calocybe constricta</i>	(1984)	0	++	×	+	0	++	++	++	×	++	0
<i>Coprinus atramentarius</i>	(1983)	0	+++	×	+++	++	++	++	++	×	0	+
<i>Coprinus comatus</i>	(1981)	++	++	×	±	±	0	0	0	—	0	±
<i>Flammulina ononidis</i>	(1979)	0	+++	×	+++	+++	++	++	++	×	++	0
<i>Flammulina velutipes</i>	(1981)	0	+++	—	+++	++	++	++	++	×	++	0
<i>Gymnopilus hybridus</i>	(1984)	++	++	×	++	+++	0	++	++	×	+	+
<i>Lepista sacca</i>	(1981)	0	++	—	++	++	++	++	++	—	++	+
<i>Leucogaricus pudicus</i>	(1983)	++	+++	×	+	±	0	0	0	—	0	+
<i>Leucocoprinus denudatus</i>	(1981)	+	++	×	++	++	0	0	0	—	0	0
<i>Oudemansiella mucida</i>	(1982)	0	+++	×	+	++	++	++	0	×	++	0
<i>Pleurotus eryngii</i>	(1975)	+++	+++	—	++	++	0	++	++	—	++	0
<i>Pluteus romellii</i>	(1984)	0	++	×	+++	+++	+++	++	+++	×	++	+++
<i>Xeromphalina campanella</i>	(1981)	0	++	—	±	++	+	++	++	×	±	0
<i>Fomitopsis pinicola</i>	(1981)	+	++	×	++	++	+	0	++	×	0	0
<i>Piptoporus betulinus</i>	(1978)	++	++	×	++	++	+	0	++	×	++	0
<i>Polyporus rhizophilus</i>	(1978)	+	++	×	++	++	++	++	+++	×	++	++
<i>Trametes hirsuta</i>	(1982)	+	++	×	+++	+++	++	++	++	×	0	0
<i>Bovista nigrescens</i>	(1982)	0	++	×	++	0	0	0	0	—	0	0
<i>Lycoperdon lividum</i>	(1984)	0	++	×	+	++	0	++	+	—	0	0

## EXPLANATORY NOTES TO TABLE 1.

Esterases: 1-lecithinase, 2-lipase (tributyrim), 3-lipase (Tween 80);

Glycosidases: 4-amylase (starch + lugol), 5-amylase (starch);

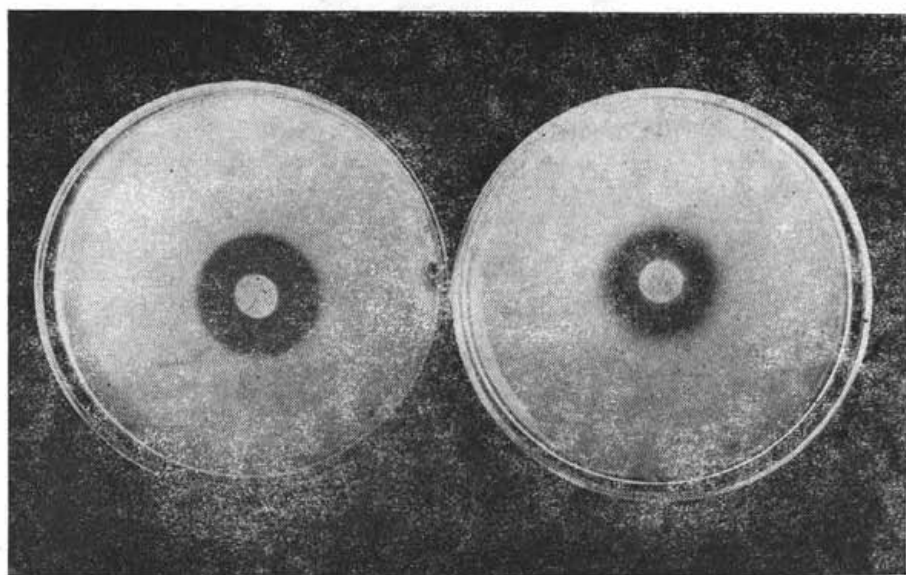
Proteases: 6-gelatinase, 7-casainase, 8-milk peptidase, 9-milk clotting enzymes, 10-glutaminase;

Amidase: 11-uroase

0 no reaction, ± disputable reaction, + activity discernible but not measurable (below 10 mm), ++ zone diameter 11–20 mm, +++ zone diameter more than 30 mm. Decomposition of Tween 80 and activity of milk clotting enzymes (No. 3 and 9) are denoted only by × (present) and — (absent).

## Results and Discussion

The results of our testing of 127 species point to the possible use of enzyme activity as a potential chemotaxonomic feature. In a number of species two or three strains have been studied between which no qualitative differences have been found. The review of all 127 species tested, belonging to 6 orders, with their enzymatic activities, will be presented in our further paper. Some results are used here for evaluation on the methods chosen. Enzymatic activity of selected species is shown in Table 1.



3. Peptidase and milk clotting activity of *Piptoporus betulinus*.

Of 96 species tested 60.5% exhibited lecithinase activity. Lecithinases can be detected even without the addition of  $\text{CaCO}_3$  to the medium; the loss of lecithin alone leads to the formation of cleared zones, albeit less pronounced. The lecithin film method is technically more exacting because of the possibility of disruption of the film during inoculation. Contamination is also more considerable. Tests performed in parallel with soybean and synthetic lecithin gave identical results.

The method of lipase detection based on acidification of the medium (Karnetová et al. 1984) by fatty acids cannot be used for mycelial cultures in general because some species (*Pleurotus eryngii*, *Laetiporus sulphureus*, *Piptoporus betulinus*) excrete acidic substances in the medium even in the absence of a lipid substrate. Activity demonstrated by decomposition of tributyrin, a simple neutral lipid, was found in all studied cultures, with certain quantitative differences. Tween seems to be more suitable as specific substrates for chemotaxonomical purposes since the growth of the cultures on detection media with Tween is better than on a medium containing tributyrin. Discer-

nible zones of activity are those which exceed the diameter of the resulting colony. A total of 12 species were chosen for experiments with Tween 80. Four species were negative, the species *Agrocybe dura* gave rise to a milky opaque zone, *Flammulina ononidis* and *Piptoporus betulinus* formed flake-like zones, 5 other species formed light turbid zones. The species *Kuehneromyces mutabilis*, *Polyporus rhizophilus* and *Piptoporus betulinus*, which display clearly defined activity zones in a medium with Tween 80, belong to only average tributyrin decomposers. Species with a very high activity in a medium with tributyrin — *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii*, *Trametes hirsuta* and *T. versicolor* do not decompose Tween 80 whereas *Flammulina ononidis* and *Oudemansiella mucida*, which display high activity in tributyrin-containing media, also decompose Tween 80. The use of Tween 80 and Tween 20 may give rise to different results even within the same species (e. g., *Laetiporus sulphureus* decomposes Tween 80 only, *Pholiota spumosa* digests only Tween 20).

Comparison of our results with those of Nerud et al. (1982) who used submerged cultivation of the mycelium and employed triolein as a substrate, showed differences only in the species *Piptoporus betulinus* where the latter authors found no lipase activity.

Amylases were detected in 86% of species (a total of 126 species tested). Both methods used yielded identical results, except for *Xeromphalina campanella*. Peptone, which is sometimes added to the medium (Spencer et al. 1980) was omitted since the coloured medium interfered with the precision of visual evaluation. Starch concentration varied in the range of 1–4%, optimum concentration being found at 3%.

Our study of proteolytic enzymes was centered around the comparison of activity with four different substrates. The results were more or less identical; this appears to correspond with the situation in nature, since fungi do not distinguish very sharply between plant and animal substrates. For chemotaxonomic purposes it would thus be sufficient to include the most sensitive tests — milk peptidase (79% active species out of 89 species tested, quantitative differences between active species) — and one of the more selective methods such as "caseinase" (122 tested species, 57% active), "gelatinase" (120 tested species, 54% active) and "gluteinase" (120 species, 54% active). Casein decomposition was tested spectrophotometrically by Buchalo et al. (1971) in 34 *Basidiomycetes* subjected to submerged cultivation. They drew very similar conclusions — activity was found, e. g., in *Flammulina velutipes*, *Lepista luscina*, *L. nuda*, *Marasmius oreades*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica*, *Auricularia auricula-judae*, while negative results were obtained with *Kuehneromyces mutabilis* and *Lentinus lepideus*. Some different findings can be caused by different modes of cultivation and detection (*Coprinus comatus*, *Lycoperdon perlatum*) or reflect a broadly interpreted species (*Armillaria mellea*).

Species evincing a precipitation zone in the tests for caseinase or milk peptidases can be assumed to contain milk clotting enzymes of the rennin type. Among 45 species tested belonging to some higher taxa the precipitation zone was found in 25 species which belonged to the orders *Aphyllphorales* and *Agaricales*. Production of rennet enzymes in macromycetes was also studied by Kawai and Mukai (1970) and Mišurcová et al. (1987) with the aid of submerged cultivation. Our results are in good agreement with the conclusions



of these authors because the percentage of the active species is about the same (55%). However, comparison of the data obtained on concrete species, e. g. *Kuehneromyces mutabilis* tested by Kawai and Mukai (1970) and by Mišurcová et al. (1987) indicates certain differences which may stem from differences in cultivation conditions and detection techniques. Dissimilar activities were found in some cases even between strains of the same species (e. g. *Stropharia rugosoannulata*, *Lentinus lepideus*). From the chemotaxonomical standpoint the test for activity of milk-clotting enzymes has dubious value.

Oberwinkler (1978) considered urease to be an obligate enzyme of all *Basidiomycetes*, Kocková-Kratochvílová (1986) used an urease test to distinguish yeast-like fungi of the subphyllum *Basidiomycotina* and true yeasts. Our study of extracellular urease revealed the enzyme in 44% of our 130 species under investigation. In addition to qualitative differences we also recorded quantitative dissimilarities. The best producers were *Bolbitius vitellinus* and *Cyathus striatus*.

This work is not a biochemical study and the described methods are qualitative or at best semiquantitative. A negative result may stem more from a lower sensitivity of the method than from the absence of the enzyme.

#### References

- BILAJ T. I. (1982): Opredelenije aktivnosti fermentov gribov. — In: Bilaj V. I. (edit.), *Metody eksperimental'noi mikologii*, p. 165—220, Kiev.
- BOIDIN J. (1958): Essai biotaxonomique sur les Hydnes resupinés et les Corticiés. — *Rev. Mycol., Mémoire hors-sér.* 6, Paris.
- BOOTH C. (1971): Introduction to general methods. — In: Booth C. (edit.), *Methods in Microbiology*, p. 2—45, London.
- BUHALO A. S., BILAJ T. L. et BESARAB B. N. (1971): Proteolitichna aktivnist' deakikh vishikh bazidiomicetiv. — *Mikrobiol. Zhurn.*, Kiev, 33: 693—696.
- DAS A., CHATTERJEE M. et ROY A. (1979): Enzyme of some higher fungi. — *Mycologia*, New York, 71: 530—536.
- HANKIN L. et ANAGNOSTAKIS S. L. (1975): The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. — *Mycologia*, New York, 67: 597—607.
- KARNETOVÁ J., MATEJŮ J., ŘEZANKA T., PROCHÁZKA P., NOHÝNEK M. et ROKOS J. (1984): Estimation of lipase activity by the diffusion plate method. — *Folia Microbiol.*, Praha, 29: 346—347.
- KAWAI M. et MUKAI N. (1970): Studies on milk clotting enzymes produced by *Basidiomycetes*. Part I. — *Agr. Biol. Chem.*, Tokyo, 34: 159—163.
- KLÁN J. et ŠTÍPEK S. (1987): Culture Collection of Fungi. Catalogue of cultures (*Basidiomycotina* and *Ascomycotina*). — Praha.
- KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A. (1977): Katalóg kultúr kvasiniek. — Bratislava.
- KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A. (1986): Identifikačné testy a skríniny. — In: Vraná D. (edit.), *Kvasinky ve výzkumu a praxi*, p. 305—339, Praha.
- KORNERUP A. et WANSCHER J. H. (1984): *Methuen Handbook of Colour*. London.
- MISURCOVÁ Z., NERUD F. et MUSÍLEK V. (1987): Screening of *Basidiomycetes* for the production of milk-clotting enzymes. — *Čes. Mykol.*, Praha, 41: 50—53.
- MUSÍLEK V. (1976): Biochemická aktivita basidiomycet jako potenciální taxonomický znak. — In: II. vědecký seminář o metodách studia taxonomie hub, p. 175—184, ÚVTIZ, Praha.
- MUSÍLEK V. (1981): Enzymatická aktivita kultur basidiomycetů. — *Čes. Mykol.*, Praha, 35: 196—208.
- NERUD F., ZOUCHOVÁ Z. et MUSÍLEK V. (1982): Lipolytic activity in submerged cultures of some wood-destroying *Basidiomycetes*. — *Čes. Mykol.*, Praha, 36: 45—46.
- NOBLES M. K. (1965): Identification of cultures of wood-inhabiting *Hymenomycetes*. — *Can. J. Bot.*, Ottawa, 43: 1097—1139.
- OBERWINKLER F. (1978): Was ist ein *Basidiomycet*? — *Z. Mykol.*, Karlsruhe, 44: 13—29.

KLÁN et BAUDIŠOVÁ: ENZYME ACTIVITY I.

- PAL A., ROY A. et DAS A. (1980): Production of amylase by *Polyporus ostreiformis*. — *Mycologia*, New York, 72: 1134—1141.
- SPENCER J. F. T., LAND P. et SPENCER D. M. (1980): The use of mitochondrial mutants in the isolation of hybrids involving industrial yeast strains. II. Use in isolation of hybrids obtained by protoplast fusion. — *Molec. Gen. Genet.*, Berlin, 178: 651—654.
- STALPERS J. A. (1978): Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. — *Studies in Mycology* 16. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn.
- TAYLOR J. B. (1974): Biochemical tests for identification of mycelial cultures of basidiomycetes. — *Ann. Appl. Biol.*, London, 78: 113—123.
- TAYLOR J. B. (1977): Biochemical characterization of some additional mycelial cultures of basidiomycetes. — *Ann. Appl. Biol.*, London, 85: 181—193.
- TRIGIANO R. N. et FERGUS C. L. (1979): Extracellular enzymes of some fungi associated with mushroom culture. — *Mycologia*, New York, 71: 908—917.
- WATLING R. (1983): *How to Identify Mushrooms to Genus V.: Cultural and Developmental Features.* — Mad River Press, Eureka.
- YEOH H. H., WONG F. M. et LIM G. (1986): Screening for fungal lipase using chromogenic lipid substrates. — *Mycologia*, New York, 78: 298—300.

Address of authors: Dr. Jaroslav Klán, CSc., Dr. Dana Baudišová, Institute for Toxicology, Faculty of Medicine, Charles University, Kateřinská 32 121 08 Praha 2.

# Enzyme activity of mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (*Basidiomycotina* and *Ascomycotina*).

## II. Methods of oxidoreductases estimation

### Enzymatická aktivita myceliových kultur saprotrofních makromycetů (*Basidiomycotina* a *Ascomycotina*).

#### II. Metody stanovení oxidoreduktáz

Jaroslav Klán and Dana Baudišová

Spot tests and incubation detection methods of mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (*Basidiomycotina*, *Ascomycotina*) were used to study extracellular oxidoreductases (tyrosinase, laccase, catalase, peroxidase, glucose-2-oxidase and diamine oxidase). When standard procedures are used the oxidase activity of a species can be utilized for chemotaxonomic purposes or for a primary screening. The results are demonstrated on 19 selected species of macromycetes.

Inkubačními metodami a kapkovými testy byly studovány extracelulární enzymy oxidoreduktázy (tyrosináza, lakkáza, kataláza, peroxidáza, glukózo-2-oxidáza a diaminooxidáza) produkované myceliovými kulturami saprotrofních makromycetů (*Basidiomycotina* a *Ascomycotina*). Při dodržení standardních postupů lze aktivitu oxidázových enzymů využít v chemotaxonomii a při primárním vyhledávání produkčních kmenů. Výsledky jsou demonstrovány na 19 vybraných druzích.

## Introduction

This work is the continuation of a study of extracellular enzymes in macromycetes (Klán and Baudišová 1990). The spot tests and incubation detection methods may serve for basic screening of the enzymes under study and are also applicable for chemotaxonomical purposes. They are also important for assessing the ecological role of a species, particularly in decomposition processes, because phenol oxidases participate significantly in lignin decomposition. Oxidases are much better studied than hydrolases, especially in wood-inhabiting fungi. The pertinent literature is fairly abundant. For instance, the methods of detection have been studied in detail and surveyed by Käärik (1965) who compared a number of substrates for the detection of laccase and tyrosinase and assessed the effects of pH, nutrient medium, temperature and cultural age. Oxidation of gallic acid was studied by Nobles (1965) using a number of mycelial cultures. The oxidases-tyrosinase, laccase and peroxidase were included by Stalpers (1978) in his key for the determination of polypore cultures. Among Czechoslovak researchers studying some oxidases are, e. g., Havlíčková et Rypáček (1957), Scháněl (1966) — wood-inhabiting *Basidiomycetes*; and Holubová-Jechová (1971) — *Hyphomycetes*. Oxidases in the hyphae of fruiting bodies of *Gasteromycetes* were investigated by Capellano and Demoulin (1969) and Demoulin (1967); colour chemical reactions in fruiting bodies of *Basidiomycetes* were described, e. g., by Frank (1986a, b), Micka and Klán (1980) and Watling (1971). Laccase, tyrosinase and peroxidase in fruiting bodies of *Basidiomycetes* were detected by a novel approach and evaluated by Marr (1979, 1984) and Marr et al. (1986). Some methods were described in reviews by Bilaj (1982), Kreisel and Schauer (1987), Watling (1971, 1983), and some literature data were surveyed by Musilek (1981).

## Materials

The mycelial cultures of macromycetes were from the Culture collection of fungi at the Institute for Toxicology, Charles University (Klán and Štípek 1987). The results are demonstrated on selected species of different taxonomical level:

*Ascomycotina — Pezizales:*

*Urnula craterium* (Schw.) Fr., No. 127;

*Basidiomycotina — Auriculariales:*

*Auricularia auricula-judae* (Bull.:St.—Am.) Wettst., No. 95;

*Aphylophorales:*

*Fomitopsis pinicola* (Sw.:Fr.) Karst., No 1081/I; *Inonotus hispidus* (Bull.:Fr.) Karst., No. 9; *Laetiporus sulphureus* (Bull.:Fr.) Murr., No. 92; *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst., No. 151/I; *Polyporus rhizophilus* Pat., No. 25; *Trametes hirsuta* (Wulf.:Fr.) Pilát, No. 69;

*Agaricales:*

*Bolbitius vitellinus* (Pers.) Fr., No. 48; *Collybia peronata* (Bolt.:Fr.) Sing. No. 42/II; *Coprinus comatus* (Müll. in Fl. Dan.:Fr.) Gray, No. 561/I; *Fammulina ononidis* Arnolds, No. 371/I; *Hypholoma fasciculare* (Huds.:Fr.) Kumm., No. 412/II; *Marasmius alliaceus* (Jacq.:Fr.) Fr., No. 62; *Pholiota squarrosa* (Pers.:Fr.) Kumm., No. 1501/I; *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quél., No. 31; *Pluteus romelii* (Britz.) Sacc., No. 52;

*Nidulariales:*

*Cyathus olla* (Batsch) Pers., No. 110; *Cyathus striatus* (Huds.): Pers., No. 30.

The results of testing 120 species will be the subject of a further communication. Enzymes were detected by incubation methods and by spot tests. For the latter the cultures were precultivated for a week on maltextract agar-MEA (Imuna) containing 1.3% agar, 3.5% malt extract and 0.5% bactopectone, in Petri dishes. Subsequently a sterile cork borer was used to cut out plugs from the growth zone and 50 µl of a detection agent was added dropwise into the resulting opening. Using an incubation method, a substrate or agent was added directly into the detection medium. Incubation was carried out for the appropriate time in darkness at 25 °C.

## Methods of enzyme detection

**Tyrosinase**

The reaction is based on the conversion of tyrosine to DOPA (3,4-dihydroxyphenylalanine) which is oxidized by tyrosinase, laccase and peroxidase to dopaquinone and dopachrome (red). The reaction proceeds spontaneously to indolequinone (purple or yellow) and to melanin (brown, brown-black or black). Tyrosinase can be determined by a spot test with tyrosine dissolved in boiling water (Marr 1979, 1984; Marr et al. 1986) or suspended in 96% ethanol (Käärik 1965, Watling 1983). The incubation method was employed for tyrosinase testing by Nakasone (1983). We used L-tyrosine in the form of a homogeneous suspension in the detection medium as the specific reagent for tyrosinase (monophenol, dihydroxyphenylalanine: oxygen oxidoreductase, E. C. 1.14.18.1).

Detection medium, 10 g L-tyrosine (Lachema), 20 g agar (Oxoid), 1000 ml demineralized water, pH 7. Tyrosine can be sterilized but it can be added in a non-sterile way because of the short incubation period. After a 3-day incubation the activity is demonstrated by a coloured zone (yellow, rusty red to black-brown) around the inoculum.

**Laccase**

Laccase was often detected by benzidine (Käärik 1965),  $\alpha$ -naphthol, guaiacol (Käärik 1965; Marr 1979; Stalpers 1978) and other phenolic compounds. Syringaldazine (N,N'-bis-3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzylidene hydrazine) is a specific agent for laccase, E. C. 1.10.3.2., (benzenediol:oxygen oxidoreductase, cf. Marr et al. (1968), which catalyzes its oxidation into a red pigment (tetramethoxy-azo-bis-methylene quinone). A spot test was used for assaying laccase.

Table 1. Oxidase activity of selected species

Species (year of isolation)	1	2	3	4	5	6
<i>Urnula craterium</i> (1985)	±	0	+++	0	+++	
<i>Auricularia auricula-judae</i> (1982)	±	++	++	+	++	+
<i>Fomitopsis pinicola</i> (1981)	0	0	+	0	++	0
<i>Inonotus hispidus</i> (1983)	+++	0	+++	±	+++	++
<i>Laetiporus sulphureus</i> (1982)	0	0	+	0	++	0
(1985)	0	0	+	0	+++	0
<i>Piptoporus betulinus</i> (1981)	++	0	+	0	+++	0
<i>Polyporus rhizophylus</i> (1978)	+	+++	+++	+	+++	+++
(1980)	+	+++	+++	+	++	++
(1981)	+	++	+++	+	++	++
<i>Trametes hirsuta</i> (1982)	0	++	+++	±	++	++
<i>Bolbitius vitellinus</i> (1978)	+	+	++	+	++	++
<i>Collybia peronata</i> (1985)	0	0	+++	+	+++	+
<i>Coprinus comatus</i> (1981)	+++	+	+++	0	0	+++
<i>Flammulina ononidis</i> (1979)	0	0	+++	+	+++	++
<i>Hypholoma fasciculare</i> (1985)	+	+	++	0	-	+
<i>Marasmius alliaceus</i> (1975)	0	0	++	+	++	+
<i>Pleurotus eryngii</i> (1975)	0	+++	++++	+	++	+++
(1981)	0	++	++++	+	+	+++
<i>Pluteus romellii</i> (1984)	0	0	+++	0	++	+
<i>Pholiota squarrosa</i> (1985)	++	++	+++	0	+++	++
<i>Cyathus olla</i> (1984)	±	+++	+++	+	+++	+++
<i>Cyathus striatus</i> (1981)	0	++	++++	+	++	+++

d

Explanatory notes to Table 1.

- |              |                     |
|--------------|---------------------|
| 1-Tyrosinase | 4-Peroxiidase       |
| 2-Laccase    | 5-Glucoso-2-oxidase |
| 3-Catalase   | 6-Diamino oxidase   |



## Explanatory notes to Table 1, cont.

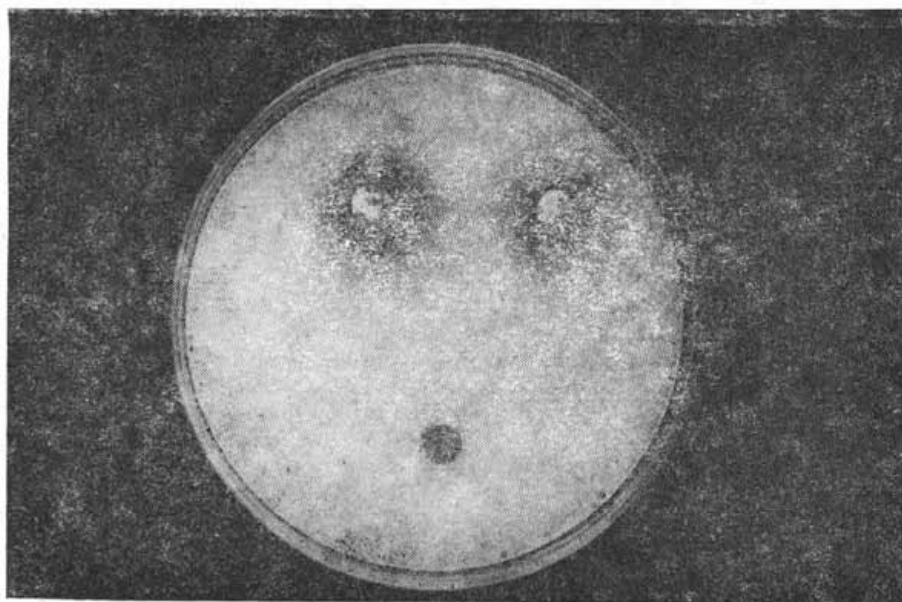
Tyrosinase: O no reaction;  $\pm$  unclear colour around the plug; + yellow zone; ++ russet zone; +++ dark brown to black zone. Laccase, peroxidase, diamine oxidase: O no reaction; + to +++ designation of relative intensity of the reaction. Catalase: + negligible reaction in the well, perceptible but weak reaction on the mycelium; ++ weak reaction in the well, strong reaction on the mycelium — bubbles rise into the air; +++ dense bubbles in the well, the thickest at the rim; ++++ strong reaction in the well, bubbles rise in the air. Glucose-2-oxidase: O colour the same as in the control;  $\pm$  debatable reaction; + greyish rose strip around the inoculum; ++ greyish rose zone; +++ bluish rose colour all over the surface in the Petri dish.

Detection agent: a freshly prepared solution of syringaldazine (Aldrich) containing 0.01 g in 10 ml 95% ethanol. The agent is dissolved by mild heating. Positive reaction is demonstrated after 10 min by a violet-red zone (Tab. 13, 8B according to the colour scale of Kornerup and Wanschler 1984). After 20 min the colour disappears.

## Catalase

Catalase (E.C. 1.11.1.16) catalyzes the reaction  $H_2O_2 + H_2O_2 = 2 H_2O + O_2$ . The liberated oxygen forms bubbles. Quantitative assay of the enzyme can be performed by titration analysis (Bilaj 1982) or colorimetrically (Kocková-Kratochvílová 1986). We detected catalase by a semiquantitative drop method.

Detection agent: a freshly prepared 10% solution of hydrogen peroxide added to the wells in the growth zone and on the mycelial surface. The reaction was immediate and the total time of foaming (bubble formation), bubble size, amount and the site of the highest activity were recorded.



Strong tyrosinase activity of *Polyporus rhizophilus* strain I and II (above) and negative activity of *Laetiporus sulphureus* (below).

## Peroxidase

Peroxidase (E.C. 1.11.1.7) oxidizes phenolic compounds with the aid of hydrogen peroxide as electron acceptor: donor +  $H_2O_2 =$  oxidized donor +  $2 H_2O$ .

In fungi with pronounced laccase activity the peroxidase is difficult to detect since substrates oxidized by peroxidase are mostly oxidized also by laccase. In species lacking laccase the peroxidase can be assayed using substrates such as syringaldazine or benzidine, with subsequent addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. We used as substrate bis-p-phenylenediamine tartrate which is only rarely oxidized without hydrogen peroxide.

Preparation of tartrate: saturated ethanolic solution of p-phenylenediamine is mixed with saturated ethanolic solution of tartaric acid and the ensuing precipitate is washed with ethanol and recrystallized from diethyl ether.

Detection agent. 0.5% aqueous solution of p-phenylenediamine tartrate and 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> are applied successively into the cut-out wells in 20 µl volumes. Both agents have to be freshly prepared. Incubation is carried out for 20 min and positive reaction is demonstrated by a dull violet zone (Tab. 15, E4 in colour scale of Kornerup and Wanscher 1984). Controls are run without hydrogen peroxide.

**Glucose-2-oxidase**

Glucose-2-oxidase (E.C. 1.1.3.4.) oxidizes β-D-glucose to the strongly reducing D-glucono-δ-lactone and hydrogen peroxide. A detailed chemical study of glucose-2-oxidase was performed by Volc (1975) in submerged cultures of *Oudemansiella mucida*.

Table 2. Comparison of tyrosinase activities (with other authors)

Species	1a	1b	2	3	4	5a	5b	6	7	8
<i>Armillaria mellea</i>	+++	+	++	+++		+++	+++	+	+++	
<i>Flammulina velutipes</i>	0	+	0	0		0	0	0		
<i>Kuchneromyces mutabilis</i>	±		±	+++		0	+++	++		
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0		+			0	0	±	0	
<i>Inonotus hispidus</i>	+++	+++				0	0	+++		+
<i>Laetiporus sulphureus</i>	0	0		0		0	0			0
<i>Trametes versicolor</i>	0	0				0	0			0
<i>Phallus impudicus</i>	0				0					

Explanatory notes to Table 2

- 1- a-tyrosin, b- para-cresol; 2-Bresinsky et Besl 1979 (p-cresol); 3-Boidin 1951 (tyrosin);
- 4- Capellano et Demoulin 1969 (p-cresol); 5-Kšárik 1965 (a-tyrosin, b- p-cresol); 6-Lyr 1958 (p-cresol); 7-Marr et al. 1986 (tyrosin); 8-Stalpers 1978 (p-cresol).

Detection medium. 1000 ml demineralized water, pH 6.5, 12 g agar (Oxoid). 70 g glucose was added after sterilization. After a 7-day incubation the surface of the Petri dish was overlaid with a 5% solution of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC, Lachema) and 1 N, KOH. In a positive reaction the strongly reducing D-glucono-δ-lactone rapidly reduces TTC to formazan which produces an intensive colour changer to greyish rose (Tab. 12, 5B; Kornerup and Wanscher 1984) or bluish red (Tab. 12, 8B). Control without inoculated culture turns pink after 30 min (glucose is a mildly reducing sugar — Tab. 12, 3A; Kornerup and Wanscher 1984). Negative reaction yields the same colour as the control.

**Diamine oxidase**

Diamine oxidase splits an amino group of diamines, giving rise to hydrogen peroxide. We performed spot tests for this assay with tetramethyl-p-phenylenediamine as substrate. The compound is commonly used in the study of cytochrome oxidase (cf. Discussion) and yields colour products on oxidation. Another agent that can be used is enthyloxethyl-p-phenylenediamine (photographic developer Agfa T 32).

## KLÁN et BAUDIŠOVÁ: ENZYME ACTIVITY II.

Table 3. Comparison of tyrosinase and laccase activity with Marr et al. 1986

	Laccase	Tyrosinase	Marr et al. 1986	
			Laccase	Tyrosinase
<i>Coprinus comatus</i>	+	+	+	+
<i>Lentinellus cochleatus</i>	+	+	0	+
<i>Lepista nuda</i>	+	+	+	+
<i>Pleurotus ostreatus</i>	+	0	+	0

Detection agent 1. (NADI reaction — Reiss 1973); 20 mg tetramethyl-p-phenylenediamine in 2 ml demineralized water, 20 mg  $\alpha$ -naphthol in 8 ml ethanol and 12 ml water. The two solutions are mixed just before use. Incubation is carried out for 20 min and positive reaction yields blue colour.

Detection agent 2. 40 mg tetramethyl-p-phenylenediamine in 20 ml water supplemented with 15 ppm ascorbic acid. Positive reaction gives a wine colour.

## Results and Discussion

Table 1 surveys the oxidase activity of selected species. In contrast to hydrolases (Klán and Baudišová 1990) oxidases in *Basidiomycetes* are more thoroughly studied and the results can be compared with those of other authors. Our findings are comparable with the data of other authors and the occurrence of oxidases in *Basidiomycetes* can thus be assumed to be species-specific and can be utilized for chemotaxonomical purposes. Data contrasting with other author's conclusions can be due to different methodology. Our methods were used to study extracellular enzymes; this does not exclude the presence of a given enzyme inside the cell.

Tyrosinase activity was proved in 53% of species tested (a total of 123 species). The per cent proportion of species with tyrosinase activity was about the same in the orders *Agaricales* (53%), *Aphylllophorales* (60%) and the class *Gasteromycetes* (47%); in the last class the activity was low in all cases. 98 species were also tested by a spot test with p-cresol, a fairly widely used but low-specificity agent (Käärik 1965; Marr 1979, 1984; Marr et al. 1986). We obtained comparable results in 87% of the species. Twelve species, e. g., *Pluteus romellii* and *Auricularia auricula-judae*, whether exhibiting tyrosinase activity or not, exhibited in addition a cleared, probably hydrolytic zone around the inoculum.

Table 2 compares the tyrosinase activity with the results of other authors.

Detection of laccase is often performed with agents such as benzidine,  $\alpha$ -naphthol and guaiacol, which are less specific and are thus oxidized by a broader range of enzymes. Our results can be compared only with the data of Marr et al. (1986) who also used syringaldazine but worked with fungal fruiting bodies (Tab. 3). Laccase activity was proved in 67% of species tested (a total of 96 species).

Catalase has not yet been studied in a broader set of *Basidiomycotina*. The results of our assay in 90 cultures imply that these enzymes are widely spread in fungi, albeit with marked interspecific differences. This is also in keeping with the results of Bresinsky and Besl (1979) who used a smaller set of fungi.

Diamine oxidase is not a specific enzyme but a complex of enzymes oxidizing diamines. Of 115 species under study a mere 5.2% were negative; these species also displayed the absence or a very low activity of other oxidases. Diamine oxidase thus completes the overall pattern of oxidase activity of the cultures. An identical method was used by Stalpers (1978) and Taylor (1974) for cytochrome oxidase assay. However, cytochrome oxidase is an endoenzyme bound to the inner mitochondrial membrane, and has to be determined cytochemically (e. g. Reiss 1973). It is present in all aerobic organisms but its activity may differ quantitatively depending on the species and its physiological state. The authors thus probably assayed diamine oxidase exoenzymes.

Glucose-2-oxidase has not yet been studied in an extensive set of fungi. In agreement with the data of Volc (1976) we found its activity in *Oudemansiella mucida*. Our results indicate that this enzyme is likely to be wide-spread in *Basidiomycotina*.

Peroxidase of wood-inhabiting fungi was studied in detail by Koenigs (1970) who concluded that it is a predominantly intracellular enzyme. Failure to detect peroxidase in our tests need not necessarily reflect its absence but rather the inability of the enzyme to pass through the cell membrane or the cell wall, as pointed out by Koenigs (1970). Extracellular laccase (polyphenol oxidase) is often superimposed on peroxidase and it is necessary to find a substrate for assaying extracellular peroxidase that is not, or only very slightly, oxidized by polyphenol oxidase. This condition is fulfilled by p-phenylenediamine tartrate. In a test performed with the agent the species under study exhibited qualitative differences in activity. For instance, *Fomitopsis pinicola* was found to be negative and, accordingly, Koenigs (1970) found only very low intracellular activity. Peroxidase activity was proved in 42% of 96 species tested. Spot test detection using pyrogallol with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, used by such authors as Stalpers (1978), usually cannot distinguish between peroxidase and polyphenol oxidase. As shown by Käärik (1965) peroxidase can be determined with the aid of conventional phenolic compounds (benzidine, pyrogallol, guaiacol) only if polyphenol oxidase is absent.

#### Acknowledgement

We wish to express our thanks to Dr. C. Marr of Oneonta, N. Y. (U.S.A.) for supplying us with syringaldazine, otherwise unavailable in this country.

#### References

- BILAJ T. I. (1932): Opredelenije aktivnosti fermentov gribov. — In: Bilaj V. I. (edit.): Metody eksperimental'noi mikologii, p. 165—220, Kiev.
- BOIDIN J. (1951): Recherche de la tyrosinase et de la laccase chez les Basidiomycètes en culture pure. Milieux différentiels. Intérêt systématique. — Rev. Mycol., Paris, 16: 173—234.
- BRESINSKY A. et BESL H. (1979): Zum verwandtschaftlichen Anschluss von *Omphalotus*. — Sydowia Beiheft, Horn, 8: 98—109.
- CAPELLANO A. et DEMOULIN V. (1969): Nouvelles recherches sur la distribution des phénoloxydases et des peroxydases chez les Gastéromycètes. — Bull. Soc. Mycol. Fr., Paris, 85: 251—254.
- DEMOULIN V. (1967): Proposition d'un processus de détection des phénoloxydases et peroxydases chez les Macromycètes. — Planta, Berlin, 76: 129—137.
- FRANK H. M. (1986a): Macrochemische Farbreaktionen-Erwartungen und Methoden. — Mykol. Mitt., Halle, 29: 71—74.

- FRANK H. M. (1986b): Macrochemical color reaction of Macromycetes. — *Mycotaxon*, Ithaca, 27: 503—506.
- HAVLÍČKOVÁ V. et RYPÁČEK V. (1957): Enzymy dřevokazných hub I. Zjišťování oxydačních exoenzymů. — *Čes. Mykol.*, Praha, 11: 96—101.
- HOLUBOVÁ-JECHOVÁ V. (1971): Polyphenoloxidase enzymes from wood-inhabiting Hyphomycetes. — *Čes. Mykol.*, Praha, 25: 23—32.
- KÄÄRIK A. (1965): The identification of mycelia of wood-decay fungi by their oxidation reactions with phenolic compounds. — *Stud. Forest. Suec.*, Stockholm, 31: 1—61.
- KLÁN J. et ŠTÍPEK S. (1987): Culture collection of fungi. Catalogue of cultures. (Basidiomycotina and Ascomycotina). — Praha.
- KLÁN J. et BAUDIŠOVÁ D. (1990): Enzyme Activity of Mycelial Cultures of Saprotrophic Macromycetes (Basidiomycotina). I. Methods of Hydrolases Estimation. — *Čes. Mykol.*, Praha, 44 (in press).
- KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A. (1986): Identifikačné testy a skríniny. — In: Vraná D. (edit.): *Kvasinky ve výzkumu a praxi*, p. 305—339, Praha.
- KOENIGS J. V. (1970): Peroxidase activity in brown-rot basidiomycetes. — *Arch. Microbiol.*, Berlin, 73: 121—124.
- KORNERUP A. et WANSCHER J. H. (1984): *Methuen Handbook of Colour*. — Eyre Methuen Ltd., London.
- KREISEL H. et SCHAUER F. (1987): *Methoden des mykologischen Laboratoriums*. — Jena.
- LYR H. (1958): Über den Nachweis von Oxydasen und Peroxydasen bei höheren Pilzen und die Bedeutung dieser Enzyme für die Bavendamm reaktion. — *Planta*, Berlin, 50: 359—370.
- MARR C. D. (1979): Laccase and tyrosinase oxidation of spot test reagents. — *Mycotaxon*, Ithaca, 9: 244—276.
- MARR C. D. (1984): Spot tests for detection of tyrosinase. — *Mycotaxon*, Ithaca, 19: 299—305.
- MARR C. D., GRUND D. V. et HARRISON K. A. (1986): The taxonomic potential of laccase and tyrosinase spot tests. — *Mycologia*, New York, 78: 169—184.
- MICKA K. et KLÁN J. (1980): Chemical spot tests of macromycetes with benzidine. — *Čes. Mykol.*, Praha, 34: 74—81.
- MUSÍLEK V. (1981): Enzymatická aktivita kultur basidiomycetů. Stručný přehled. — *Čes. Mykol.*, Praha, 35: 196—209.
- NAKASONE K. K. (1983): Cultural and morphological studies on *Cystostereum australe* (Corticaceae), a new species from southeastern U.S.A. and Costa Rica. — *Mycotaxon*, Ithaca, 17: 269—274.
- NOBLES M. K. (1965): Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. — *Can. J. Bot.*, Ottawa, 43: 1097—1139.
- REISS J. (1973): Enzyme Cytochemistry of Fungi. — In: Graumann W., Lojda Z., Pearse A. G. E. et Schiebler T. H. (edit.): *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 5: 1—36, Stuttgart-Portland.
- SCHÄNEL L. (1966): Heterogenous laccase production by mycelium of white-rot fungi. — *Biol. Plant.*, Praha, 8: 292—298.
- STALPERS J. A. (1978): Identification of wood-inhabiting fungi in pure culture. — *Studies in Mycology* 16. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn.
- TAYLOR J. B. (1974): Biochemical tests for identification of mycelial cultures of basidiomycetes. — *Ann. Appl. Biol.*, London, 78: 113—123.
- VOLC J. (1975): Glukózo-2-oxidáza a dikarbonylové cukry v kulturách basidiomyce-tu *Oudemansiella mucida*. Ph.D. Thesis (in Czech). Institute of Microbiology, Czech. Acad. Sci., Praha.
- WATLING R. (1971): Chemical tests in Agaricology. — In: Booth J. C. (edit.), *Methods in Microbiology* 4: 567—597, Academic Press, London—New York.
- WATLING R. (1983): How to identify mushrooms to genus V: Cultural and developmental features. — Mad River Press, Eureka.

Address of authors: Dr. Jaroslav Klán, CSc., Dr. Dana Baudišová, Institute for Toxicology, Faculty of Medicine, Charles University, Kateřinská 32, 121 08 Praha 2.



# Význam ligninového testu v mykotoxikologii a chemotaxonomii hub

## Lignin test — its mycotoxicological and chemotaxonomical significance

Jaroslav Klán

Ligninovým testem bylo analyzováno celkem 135 druhů hub (*Basidiomycetes*). Test není specifický pro důkaz amanitinů ani tryptaminových derivátů, lze jej však využít v chemotaxonomii rodů *Russula*, *Lyophyllum*, *Amanita*, *Psilocybe*.

135 species of *Basidiomycetes* were tested by the lignin test. The test is not specific for the proof of amanitins or for tryptamine derivatives, but it can be used in chemotaxonomy of the *Russula*, *Lyophyllum*, *Amanita* and *Psilocybe* genera.

### Úvod

Ligninový test (Newspaper test, Zeitungspapiertest, Wielandův test) na důkaz amanitinů v muchomůrce zelené byl poprvé zveřejněn v roce 1949, znovu v roce 1978 (Wieland et al. 1949, Wieland 1978). Nedožnal však náležitě odezvy. Teprve „znovuobjevení“ testu A. Meixnerem na 7. kongresu evropských mykologů v r. 1978 a následná publikace (Meixner 1979) vyvolalo ohlas ve světě i u nás. Test je v povědomí popularizátorů mykologie a zdravotnických pracovníků zanesen jako prostředek ke snadnému a rychlému určení muchomůrky zelené (*Amanita phalloides*) a příbuzných jedovatých muchomůrek bez použití mikroskopu, třeba i z fragmentu třeně. Test spočívá v kápnutí šťávy z houby na nepotištěný novinový papír (obsahující lignin); na zaschlou skvrnu se aplikuje koncentrovaná nebo zředěná kyselina chlorovodíková. Modré zbarvení svědčí o přítomnosti toxických amanitinů (Wieland et al. 1949; Wieland 1978; Meixner 1979). Chemická podstata reakce je založená na katalytické reakci amanitinů ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -amanitin obsahující hydroxylované indoly) s komplexním biopolymérem ligninem za modrého zbarvení produktu. Reaktivními skupinami aromatických složek ligninu (polyfenoly, aromatické aldehydy) jsou hydroxylové a aldehydové skupiny. Barevné reakce ligninového testu v podstatě indikují přítomnost sloučenin s indolovým jádrem.

Ačkoliv se test rozšířil, dosud trvají rozporné údaje o jeho specifitě pro bicyklické oktapeptidy amanitiny. Pro případné rutinní používání testu v mykotoxikologické praxi bylo nutné jej ověřit na širokém souboru houbových druhů. Ve Spojených státech tuto problematiku studovali Beutler a Vergeer (1980), v Německé spolkové republice Seegerová (Seeger 1984) s nikoliv jednoznačně kladnými výsledky.

### Materiál a metody

Houby použité k analýzám pocházejí z Československa a byly sebrány, až na dále uvedený případ *A. phalloides*, v letech 1980—1986. Celkem bylo analyzováno 135 druhů nejčastěji sbíraných jedlých i jedovatých hub.

Pro nekonstantní obsah vody v čerstvých plodnicích a z toho plynoucí odlišné intenzity barevné skvrny byla dána přednost metanolovým extraktům ze sušených hub (plodnice sušeny při 40 °C).

150 mg suchého klobouku bylo rozmělněno a třepáno 60 minut s 0,8 ml metanolu na třepače. Supernatant byl nakapán na novinový papír v množství 300, 100 a 50  $\mu$ l. Skvrny byly vysušeny v proudu teplého vzduchu. Na suché reakční místo světle žlutě zbarvené byla přikápnuta 18 % kyselina chlorovodíková. Touž kyseli-

## KLÁN: LIGNINOVÝ TEST

Table 1. Colour reaction of positive samples

Colour	Species	Notes
brown	<i>Amanita gemmata</i> (Fr.) Bertillon	yellow-brown
	<i>Boletus calopus</i> Fr.	brownish rust
	<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	weak brown-violet
	<i>Gyromitra esculenta</i> (Pers.: Pers.) Fr.	brownish red
	<i>Leucocoprinus bresadolae</i> (Schulz.) Wass.	rust
	<i>Rhodocybe truncata</i> (Qué.) Bon	
	<i>Russula mustelina</i> Fr.	brown-violet
orange	<i>Agaricus abruptibulbus</i> Peck	at once
	<i>A. arvensis</i> Schaoff.	at once
	<i>A. xanthoderma</i> Gen.	at once
	<i>Boletus reticulatus</i> Schaoff.	orange-grey, more orange
	<i>B. satanas</i> Lenz	yellow-orange
	<i>Collybia dryophila</i> (Bull.: Fr.) Kumm.	dark orange-grey
	<i>Lepiota alba</i> (Bros.) Sacc.	
	<i>Lyophyllum connatum</i> (Schum.: Fr.) Sing.	at once, later yellow
<i>Xerocomus parasiticus</i> (Bull.: Fr.) Qué.	yellow	
red	<i>Amanita citrina</i> (Schaoff.) Pers.	at once purplish red, then violet-blue
	<i>A. porphyrea</i> Alb. et Schw.: Fr.	at once purplish red, then violet-blue
	<i>Collybia fusipes</i> (Bull.: Fr.) Kumm.	
	<i>Flammulina ononidis</i> Arnolds	weak rose
	<i>Inocybe erubescens</i> Blytt	weak rose
	<i>Lentinus lepideus</i> (Fr.: Fr.) Fr.	light red, later rose
	<i>Leucocoprinus cepastipes</i> (Sow.: Fr.) Pat.	light purple red
	<i>Naucoria escharoides</i> (Fr.: Fr.) Kumm.	rose
	<i>Panaeolus foenicicii</i> (Pers.: Fr.) Schroet.	at once purple red, then violet blue
	<i>Pholiota squarroso-adiposa</i> Lange	rose
	<i>Rhodocybe popinalis</i> (Fr.) Sing.	rose
	<i>Tricholoma columbetta</i> (Fr.) Kumm.	rose
	<i>Amanita ceciliae</i> (Berk. et Br.) Bas	grey-blue
	<i>A. phalloides</i> (Fr.) Link	dark blue-green
	<i>A. verna</i> (Bull.: Fr.) Pers.	dark blue-green
	<i>A. virosa</i> Lam.	dark blue-green
	<i>Gomphidius glutinosus</i> (Schaoff.: Fr.) Fr.	blue-green
<i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull.) Qué.		
<i>Lepiota lilacea</i> Bros.		
<i>Macrolepiota puellaris</i> (Fr.) Mos.	greyish blue	
<i>Psathyrella sarcocephala</i> (Fr.) Sing.		
<i>Russula aeruginea</i> Lindbl. in Fr.	light	
<i>R. cinetica</i> var. <i>silvestris</i> Sing.	blue rim, green in	
<i>R. foetens</i> Pers. (:Fr.)	dirty	
<i>R. ochroleuca</i> Pers.	greyish blue	
green	<i>Agrocybe erebia</i> (Fr.) Kühn. in Sing.	dark
	<i>Amanita alba</i> Gill.	light
	<i>A. vittadini</i> (Mor.) Vitt.	light, with an orange rim
	<i>Calocybe constricta</i> (Fr.) Kühn.	weak green-blue
	<i>C. gambosa</i> (Fr.) Sing.	dark
	<i>Coprinus narcoticus</i> (Batsch: Fr.) Fr.	grass green, later blue-green

Colour	Species	Notes
green /cont./	<i>C. stercoreus</i> (Scop.) Fr.	grass green, later blue-green
	<i>Cortinarius anomalus</i> (Fr.: Fr.) Fr.	later light blue
	<i>Inocybe corydalina</i> Quéf.	light
	<i>I. haemata</i> Berk. et Br.	light
	<i>Lacrymaria lacrymans</i> (Bull.: Fr.) Pat.	dark
	<i>Lactarius flexuosus</i> (Pers.) Gray	later dark blue
	<i>Lepista nuda</i> (Bull.: Fr.) Cooke	light
	<i>Lyophyllum decastes</i> (Fr.: Fr.) Sing.	green-blue
	<i>Macrolepiota excoriata</i> (Schaeff.: Fr.) Wass.	
	<i>M. rhacodes</i> (Vitt.) Sing.	grayish green with yellow rim
	<i>Panaeolus subulicatus</i> (Berk. et Br.) Saen.	green-blue
	<i>Psilocybe cyanescens</i> Wakofield	green-blue
	<i>P. semilanceata</i> (Fr.) Kumm.	green-blue
	<i>Russula mairei</i> Sing.	later blue
	<i>Tephroclype putida</i> (Fr.) Mos.	green-blue
	<i>Tricholoma sulphureum</i> (Bull.: Fr.) Kumm.	grass green
	<i>Tricholomopsis rutilans</i> (Schaeff.: Fr.) Sing.	dark

Druhy s negativní reakcí

*Agrocybe dura* (Bolt.:Fr.) Sing., *A. praecox* (Pers.:Fr.) Fay., *A. semiorbicularis* (Bull.) Fay., *Amanita crocea* (Quéf.) Kühn. et Romagn., *A. excelsa* (Fr.) Bert., *A. muscaria* (L.) Pers., *A. pantherina* (DC.:Fr.) Krombh., *A. rubescens* (Pers.:Fr.), *A. solitaria* (Bull.:Fr.) Mérat, *A. strobiliformis* (Paulet:Vitt.) Bert., *A. vaginata* (Bull.:Fr.) Vitt., *Armillaria borealis* Marx. et Korh., *A. mellea* (Vahl.:Fr.) Kumm., *Clitocybe odora* (Bull.:Fr.) Kumm., *C. phyllophila* (Fr.) Kumm., *C. tornata* (Fr.) Kumm., *Collybia maculata* (Alb. et Schw.:Fr.) Kumm., *Coprinus atramentarius* (Bull.:Fr.) Fr., *Cortinarius orellanoides* Henry, *C. orellanus* Fr., *C. traganus* (Fr.:Fr.) Fr., *Cystoderma carcharias* (Pers.) Fay., *Dermoloma cuneifolium* (Fr.) Orton, *Entoloma clypeatum* (L.) Kumm., *E. rhodopolium* (Fr.:Fr.) Kumm., *Flammulina fennae* Bas, *F. velutipes* (Curt.:Fr.) Karst., *Galerina marginata* (Batsch) Kühn., *Gymnopilus sapineus* (Fr.) Maire, *Hericium coralloides* (Scop.:Fr.) S. F. Gray, *Hohenbuehelia atrocoerulea* (Fr.:Fr.) Sing., *Hydnellum caeruleum* (Hornem.) Karst., *Hygrocybe nigrescens* (Quéf.) Kühn., *Hypholoma capnoides* (Fr.:Fr.) Kumm., *H. fasciculare* (Huds.:Fr.) Kumm., *H. polytrichi* (Fr.) Ricken, *H. sublateritium* (Fr.) Quéf., *Laccaria laccata* (Scop.:Fr.) Berk. et Br., *Lepiota aspera* (Pers.:Fr.) Quéf., *L. cristata* (Bolt.:Fr.) Kumm., *Lepista flaccida* (Sow.:Fr.) Pat., *L. nebularis* (Batsch:Fr.) Harm., *Leucoagaricus leucothites* (Vitt.) Wass., *Lyophyllum ulmarium* (Bull.:Fr.) Kühn., *Marasmius oreades* (Bolt.:Fr.) Fr., *Megacollybia platyphylla* (Pers.:Fr.) Kotl. et Pouz., *Mycena pura* (Pers.:Fr.) Kumm., *M. rosea* (Bull.) Gramberg, *Omphalotus olearius* (DC.:Fr.) Sing., *Oudemansiella mucida* (Schrad.:Fr.) Hoehn., *O. radicata* (Relh.:Fr.) Sing., *Panellus stypticus* (Bull.:Fr.) Karst., *Paxillus atrotomentosus* (Batsch:Fr.) Fr., *P. involutus* (Batsch:Fr.) Fr., *Pholiota lenta* (Pers.:Fr.) Sing., *P. squarrosa* (Müll.:Fr.) Kumm., *Pleurotus dryinus* (Pers.:Fr.) Kumm., *Pluteus atricapillus* (Batsch) Fay., *P. tricuspidatus* Velen., *Porphyrellus porphyrosporus* (Fr. in Fr. et Hök) Gilb., *Psathyrella candoleana* (Fr.:Fr.) Maire, *P. piluliformis* (Bull.:Fr.) Orton, *Ramaria eumorpha* (Karst.) Corner, *Russula amoena* Quéf.,

*R. cyanoxantha* (Schaeff.) Fr., *Stropharia rugosoannulata* Farlow, *Tricholoma fulvum* (DC.:Fr.) Sacc., *T. sapónaceum* (Fr.) Kumm., *T. sculpturatum* (Fr.) Quél., *T. vaccinum* (Schaeff.:Fr.) Kumm., *Tylophillus felleus* (Bull.:Fr.) Karst., *Xerocomus rubellus* (Krombh.) Mos.

nou byla na novinový papír kápnuta kontrolní kapka. Další kontrolní reakce byla provedena na celulózovém papíře (Schleicher et Schuell). Barevné změny byly hodnoceny při zářivkovém světle za vlhka krátce po aplikaci HCl a pak i po 5, 10 a 15 minutách. Druhy, které vykazovaly barevnou reakci, byly analyzovány metodou tenkovrstvé chromatografie ke zjištění amatoxinů podle Andary et al. (1977), indolových derivátů podle Repke et al. (1977) a Stijve (1979). Každý sběr byl analyzován nejméně dvakrát.

### Výsledky a diskuse

Přehled druhů, které vykazovaly pozitivní ligninový test je uveden v tab. 1, seznam druhů s negativní reakcí je uveden pod tabulkou.

Pozitivní reakce *Amanita phalloides* byla zjištěna i u plodnic 35 let starých a v retenční tekutině plodnic naložených 3 roky v octě. Var, smažení (cca 30 minut) ani zmrazení (-26 °C, 5 měsíců) reakci kvalitativně neovlivnilo.

Modré až tmavěmodrozelené zbarvení při ligninovém testu vykazují vždy druhy obsahující toxické amanitiny jako *Amanita phalloides*, *A. verna*, *A. virosa* a *Lepiota lilacea*. Podobně se zbarvil novinový papír i u druhů, u nichž amanitin prokázán nebyl, jako *Amanita inaurata*, *Cortinarius anomalus*, *Gomphidius glutinosus*, *Lactarius flexuosus*, *Macrolepiota puellaris*, *Russula aeruginosa*, *R. emetica*, *R. foetens*, *R. mairei*, *R. ochroleuca*. *Galerina marginata* (obsahující  $\alpha$ -amanitin chromatograficky detekovatelný) byla negativní, příčinou je zřejmě řádově nižší koncentrace amanitinu. Hranice citlivosti testu jsou 0,2  $\mu\text{g}$  (Wieland 1980) až 0,5  $\mu\text{g}$  (Wieland 1986). Protože ligninový test není pro amanitiny specifický (což je i ve shodě s pracemi Beutler a Vergeer 1980, Seeger 1984) lze jej ve zdravotnických zařízeních rutinně používat jen jako pomocný znak k determinaci jedovatých hub vedle mikroskopického vyšetření; nezbytné je porovnání se standardem *Amanita phalloides*. Metanol jako rozpouštědlo lze nahradit vodou nebo etanolem.

Jedovaté druhy obsahující alkaloid muskarin (např. *Clitocybe phyllophila*) či bipyridylové deriváty orellaniny, (*Cortinarius orellanoides*, *C. orellanus*) vykazovaly negativní reakci.

Pokud byly v houbě zjištěny tryptaminové deriváty typu psilocybinu a psilocinu, skvrny byly světle zelené až zelenomodré, např. *Psilocybe cyanescens*, *P. semilanceata*, *Panaeolus subbalteatus*, *Inocybe haemacta*, *I. corydalina*. Podobné zbarvení bylo u druhů, které psilocybin ani psilocin neobsahují např. *Agrocybe erobia*, *Amanita alba*, *A. vittadinii*, *Calocybe constricta*, *C. gambosa*, *Coprinus narcoticus*, *Lepista nuda*, *Lyophyllum decastes*, *Macrolepiota excoriata*, *M. puellaris*, *Tephrocybe putida*, *Tricholomopsis rutilans*, *Tricholoma sulphureum*.

Purpurově červenou reakci u druhů *Amanita citrina* a *A. porphyrea* způsobuje zřejmě tryptaminový derivát bufotenin (5-hydroxy-N,N dimethyltryptamin), kterého *Amanita citrina* obsahuje až 1 % nebo serotonin (5-hydroxytryptamin) u druhu *Panaeolus foenicicii*. Červeně zbarvené skvrny byly shledány i u druhů *Collybia fusipes*, *Leucocoprinus cepaestipes*, *Lentinus lepideus*, u nichž jsem bufotenin ani serotonin chromatograficky neprokázal.

Chemicky čistý tryptamin hydrochlorid (Fluka) zbarvuje novinový papír pur-

purově červeně (vínová barva), DL-tryptofan (Fluka) rubínově červeně a serotonin (Serva) tmavě purpurově až fialově. Beutler et Vergeer (1980) udávají u tryptaminu negativní reakci. Muchomůrku citrónovou (*Amanita citrina*) lze tedy od muchomůrky zelené (*Amanita phalloides*) ligninovým testem spolehlivě odlišit (*A. phalloides* modrozelená reakce, *A. citrina* purpurově zabarvení).

Seegerová (Seeger 1984) testovala 335 druhů lupenatých hub a našla u 63 druhů zbarvení modré nebo modrozelené. V některých případech se naše výsledky liší, např. *Entoloma clypeatum* u nás vykazuje negativní reakci (Seeger 1984 — pastelově zelená), *Coprinus atramentarius* — negativní (Seeger 1984 — šedozeleň), *Tricholoma sulphureum* trávově zelená (Seeger 1984 — negativní), *Psathyrella hydrophila* negativní (Seeger 1984 — šedozeleň). Rozdíly ve výsledcích mohou být způsobeny odlišnou metodikou práce, případně kolísáním obsahových látek v závislosti na lokalitě. Dále autorka neudává, kterou část plodnice extrahovala a její metodika použití 50 mg sušiny v 1 ml metanolu se mi jeví jako méně vhodná vzhledem k citlivosti dané reakce. Seegerová rovněž nepíše, v jakém časovém odstupu od aplikace HCl byla barevná změna vyhodnocována. Beutler et Vergeer (1980), kteří použili poněkud odlišnou metodiku, ale pracovali rovněž s metanolovými extrakty, udávají shodné výsledky u *Amanita porphyrea* a *A. citrina*. Pozitivní reakci však zjistili též u *Amanita rubescens* a *A. vaginata*, které v našem případě jsou negativní.

Ligninový test by bylo možné při dodržení standardních podmínek zařadit k metodám vhodným pro chemotaxonomii např. v případě rodů *Russula*, *Lycophyllum*, *Amanita*, *Psilocybe*, neboť barevné reakce jsou pro některé druhy naprosto specifické.

#### Poděkování

RNDr. D. Baudišové děkuji za technickou pomoc.

#### Literatura

- ANDARY C., ENJALBERT F., PRIVAT G. et MANDROH B. (1977): Dosage des amatoxines par spectrophotométrie directe sur chromatogramme chez *Amanita phalloides* Fries (Basidiomycetes). — *J. Chromatogr.*, 132: 525—532.
- BEUTLER J. A. et VERGEER P. P. (1980): Amatoxins in American mushrooms: evaluation of the Meixner test. — *Mycologia*, 72: 1142—1149.
- MEIXNER A. (1979): Amatoxin-Nachweis in Pilzen. — *Z. Mykol.*, 45: 137—139.
- REPKE D. B., LESLIE D. T. et GUZMÁN G. (1977): Baecocystin in *Psilocybe*, *Conocybe* and *Panaeolus*. — *Lloydia*, 40: 566—578.
- SEEGER R. (1984): Zeitungspapier-test für Amanitine-falsch-positive Ergebnisse. — *Z. Mykol.*, 50: 353—355.
- STIJVE T. (1979): Bufotenine concentrations in carpophores of *Amanita citrina* (Schaeff.) S. F. Gray. — *Trav. Chim. Aliment. Hyg.*, 70: 246—253.
- WIELAND TH. (1978): Zeitungspapier-Test für Giftpilze. — *Umschau Wissensch. Tech.* 78: 611.
- WIELAND TH. (1980): The chemistry of *Amanita* toxins. Amatoxins: structure and RNA polymerase B inhibition. — In: Faulstich H., Kommerell B. et Wieland Th. (edit.): *Amanita Toxins and Poisoning*, p. 18—27, (International *Amanita* Symposium, Heidelberg, November 1—3, 1978), Gerhard Witzstrock, Baden-Baden, Köln, New York.
- WIELAND TH. (1986): Peptides of poisonous *Amanita* mushrooms. — Springer, New York.
- WIELAND TH., WIRTH L. et FISCHER E. (1949): Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes VII. Beta-Amanitin, eine dritte Komponente des Knollenblätterpilzgiftes. — *Liebigs Ann. Chem.*, 564: 152—160.

Adresa autora: RNDr. Jaroslav Klán, CSc., Ústav pro toxikologii a soudní chemii FVL UK, Kateřinská 32, 121 08 Praha 2.



## Toxicita muchomůrky zelené (*Amanita phalloides*) v octovém nálevu

### Toxicity of *Amanita phalloides* (Fr.) Link in a vinegar brine

Jaroslav Klán a Dana Baudišová

Byla sledována toxicita plodnic *Amanita phalloides* po zavaření do octového nálevu. Amanitiny byly zjišťovány ve vodném vývaru, v octovém nálevu a dužnině plodnic pomocí ligninového testu, tenkovrstvé a kapalinové chromatografie a biologických pokusů. Jednoznačně byla prokázána toxicita vodného vývaru, do kterého přešlo až 90 % toxinů, a nízká toxicita octového nálevu (5 mg amanitinů v 1 litru). V dužnině plodnic zbavené octového nálevu nebyly amanitiny prokázány.

The toxicity was studied of *Amanita phalloides* fruit bodies after preservation in a vinegar brine. Amanitins were determined in a water broth, in a vinegar brine and in fruit body trama by means of the lignin test, thin-layer and liquid chromatography and biological experiments. The tests proved unambiguously the toxicity of the water broth which retained up to 90 % of the toxins. The vinegar brine had a low toxicity (5 mg amanitins per 1 litre) while no amanitins were detected in the fruit body trama freed of the brine.

Nakládání hub do octa je nejen u nás, ale i v dalších evropských zemích velmi rozšířené. Kromě velkého počtu intoxikací václavkami naloženými v octě je popsáno jen velmi málo otrav dalšími druhy. Muchomůrkou zelenou (*Amanita phalloides*) naloženou v octě ani jinými druhy způsobujícími faloidní syndrom nebyly otravy dosud zaznamenány. Je málo pravděpodobné, že by muchomůrka zelená nebyla nikdy konzervována octem záměnou za jinou houbu. Vyvstává tedy otázka, jak dalece je muchomůrka zelená naložená v octě jedovatá?

Bezděk (1901) p. 101 píše „Nejjistější však profylaxe, tj. předejití otravě prostředkem záchranným, jest odstraniti jed z hub octem neb slanou vodou. Ze v octě močené houby pozbývají své jedovatosti, znali již staří Římané (Athanaeus, Plinius)“.

Zajímavé pokusy podnikl ve Francii r. 1851 F. Gérard. Jedl často se svou rodinou muchomůrku zelenou takto připravenou: 500 g plodnic rozkrájených na malé kousky vložil do 1 l vody se 3 lžícemi octa nebo 2 lžícemi kuchyňské soli. Po 2 h. houby vyndal a opláchl ve vodě. Pak houby v nové vodě 15–30 minut vařil, zase omyl, nechal okapat a připravil pokrm. Pokrm takto připravený pojedl před zdravotní radou (Conseil d'Hygiène et de la Solubrité de la Seine) bez následků poškození zdraví; se stejným výsledkem požil muchomůrku zelenou předem máčenou v octě (Bezděk 1901). Není však vyloučeno, že Gérard použil ke svým pokusům netoxickou *Amanita bulbosa* (= *A. citrina* (Schaeff.) Pers.) Traduje se též, že v některých oblastech Itálie, kde roste muchomůrka zelená hojně, lidé ji běžně požívali, avšak dříve ve vodě povařili a vodu slili.

Jak vyplývá z diskuse na mezinárodním sympoziu o toxinech v rodě *Amanita* (Faulstich et al. 1980) dosud není exaktně zodpovězena otázka, zda je muchomůrka zelená naložená v octě toxická, resp. zdali jsou amatoxiny v dužnině houby přítomny, či ne. Palyza a Kubička tvrdí, že ocet (kycelina octová) působí na toxiny destruktivně. Wieland se domnívá, že toxiny nejsou zničeny, ale jen vymyty do tekutiny (Faulstich et al. 1980).

Cílem práce bylo zjistit, zda plodnice *Amanita phalloides* naložené do octa běžnou konzervační technikou zůstávají jedovaté a mohou-li způsobit intoxikace člověka. Jaký je osud amatoxinů v muchomůrce zelené během zaváření do octového nálevu.

#### Materiál a metody

K pokusům byly použity v octě naložené plodnice *Amanita phalloides* (Fr.) Link sbírané v srpnu 1988, na lokalitě Medník u Píkovic, okr. Praha-západ, a plodnice naložené do octového nálevu v r. 1981, které pocházely z lokality Bohuliby u Jilového.

Postup: 3 g usušených plodnic byly vařeny ve 100 ml vodovodní vody 5–20 minut. Tekutina byla zfiltrována a houby přelity chladným octovým nálevem připraveným svařením z 45 ml 8% komerčního octa (pH 2,44), 135 ml vody a 7,5 g přípravku Dia Nova. Výsledné pH 2,88. Materiál byl přechováván v tmavých lahvích při laboratorní teplotě. K analýzám byly použity tyto vzorky:

1. voda (filtrát), ve kterém byly vařeny plodnice (= vývar), 2. octový nálev, do něhož byly naloženy plodnice, 3. plodnice vyjmuté z octového nálevu, opláchnuté ve vodě a usušené při 40 °C, 4. plodnice v octovém nálevu, zavařené v roce 1981, 5. octový nálev bez zavařené muchomůrky zelené sloužící jako kontrola.

K detekci amanitinů byly použity ligninový test, tenkovrstvá chromatografie (TLC), kapalinová chromatografie a biologické pokusy.

Ligninový test: Na novinový papír (Tvorba) bylo aplikováno 200  $\mu$ l octového nálevu nebo vývaru. Plodnice byly extrahovány metanolem (0,5 g sušiny třepáno 30 min. v 10 ml metanolu), 200  $\mu$ l extraktu aplikováno na noviny. Po vysušení byla na skvrny přikápnuta 16% HCl. Změna zabarvení skvrn byla odečítána po 5 minutách od aplikace HCl.

TLC: 60  $\mu$ l vzorků bylo aplikováno na folie Silufol. Na stanovení amanitinů v jednotlivých vzorcích byla použita rozpuštědlová soustava n-butanol-kyselina octová ledová — voda, v poměrech 4:1:1 (Benedict et al. 1966). Na doplňující stanovení amanitinů v nálevu byla použita dvojrozměrná chromatografie (nejprve 5 $\times$  opakované soustava chloroform-metanol- voda, 65:25:4, Palyza 1973, a jednou soustava n-butanol — kyselina octová ledová — voda, 4:1:1, Benedict et al. 1966). Na folie bylo aplikováno 25  $\mu$ l vzorku. Octový nálev byl přečištěn dvojnásobnou extrakcí v metanolu s dekantací a následnou extrakcí v n-propanolu. Po další dekantaci byl odparek znovu rozpuštěn v metanolu a chromatografován. Chromatografické folie byly po vysušení přestříkány 1% roztokem skořicového aldehydu v metanolu a vloženy do par HCl.

Nizkotlakou kapalinovou chromatografií do 3 MPa (Pharmacia) byl kvantitativně stanoven  $\alpha$  a  $\beta$ -amanitin v octovém nálevu.

Biologické pokusy: odpařené vzorky octového nálevu a vývaru a odpařené metanolové extrakty plodnic *Amanita phalloides* byly znovu rozpuštěny v destilované vodě (případně přefiltrovány) a intraperitoneálně aplikovány laboratorním potkanům (samci o hmotnosti 180 g kmene Wistar) a laboratorním albinotickým myším (samci o hmotnosti 40 g). Pokus se zvířaty probíhal 3 dny. U octového nálevu byl použit vzorek až pětinašobně zahuštěný, podle propočtů z výsledků kapalinové chromatografie. Laboratorním potkanům bylo aplikováno 2 ml roztoku, myším 0,5 ml. Jako negativní kontrola byl použit octový nálev bez zavařené houby (vzorek 5), odpařený a znovu rozpuštěný v destilované vodě.

#### V ý s l e d k y

Vývar (vzorek 1) vykazoval pozitivní reakci na amanitiny jak ligninovým testem (pro amanitiny zelenomodré zabarvení, Wieland et al. 1949), tak chromatograficky (TLC). Při aplikaci laboratorním zvířatům bylo dosaženo 100% mortality.

V octovém nálevu (vzorek 2) při stanovení amanitinů ligninovým testem bylo zabarvení skvrn slabší (asi 5 $\times$ ) než u vývaru. V přečištěném vzorku nálevu byly amanitiny pomocí TLC jednoznačně detegovány. Kapalinovou chromatografií bylo zjištěno minimálně 5 mg amanitinů v 1 l, z toho dvakrát

více  $\alpha$ - než  $\beta$ -amanitinu. Příslušně koncentrovaným nálevem byla jeho toxicita prokázána i na laboratorních myších. V období 8 měsíců nebylo prokázáno degradační působení octového nálevu (kyseliny octové) na amanitiny. Následné chromatografické stanovení amanitinů v octovém nálevu, v němž byla muchomůrka zelená sedm let, bylo negativní. Byly přítomny skvrny barevně shodné s amanitiny, avšak rozdílné svým retardačním faktorem  $R_f = 0,50$  ( $\alpha$ -amanitin  $R_f = 0,25$ ). Zřejmě se již jednalo o degradační produkty.

Extrakt z plodnic (vzorky 3 a 4) vyjmutých z octového nálevu analyzované chromatograficky (TLC) neobsahovaly žádné amanitiny. Rovněž ligninový test a aplikace laboratorním zvířatům byly negativní.

#### Diskuse

Z výsledků zjištěných chromatograficky a potvrzených biologickými pokusy vyplývá, že plodnice *Amanita phalloides* zavařené v octovém nálevu již nejsou tak vysoce toxické, jako původní houby. Toxiny přítomné v houbové tkáni vlivem technologických postupů přecházejí z 85–90 % do roztoku během varu (vývar), a to již po 5 minutách varu. Další část toxinů přejde do octového nálevu. Pokud je houbová tkáň po vyjmutí z nálevu propláchnuta vodou, koncentrace amanitinů v tkáni je pod hranicí detegovatelnosti metodou TLC. Letální dávka asi 7 mg toxinů pro člověka hmotnosti 70 kg je obsažena až v 1,5 kg naložených plodnic muchomůrky zelené, neboť při konzumaci hub naložených do octa je požíván vždy spolu s plodnicí i toxický nálev.

Otázka degradace toxinů kyselinou octovou v nálevu může přicházet v úvahu až po několikaletém působení. Světlo, zvláště jeho UV složka, amatoxiny prokazatelně degraduje, takže chromatograficky nejsou detegovatelné.

#### Literatura

- BENEDICT R. G., TYLER V. E. jrr., BRADY L. R. et WEBER L. J. (1966): Fermentative production of Amanita toxins by a strain of *Galerina marginata*. — *J. Bacteriology* 91(3): 1380—1381.
- BEZDĚK J. (1901): Houby jedlé a jim podobné jedovaté. — Praha.
- FAULSTICH H., KOMMERELL B. et WIELAND TH. (1980): Amanita toxins and poisoning. — International Amanita Symposium Heidelberg, November 1—3, 1978. — Verlag Gerhard Witzstrock, Baden-Baden, Köln, New York.
- PALYZA V. (1973): Uplatnění chromatogramu a enzymogramu při posuzování otrav muchomůrkou zelenou (*Amanita phalloides*). — Kandidátská disertační práce, Brno.
- WIELAND TH., WIRTH L. et FISCHER E. (1949): Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes. VII.  $\beta$ -Amanitin, eine dritte Komponente des Knollenblätterpilzgiftes. — *Liebigs Ann. Chem.* 564: 152—160.

Adresa autorů: Dr. Jaroslav Klán, CSc., Dr. Dana Baudišová, Ústav pro toxicologii a soudní chemii FVL UK, Kateřinská 32, 121 08 Praha 2.

## Type studies of polypores described by A. Pilát — III.

### Studie o typech chorošů popsaných A. Pilátem — III.

František Kotlaba and Zdeněk Pouzar

The paper lists 26 taxa of polypores newly described by A. Pilát, the type material of which is mostly preserved in herbarium PRM\*). Two new genera (*Pilatoporus* and *Rhodofomes*) and 5 new combinations are proposed.

Je pojednáno o 26 taxonech chorošů popsaných jako nové A. Pilátem, jejichž typový materiál je většinou uložen v herbářích PRM. Jsou popsány dva nové rody (*Pilatoporus* a *Rhodofomes*) a je navrženo pět nových kombinací.

**Caloporus cristatus f. simplex** Pilát, Beih. Bot. Centralbl. 48: 436, 1931.

Czechoslovakia, Bohemia, Zbiroh, leg. [et det.] A. Pilát; Vystrkov u Bohuslavic, leg. K. Kavina [det. A. Pilát].

None of the cited material could be found in PRM. According to the description this is evidently quite normal *Albatrellus cristatus* (Alb. et Schw.:Fr.) Kotl. et Pouz. which occasionally forms simple, non-confluent, centrally stipitate carpophores. It should not be considered as an independent taxon.

**Lenzites abietina f. resupinata** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 489, 1927.

Czechoslovakia, Bohemia, v dolech Příbramských [Příbram mines], (29. horizont) [29. level], [leg. et det. A. Pilát].

No material has been found in PRM.

**Lenzites sepiaria f. monstrosa** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 488, 1927.

Czechoslovakia, Bohemia, v Příbramských dolech, 29. horizont, nedaleko Vojtěšské šachty [Příbram mines, 29. level, near the Vojtěch vein], [leg. et det. A. Pilát].

No material has been found in PRM.

**Lenzites sepiaria f. resupinata** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 488, 1927.

Czechoslovakia, Bohemia, v Příbramských dolech, 11., 28. a 29. horizont [Příbram mines, 11., 28. and 29. level], [leg. et det. A. Pilát].

No material has been found in PRM.

**Leptoporus epileucinus** Pilát ex Pilát, Sborn. Nár. Mus. Praha 9 B: 103, 1953.

Holotype: USSR, ad truncos *Fagi [sylvaticae]* prope Kobylecká Polana, VII. 1929, leg. et det. A. Pilát, PRM 486790 (!).

Pilát when describing this species quoted three collections, but fortunately he designated as holotype (type) the collection from Kobylecká Polana (USSR), which represents an independent species. The collection from Berlin (*Fagus sylvatica*, 1930, leg. B. Hennig, det. A. Pilát, PRM 486789) is identical with *Aurantioporus fissilis* (Berk. et Curt.) H. Jahn = *Tyromyces fissilis* (Berk. et Curt.) Donk, and that from Karlík (Bohemia) (ad truncum putridum *Salicis* sp., VIII. 1924, leg. et det. A. Pilát, PRM 486788) represents *Tyromyces stipticus* (Pers.:Fr.) Kotl. et Pouz. = *Postia stiptica* (Pers.:Fr.) Jülich.

\*) For the introduction and the first part of this revision see Čes. Mykol. 42: 129—136, 1988; for the second part see Čes. Mykol. 43: 36—44, 1989.



The holotype from Kobylecká Polana is almost sterile but we were able to find some fertile areas in which the hymenium had produced spores which are narrowly cylindrical, thin-walled, hyaline, smooth, some slightly curved,  $6-7.5 \times 1.5-2 \mu\text{m}$  (our revision was made on 15. 6. 1989). Pilát, however, described and figured spores of a different shape and size for his *Leptoporus epileucinus*, viz.  $4-5 \times 3.5 \mu\text{m}$ . This is perhaps why nobody could recollect and identify it (Pilát probably observed yeasts or extraneous spores).

When we discovered the true spores of the holotype of *Leptoporus epileucinus*, we tried to identify this polypore from the literature, and soon came to the conclusion that it was *Fomitopsis durescens* (Overholts ex Lowe) Gilbertson et Ryvar den, a species known from ten states of USA (see Gilbertson et Ryvar den 1986). Fortunately in PRM there is what is probably a duplicate of the holotype (partly fertile) of *Polyporus durescens* Overholts 1941 (invalidly published): On *Fagus* log, West Elkton, Ohio, July 28, 1917, leg. L. O. et M. F. Overholts. Ex Pennsylvania State College Herbarium (PRM 807350), which fully agrees in macro- as well as microcharacters with *Leptoporus epileucinus* Pilát. However, Overholts' name is nomenclaturally more recent than that proposed by Pilát, viz. *Leptoporus epileucinus* Pilát ex Pilát 1953, whereas *Polyporus durescens* Overholts ex Lowe 1975 = *Fomitopsis durescens* (Overholts ex Lowe) Gilbertson et Ryvar den 1986.

This last classification of *Leptoporus epileucinus* in the genus *Fomitopsis* P. Karst. (sensu lato) could eventually be accepted, but as suggested already by Donk (1974), this genus in its modern circumscription is rather heterogeneous. We have studied this problem and reached the conclusion that the type species of the genus *Fomitopsis* P. Karst., viz. *F. pinicola* (Sw.:Fr.) P. Karst., exhibits a very significant microscope character in its thick-walled spores, whereas the other species classified in this genus have decidedly thin-walled spores. As we consider the thickness of spore-wall a character of high generic value, we are of the opinion that other species currently classified in *Fomitopsis* P. Karst. belong in fact to other genera. *Leptoporus epileucinus* Pilát ex Pilát = *Polyporus durescens* Overholts ex Lowe and allied species belong in an independent genus which we propose to name *Pilatoporus* to commemorate Dr. Albert Pilát (1903-1974), Czech mycologist, well-known in particular for his contribution to our knowledge of polypores.

#### *Pilatoporus* Kotlaba et Pouzar, gen. nov.

Carpomatibus annuis, sessilibus vel dimidiato-pileatis, late adnatis; trama vivo firme suberosa, sicco dura et rigida; superficie pilei glabra vel rugosa, simplici (sine cuti resinosa); hymenophoro tubulato, unistratoso, poris rotundatis, parvis; trama e hyphis trimiticis contexta; hyphis generativis ramificatis, tenuiter tunicatis, fibulatis; hyphis skeleticis cylindraceis, crasso-tunicatis, non ramificatis, inamyloideis neque dextrinoideis, acyanophilis; hyphis ligativis sparse ramificatis; sporis cylindraceis, hyalinis, laevibus, inamyloideis neque dextrinoideis, acyanophilis.

Typus generis: *Polyporus palustris* Berk. et Curt.

Carpophores annual, sessile or dimidiate, broadly adnate, tough fibrous-corky when fresh, drying hard and rigid, with pileus surface fibrous or rough, simple, without resinous layer, and with tubulate, non-stratified hymenophore; pores circular, small; hyphal system trimitic with generative hyphae clamped, thin-walled, with skeletal hyphae thick-walled, unramified, inamyloid, indextrinoid and acyanophilous, and with binding hyphae ramified; spores cylindrical, hyaline, thin-walled, smooth, inamyloid, indextrinoid, acyanophilous.



Species: *Pilatoporus palustris* (Berk. et Curt.) Kotlaba et Pouzar, comb. nov.; basionymum: *Polyporus palustris* Berkeley et Curtis, *Grevillea* 1: 51, 1871. — *Pilatoporus epileucinus* (Pilát ex Pilát) Kotlaba et Pouzar, comb. nov.; basionymum: *Leptoporus epileucinus* Pilát ex Pilát, *Sborn. Nár. Mus. Praha* 9B: 105, 1953.

Beside the two above named polypores some other species of the genus *Fomitopsis* P. Karst. (sensu lato) with white context may possibly belong to the genus *Pilatoporus* Kotl. et Pouz. But we abstain from combining the names because no specimens of these species are in our herbaria.

Very closely related to *Pilatoporus* Kotl. et Pouz. seems to be *Laricifomes* Kotl. et Pouz. which, however, has characteristically inflated (in part) skeletal hyphae, as it is well illustrated e. g. by Gilbertson et Ryvarden 1986 ("sclerids"). We are unable to classify *Leptoporus epileucinus* Pilát ex Pilát in the genus *Tyromyces* P. Karst. (sensu lato) as it has tough corky carpophores. This species does not belong also to the same genus as *Fomes roseus* (Alb. et Schw.:Fr.) Fr. because of its differently coloured context and pores as well as the absence of a crustaceous pileal surface (see *Trametes pribramensis*).

*Leptoporus uralensis* Pilát, *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 48: 11, 1932.

Holotype: USSR, Ural Mts., *Picea obovata*, 13. IX. 1930, leg. Chomutsky, 204 [det. A. Pilát], PRM 37776 (!).

Pilát when describing this species gave an incorrect spore size, viz.  $3-4 \times 0.8-1.5 \mu\text{m}$ ; this same spore size was repeated by Bondarcev (1953) and Stepanova-Kartavenko (1967). However, Muraškinskij (1939) was the first to indicate a more correct spore size, viz.  $4.3-7 \times 1.3-2.3 \mu\text{m}$ . According to our measurements on type material (made on 12. 10. 1962 and again 3. 4. and 13. 4. 1989) the spores measure  $4.8-6.3 \times 1.6-2.1 \mu\text{m}$ , mostly  $6 \times 2 \mu\text{m}$ . Pilát based his new species — in comparison with *Leptoporus amorphus* (Fr.:Fr.) Qué. — on the glabrous pileal surface, a different context structure, and larger pores which also lacked orange colour. These characters stand but the greatest difference is in the larger spore size (in contrast with *Leptoporus amorphus* = *Skeletocutis amorphus*).

*Leptoporus uralensis* Pilát is a good, independent species which belongs to the same genus as *L. amorphus* (Fr.:Fr.) Qué., viz. *Skeletocutis* Kotl. et Pouz., since it has the same hyphal structure (except of the encrusted hyphae in edges of the dissepiments which we failed to find). For this reason we propose *Skeletocutis uralensis* (Pilát) Kotlaba et Pouzar, comb. nov.; basionymum: *Leptoporus uralensis* Pilát, *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 48: 11, 1932. — This species seems to be rare as it has been recorded as far as we know only by Bondarcev (1953), Muraškinskij (1939) and Stepanova-Kartavenko (1967).

*Phellinus ferrugineofuscus* var. *narymicus* Pilát, *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 51: 370, 1936.

Holotype: USSR, Sibiria, distr. Narym, ad lign. nud. putr. (*Abies sibirica*), X. 1933 [leg. B. I.] Krawtzev, 3031 [det. A. Pilát] (!).

Our study of the holotype proved that it is normal *Phellinus ferrugineofuscus* (P. Karst.) Bourd., a specimen with somewhat larger, slightly labyrinthic and faintly grayish pruinose pores — characters which occur in this species. This variety cannot be maintained at varietal (or other) level as noted already

by Muraškinskij (1939) and by the first of us (Kotlaba 1965). The holotype was revised by F. K. on 28. 5. 1964 and by both of us recently (20. 4. 1989).

*Poria calcea* f. *bullosa* subf. *stratosa* Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 48: 180, 1932.

Lectotype: Turkey, in silvis densis coniferis montium Ilgaz-Dagh in alt. 1600–2000 m, Turcia asiatica, vilajetum [distr.] Çankiri [Çankiri], VII.–VIII. 1931, *Abies bornmülleriana*, leg. et det. A. Pilát, Iter orientale no. 413, PRM 886944 (!).

The lectotype represents the distinct thick form of a polypore commonly known as *Poria xantha* f. *pachymeres* John Erikss. The correct species name is now *Amyloporiella flava* (P. Karst.) David et Torti. According to Donk (1974) the name of the form (*pachymeres*) is not validly published. For this reason we propose for this well founded taxon a new combination *Amyloporiella flava* f. *stratosa* (Pilát) Kotlaba et Pouzar, comb. nov., basionymum: *Poria calcea* subf. *stratosa* Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 48: 180, 1932. — We revised the type material on 2. 2. 1989 but the same conclusion was previously reached by S. Domański during his revision of 9. 11. 1962 (see also Domański 1964).

*Poria conwayana* Pilát, Stud. Bot. Čech. 3: 3, 1940.

Holotype: USA, North Conway, N. H., dead *Tsuga canadensis*, May 12, 1918, coll. L. O. Overholts, 5058 [det. A. Pilát], PRM 191013 (!).

Domański (1964) was the first to identify this fungus with *Poria crustulina* Bres., now *Diplomitoporus crustulinus* (Bres.) Domań. We fully confirm this identification following our revision made on 23. 3. 1989.

*Poria gilvescens* var. *carneo-brunnea* Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 51: 377, 1936.

Holotype: USSR, Sibiria, Wasjuganje, ad codicem *Populi tremulae*, 26. IX. 1934, leg. [B. I.] Krawtzew, W 53, det. A. Pilát, PRM 34303 (!).

This is dark coloured but otherwise typical *Ceriporiopsis resinascens* (Romell) Domań. which cannot be maintained as an independent taxon (holotype revised by us on 16. 2. 1989).

*Poria litschaueri* Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 48: 41, 1932.

Holotype: USSR, Sibiria, distr. Tomsk, ad fl. Tschulym, *Populus tremula*, IX. 1931, leg. [B. I.] Krawtzew, b. 25 [det. A. Pilát], PRM 181715 (!).

The holotype is certainly identical with *Rigidoporus corticola* (Fr.) Pouz. = *Oxyporus corticola* (Fr.) Ryv. (revised by us on 16. 2. 1989) as supposed already following the revision of the type material in PRM J. L. Lowe on 1. 1961 ("Very similar to *Poria corticola*") and by S. Domański on 21. 5. 1964 ("*Chaetoporus corticola* vel *Poria corticola*").

*Rigidoporus corticola* (Fr.) Pouz. differs from the similar and closely related *R. ravidus* (Fr.) Pouz. = *Oxyporus ravidus* (Fr.) Ryv. by its entirely resupinate carpophores (it is unable to form pilei even if it is in a suitable position), whereas *R. ravidus* forms pilei quite regularly. Nevertheless, totally resupinate carpophores of the last species also exist and then are very difficult to identify. The late Dr. H. Jahn (Detmold-Heiligenkirchen, FRG) informed us many years ago (in a letter of December 8, 1973) that there are differences in the shape of spores of these two species: in *R. corticola* they are shortly ellipsoid, whereas in *R. ravidus* they are ovoid, i. e. attenuated towards the distal end

and slightly broadened to the basal part. We checked these characters on our rich material and can confirm it — with the reservation that in *R. corticola* the majority of spores are regularly ellipsoid, but in the same preparation may be found some few spores which are somewhat ovoid. On the other hand, in *R. ravidus* the spores are invariably attenuated at the distal end (both species are, unfortunately, often sterile — except in the late spring and early summer). The same criterion has been used in the identification of *Poria pearsonii*. — In Czechoslovakia, *R. corticola* is known to occur on broad-leaved trees (especially on *Populus* sp. div.) as well as on conifers (on *Abies alba* and *Picea abies*, especially in Carpathians).

***Poria medulla-panis* var. *multistratosa*** Pilát, Atlas hub evropských 3: 468, 1941 (invalidly published due to the lack of a Latin diagnosis — hence no lectotype is designated).

USSR, Carpatorossia, in silvis mixtis virgineis... in valle rivi Berlebás prope vicum Trebušany, alt. 800–1000 m s. m., *Picea excelsa*, VIII. 1937, leg. et det. A. Pilát, PRM 488428 (!); USSR, Carpatorossia, in silvis mixtis virgineis... in valle rivi Bílý Potok prope vicum Trebušany, *Abies alba*, 4.–11. X. 1935, leg. et det. A. Pilát, PRM 23387 (!).

According to our revision (made on 21. 11. 1989) these are stratified fruit-bodies of *Perenniporia subacida* (Peck) Donk, a rather rare polypore in Europe. Domański (1964) reached a similar conclusion and considered it to be a variety or a form of *Poria subacida*, but the distinguishing characters given by him are within the range of variation of this species. There exists a third collection of *R. medulla-panis* var. *multistratosa* Pilát (USSR, Carpatorossia, in silvis mixtis virgineis ad jugum montis Menčul inter rivos Kuzy et Bredecel prope vicum Trebušany, alt. 800–1200 m, *Abies alba*, VIII. 1934, leg. et det. A. Pilát, PRM 809621) which is, however, badly preserved (without hymenium and lacking a dextrinoid reaction in both spores and hyphae) and hence indeterminate.

***Poria pearsonii*** Pilát, Trans. Brit. Mycol. Soc. 19: 196, 1935.

Lectotype: USSR, in silvis ad rivum Kuzy supra Velký Bočkov, Carpatorossiae, in alt. 350–1000 m, VII. 1933, *Abies alba*, leg. et det. A. Pilát, PRM 498205 (!).

This is *Rigidoporus corticola* (Fr.) Pouz. = *Oxyporus corticola* (Fr.) Ryv. (revised by us on 16. 2. 1989); for characters of this species see commentary under *Poria litschaueri*.

***Poria pseudogilvoscens*** Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 51: 378, 1936.

Holotype: USSR, Sibiria, Wasjuganje, *Betula verrucosa*, X. 1934, leg. [B. I.] Krawtzev, W 14, det. A. Pilát, PRM 498233 (!).

Domański (1964) on the basis of his revision of the type (made on 14. 11. 1962) proposed the following transfer: *Ceriporiopsis resinascens* var. *pseudogilvoscens* (Pilát) Domań. T. Niemelä after his revision (made in 1985) concluded that it represents *Poria resinascens* — an opinion with which we fully agree (our revision was made on 8. 6. 1989); this species is currently named *Ceriporiopsis resinascens* (Romell) Domań. The paratype from USSR, Carpatorossia, Německá Mokrá—Bradula, distr. Tiačevo, VII. 1932, *Alnus incana*, leg. et det. A. Pilát (PRM 498232), is the same species.

***Poria pulvinascens* Pilát ex Pilát, Sborn. Nár. Mus. Praha 9B: 106, 1953.**

Holotype: Sweden, an morschem Zaunholz (*Salix*), Upland: par. Bondkyrka, "Vårdsätra skog" unweit Upsala, 16. X. 1936, leg. Seth Lundell, Flora Suecica 1451 [det. A. Pilát], PRM 756485 (!).

Domański (1964) was the first to publish the result of a revision of the holotype and identified *Poria pulvinascens* Pilát ex Pilát with *P. crustulina* Bres. Later Ryvarden (1970) disagreed with this opinion and identified it with *P. aneirina* (Sommerf.) Cooke. According to our opinion neither Domański's nor Ryvarden's identification can be maintained because the microscopical characters of the type material (revised by us on 13. 4. and 20. 7. 1989) do not agree with either species.

The third person who studied Pilát's species was Niemelä (1985). He came to the conclusion that *Poria pulvinascens* is identical with *Antrodia plicata* Niemelä 1978 and proposed the new combination *Antrodia pulvinascens* (Pilát) Niemelä. According to our study of a very small fertile fragment of the type (the greater part of the specimen is sterile with completely collapsed hymenium), the spores are  $4-5.5 \times 1.3-2.2 \mu\text{m}$ . It may well be that the spores of *Antrodia pulvinascens* Pilát ex Pilát observed by us are not fully mature (they were mostly attached to basidia) since they are shorter and narrower than is usual for the spores of *Antrodia plicata* Niemelä:  $5.3-7(-8) \times 2-3 \mu\text{m}$ ; but we have also seen specimens in which fully mature spores do not exceed  $6.3 \mu\text{m}$  in length. We accept this explanation and the proposal by Niemelä that *Poria pulvinascens* Pilát ex Pilát and *Antrodia plicata* Niemelä should be considered identical. The correct name for the species in question is *Antrodia pulvinascens* (Pilát) Niemelä.

***Poria subvermispora* Pilát.**

When we wrote our last paper (Kotlaba et Pouzar 1989) we were unaware of Niemelä's publication (Niemelä 1985) on this species. We have now restudied the holotype and conclude that *Poria subvermispora* Pilát would possibly be better classified in the genus *Gelatoporia* Niemelä as it possesses the gelatinous character of the tube trama, in spite of the fact that the hyphae of the tube trama are slightly amyloid and that there is no gelatinous layer between tubes and context, which is present in the type species of the genus *Gelatoporia* Niemelä, viz. *G. pannocincta* (Romell) Niemelä.

***Poria wasjuganica* Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 51: 382, 1936.**

Lectotype: USSR, Wasjuganje, ad ligna *Populi tremulae*, 27. IX. 1934, leg. [B. I.] Krawtzew, W 182, det. A. Pilát, PRM 181718 (!).

The type material was revised in 1961 by J. L. Lowe ("... seems to be the same as *Poria aneirina*...") and in 1985 by T. Niemelä who identified it with *Polyporus aneirinus* Sommerf. We can fully confirm this opinion on the basis of our recent revision of the lectotype made on 29. 6. 1989 — the typical spores for this polypore have been found measuring  $5.2-6.2 \times 4.2-5 \mu\text{m}$ . The species is now frequently cited as *Ceriporiopsis aneirina* (Sommerf.) Domań.

***Trametes odorata* f. *globosa* Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 483, 1927.**

Lectotype: Czechoslovakia, Bohemia, Příbram [mines], 28. horizont [28. level], 890 m, *Picea [abies]*, VII. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 807777 (!).

This is a monstrous, sterile form without hymenophore (caused by extreme



conditions in a deep mine) of the common *Osmoporus odoratus* (Wulf.:Fr.) Sing. = *Gloeophyllum odoratum* (Wulf.:Fr.) Imazeki without any taxonomic value (lectotype revised by us on 14. 12. 1989).

***Trametes odorata* f. *irpiciformis*** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 482, 1927.

Lectotype: Czechoslovakia, Bohemia, Příbram [mines], Anna [vein], 950 m, VII. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 807770 (!).

Globose or ellipsoid, irpicoid, densely crowded sterile carpophores. This is a monstrous form (caused by extreme conditions in a deep mine) of the common *Osmoporus odoratus* (Wulf.:Fr.) Sing. = *Gloeophyllum odoratum* (Wulf.:Fr.) Imazeki, a form without any taxonomic value (lectotype revised by us on 14. 12. 1989).

***Trametes odorata* f. *megalopora*** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 482, 1927.

Lectotype: Czechoslovakia, Bohemia, *Picea [abies]*, Příbram [mines], 28. a 29. horizont [28. and 29. level], Vojtěšská šachta [Vojtěch vein], 888–945 m, VI. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 807759 (!).

At the description, there appears the name only f. *megalopora* (the same in English and German text) but in the commentary to the f. *polymorpha* in the Czech text there appears another variant of this name, viz. f. *makropora* (sic!, with -k-); the same variant also appears on the herbarium label of the type. We suppose that the last – “*makropora*” – is only a slip of the pen, and not an intentional variant. – The lectotype of *Trametes odorata* f. *megalopora* Pilát is a monstrous, large-pored *Osmoporus odoratus* (Wulf.:Fr.) Sing. = *Gloeophyllum odoratum* (Wulf.:Fr.) Imazeki from mines, and therefore without any taxonomic value (revised by us on 27. 11. 1989).

***Trametes odorata* var. *Piceae Schrenkianae*** Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 51: 361, 1936.

Holotype: USSR, Kazakstan, distr. Lepsinsk, ad truncum *Piceae Schrenkianae*, 16. VII. 1934, leg. [P. P.] Poljakov W 1a, det. A. Pilát, PRM 628128 (!).

In our very early paper (Kotlaba et Pouzar 1957) and following the revision of Z. P. made on 23. 9. 1966 (and an older revision), the taxon was thought to represent *Osmoporus protractus* (Fr.) Bond., or was considered to be better referred to the latter at subspecific rank as *O. protractus* ssp. *piceae-schrenkianae*. According to the revision of O. Fidalgo (made in 1967) it is, however, “not specifically distinct from *Gloeophyllum sepiarium*, not *Trametes odorata* or *T. protracta*” (see Fidalgo 1974). Following our very recent revision (made on 21. 12. 1989) we cannot confirm Fidalgo’s identification as it is in fact *Gloeophyllum subferrugineum* (Berk.) Bond. et Sing., a polypore widely distributed in some parts of Asia, especially in the Himalayas. *Trametes odorata* var. *piceae-schrenkianae* Pilát is neither *Gloeophyllum sepiarium* nor *Osmoporus odoratus*. In the mature hymenium of the holotype there are no doubt slightly thick-walled, rusty brown cystidial elements which are present in *Gloeophyllum subferrugineum* as well as in *G. sepiarium*, but lacking in *Osmoporus odoratus*. On the other hand the pileus surface of the holotype is velutinous to glabrous and not strigose (an important character of *G. sepiarium*) and the spores are somewhat shorter than in *G. sepiarium* (see Ryvarden et Johansen 1980) – we measured 8–9(–10) × 2.5–3.2 μm in the holotype studied (compare Fidalgo 1974, p. 49, and Švarecman 1964, p. 368). At the same time it ap-



pears that the polypore cited by Švarcman (1964) from Kazakhstan (USSR) as *Anisomyces odoratus* var. *piceae-schrenkianae* (Pilát) Pilát is in reality also *Gloeophyllum subferrugineum* (Berk.) Bond. et Sing.

*Trametes odorata* f. *ptychogastriformis* Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 483, 1927.

Lectotype: Czechoslovakia, Bohemia, Příbramské doly [Příbram mines], 30. horizont Vojtěch [30. level, Vojtěch vein], IX. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 807775 (!).

Fruitbodies appanate to subglobose or pulvinate, very soft, without tubes or other hymenophoral structures, formed of a loose context with encrusted skeletal hyphae only. This is a monstrosity of an undeterminable fungus caused by development in deep mines (revised by us on 27. 11. 1989).

*Trametes pribramensis* Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 484, 1927 (ut *T. pribramensis*).

Lectotype: Czechoslovakia, Bohemia, Příbram, in minis, 30. Vojtěšská [30. level, Vojtěch vein], VII. 1926, leg. Placatka, det. A. Pilát, PRM 806044 (!); syntype: *ibid.*, 22. horizont [27. level], Příbramské doly [Příbram mines], VII. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 806043 (!).

The specimens cited clearly belong to the species known as *Fomitopsis rosea* (Alb. et Schw.:Fr.) P. Karst. This was already suggested by Pilát (1936–42) who considered it as a mere form, viz. *Fomes roseus* f. *pribramensis* (Pilát) Pilát. However our experience of the variation of *F. roseus* leads us to conclude that it is not even worthy of recognition as a form and we include it as a straightforward synonym of this species (we revised the lectotype and syntype on 15. 6. 1989). — As mentioned in the discussion of *Leptoporus epileucinus*, the genus *Fomitopsis* P. Karst. is heterogeneous (with the type *F. pinicola* having thick-walled spores) and in our opinion *Polyporus roseus* (Alb. et Schw.): Fr. belongs in a hitherto undescribed genus, which we propose to name *Rhodofomes*.

#### *Rhodofomes* Kotlaba et Pouzar, gen. nov.

Carposomatibus perennibus, sessilibus, dimidiato-pileatis vel semiresupinatis, late adnatis, superficie resinoso-crustosa; trama dura, rosea; hymenophoro tubulato, multistratoso, poris rotundatis, parvis; trama e hyphis trimiticis contexta; hyphis generativis tenuiter tunicatis, ramificatis, fibulatis, hyalinis; hyphis skeleticis rectis, crasso-tunicatis, ramificatis; hyphis ligativis sparsis, crasso-tunicatis, paulum ramificatis, hyalinis; sporis ellipsoideis, pariete tenui, glabra, hyalina, inamyloidea neque dextrinoidea, acyanophila.

Typus generis: *Polyporus roseus* (Alb. et Schw.) : Fr.

Carpophores perennial, sessile, dimidiate or semiresupinate, broadly adnate, convex, tough, with crustose surface, context pinkish-rose, with tubulate stratified hymenophore, pores circular, small; hyphal system trimitic with hyaline thin-walled generative hyphae, which are ramified and clamped; skeletal hyphae unramified, straight, thick-walled, and ligative hyphae (binding hyphae) scanty, hyaline, thick-walled, sparsely ramified; spores ellipsoid, thick-walled, hyaline, smooth, inamyloid, indextrinoid and acyanophilous.

Species: *Rhodofomes roseus* (Alb. et Schw.: Fr.) Kotlaba et Pouzar, comb. nov.

nov.; basionymum: *Boletus roseus* Albertini et Schweinitz, Consp. fung. Lusatiae super. agro Nisk. p. 251, 1805.

The classification of other rose coloured *Fomes* species (esp. those from tropics) should be reconsidered, although it seems improbable that all will be found to belong in *Rhodofomes*.

***Trametes serialis* f. *corallopoda*** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 480, 1927.

Holotype: Czechoslovakia, Bohemia, Příbramské doly [Příbram mines], 29. horizont Vojtěch [29. level, Vojtěch vein], VIII. 1926, leg. et det. A. Pilát, PRM 811417 (!).

Sterile lumpy carpophores from mines without hymenophore of what is evidently *Trametes serialis* (Fr.) Fr. = *Antrodia serialis* (Fr.) Donk as revised by F. K. on 2. 7. 1974 (and by both of us on 21. 12. 1989).

***Trametes serialis* f. *tuberosa*** Pilát, Sborn. Čs. Akad. Zeměd. 2: 480, 1927.

Czechoslovakia, Bohemia, v Příbramských dolech [Příbram mines], 19. a 29. horizont nedaleko Vojtěšské šachty [19. and 29. level, near the Vojtěch vein], [1926, leg. et det. A. Pilát].

No material has been found in PRM.

***Xanthochrous pini* var. *abietis* f. *micropora*** Pilát, Bull. Soc. Mycol. Fr. 48: 27, 1932.

Holotype: USSR, Sibiria, distr. Tara, *Abies sibirica*, VI. 1929 [by Pilát erroneously published as IX. 1929], [leg. B. I.] Krawtzev 232 [det. A. Pilát], PRM 808588 (!).

This is sterile but typical *Phellinus viticola* (Schw.) Donk = *P. isabellinus* (Fr.) Bourd. et Galz. with long, subulate setae — according to the revision of the present authors (on 20. 4. 1989) and as previously stated by A. Černý in 1985 following his revision of this same type material (see Černý 1985).

#### References

- BONDARCEV A. S. (1953): Trutovye griby evropejskoj časti SSSR i Kavkaza. — 1106 p., Moskva et Leningrad.
- ČERNÝ A. (1985): Taxonomic study in the *Phellinus pini*-complex. — Čes. Mykol., Praha, 39: 71—84, tab. 6—11.
- DOMAŇSKI S. (1964): Révision de certaines espèces de champignons de la famille Polyporaceae. — Acta Soc. Bot. Polon., Warszawa, 33: 167—178.
- DONK A. M. (1974): Check list of European polypores. — 469 p., Amsterdam et London.
- FIDALGO O. (1974): *Osmoporus odoratus* and its European varieties. — Rickia, São Paulo, 6: 27—61.
- GILBERTSON R. L. et RYVARDEN L. (1986): North American polypores 1. — P. 1—433, Oslo.
- KOTLABA F. (1965): Boreální ohňovec rezavohnědý — *Phellinus ferrugineofuscus* (P. Karst.) Bourd. — nalezen v Československu. — Čes. Mykol., Praha, 19: 21—30, tab. 1—2.
- KOTLABA F. et POUZAR Z. (1957): Poznámky k třídění evropských chorošů. — Čes. Mykol., Praha, 11: 152—170.
- KOTLABA F. et POUZAR Z. (1989): Type studies of polypores described by A. Pilát — II. — Čes. Mykol., Praha, 43: 36—44.
- MURAŠKINSKIJ K. E. (1939): Gorno-taežnye trutoviki Sibiri. — Tr. Omsk. Sel'-choz. Inst. 17: 75—108.
- NIEMELÄ T. (1985): On Fennoscandian polypores 9. *Gelatoporia* n. gen. and *Tyromyces canadensis*, plus notes on *Skeletocutis* and *Antrodia*. — Karstenia, Helsinki, 25: 21—40.

KOTLABA et POUZAR: TYPE STUDIES OF POLYPORES III.

- PILÁT A. (1936—42): Polyporaceae — Houby chorošovitě. — In: Atlas hub evropských 3: 1—624, tab. 1—374, Praha.
- RYVARDEN L. (1970): New or interesting records of Norwegian polypores II. — *Nytt Mag. Bot.*, Oslo, 17: 163—168.
- STEPANOVA-KARTAVENKO N. T. (1967): Afilloforovye griby Urala. — 294 p., Sverdlovsk.
- SVARCMAN S. R. (1964): Geterobazidial'nye (Auriculariales, Tremellales, Dacryomycetales) i avtobazidial'nye (Exobasidiales, Aphylophorales) griby. — In: Flora sporovych rastenij Kazachstana 4: 1—715, Alma-Ata.

Addresses of the authors: RNDr. František Kotlaba, CSc., Botanical Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, 252 43 Průhonice, and Zdeněk Pouzar, CSc., Mycological Department of the National Museum, Václavské nám. č. 68, 115 79 Praha 1, Czechoslovakia.

## *Antrodiella citrinella* — nový choroš pro ČSFR

### *Antrodiella citrinella* — a new polypore for Czechoslovakia

Josef Vlasák

Nový choroš pro Československo, *Antrodiella citrinella* Niemelä et Ryvarden (1983), byl nalezen v Československu na dvou lokalitách, a to v pralesních rezervacích na Boubíně a na Pořaně nad Detvou. Je to drobný, ale velmi význačný druh, nápadný citrónově žlutou barvou pórů a téměř kulovitými výtrusy. Na obou lokalitách byl opakovaně sbírán na ležících kmenech smrků a jedlí, silně rozložených troudnatcem pásováním (*Fomitopsis pinicola*). Dá se předpokládat, že se tento druh vyskytuje v ČSFR i na dalších podobných lokalitách, t. j. v horských smrkových a bukojedlových pralesích.

A new polypore species for Czechoslovakia, *Antrodiella citrinella* Niemelä et Ryvarden (1983) was found in two localities — Boubín and Pořana mountain virgin forests. It is a small but very conspicuous species with lemon-yellow pores and subglobose spores. On both localities it was collected repeatedly on fallen trunks of *Picea abies* and *Abies alba* fairly rotten by polypore *Fomitopsis pinicola*. The species could be probably found in other similar localities in ČSFR, too.

V roce 1983 jsem našel ve smrkovém pralesi na Pořaně u Detvy na velmi ztrouchnivělém, rozpadajícím se smrku drobný, nápadně citrónově žlutý choroš s téměř kulovitými výtrusy, který se výrazně odlišoval od všech popsanych druhů. Až po několika letech, když už jsem znal tento význačný druh ještě z dalšího místa na Pořaně a dále i z Boubínského pralesa, jsem získal od pana Z. Pouzara z Národního musea v Praze článek, popisující nový druh *Antrodiella citrinella* Niemelä et Ryvarden, který přesně odpovídal mým nálezům (Niemelä et Ryvarden 1983).

#### Stručný popis nalezených plodnic

*Antrodiella citrinella* tvoří jednoleté, drobné plodnice o rozměrech 2–10 × 1–4 cm, které jsou z větší části po substrátu rozlité; pouze na horním okraji bývají vyvinuty drobné kloboučky, široké 0,2–1 (–2) cm, s okrajem vzdáleným od substrátu jen 1–3 mm, výjimečně až 10 mm. Plodnice jsou na pórech nápadně citrónově žluté, na povrchu kloboučků a na sterilním okraji jen bledě nažloutlé. Rourky jsou 1–2 mm dlouhé, póry 3–4 mm. Sterilní okraj je asi 1 mm široký a vždy dobře vyvinutý, subikulum a trama kloboučků jsou 0,5–1 mm tlusté. Na starších plodnicích se občas tvoří fialově hnědé skvrny.

Hyfový systém je dimitický. Generativní hyfy jsou 2,5–4  $\mu$ m široké, s přezkami; skeletové hyfy zcela převládají a jsou tlustostěnné, ale vždy se zřetelným lumen, velmi rozmanité šířky (2–5  $\mu$ m). Užší skeletové hyfy jsou velmi křivolaké a často i větvené.

Basidie jsou kyjovité, se čtyřmi sterigmaty; cystidy žádné. Výtrusy jsou téměř kulovité, ale s nápadným poutkem, 3–3,4 × 2,2–2,6  $\mu$ m, tenkostěnné, hladké, neamyloidní.

Choroš způsobuje bílou (delignifikační) hnilobu dřeva velmi zetlelých smrků a jedlí.

## Rozšíření a ekologie

Nový druh byl popsán na základě nálezů z Norska, Finska, Polska a Jugoslávie — celkem z pěti lokalit, vesměs z chráněných horských pralesů s převahou smrku. Jeden nález je na jedli, ostatní na smrcích. Československé lokality jsou stejného charakteru: Pořana nad Detvou 1300 m n. m., Boubínský prales 1000 m n. m. Pět mých nálezů je ze smrku — Pořana 5. X. 1983 a 23. IX. 1987; Boubín 22. XI. 1987 a 22. X. 1988 (dva nálezy); dva z jedle — Boubín 14. X. 1989 a 26. X. 1989.

Nálezy z Československa potvrzují úzký vztah této houby k troudnatci pásovanému — *Fomitopsis pinicola* (Sw.:Fr.) P. Karst., na který upozorňují autoři původního popisu. Všechny nálezy jsou z ležících kmenů napadených tímto hojným chorošem a silně zetlelých; u dvou nálezů pokrývá *Antrodiella citrinella* přímo jeho mrtvé plodnice. Zřejmě tedy roste pouze na dřevě rozloženém hnědou hnilobou, vyvolanou druhem *Fomitopsis pinicola*. Plodnice *Antrodiella citrinella* se objevují až po odumření plodnic troudnatce pásovaného, když už je kmen většinou porostlý mechem a začíná se rozpadat. Pouze u dvou nálezů mimořádně velkých plodnic *Antrodiella citrinella* byla ve dřevě zřetelná její bílá hniloba, která jinak bývá maskována hnědou barvou zetlelého dřeva.

Právě bílá hniloba je charakteristická pro celý rod *Antrodiella* Ryv. et Johans. a spolu s typickými nerovnými skeletovými hyfami a malými tenkostěnnými výtrusy jej odlišuje od velkého rodu *Antrodia* P. Karst. (Ryvarden et Johansen 1980). Další druhy vyskytující se u nás jsou *Antrodiella hoehnelii* (Bres. in Höhn.) Niemelä, *A. semisupina* (Berk. et Curt.) Ryv. et Johans. a *A. romellii* (Donk) Niemälä (Kotlaba 1984, ut *Trametes hoehnelii*, *Tyromyces semisupinus* a *Poria romellii*); zvláště poslední dva druhy jsou *A. citrinella* někdy dost podobné tvarem a velikostí plodnic. *A. citrinella* se ale vždy snadno odliší svou citrónově žlutou barvou, růstem na silně zetlelých kmenech smrku a jedle, o něco většími póry a kulovitými výtrusy. Z dosavadních, kupodivu četných nálezů se dá předpokládat, že u nás nebude v zachovalejších horských lesích příliš vzácná. Je to sice houba velmi charakteristická, ale drobná a proto se snadno přehlédne, zvláště na kmenech porostlých mechem.

## Literatura

- KOTLABA F. (1984): Zeměpisné rozšíření a ekologie chorošů v Československu. — 194 p., Academia, Praha.  
 NIEMELÄ T. et RYVARDEN L. (1983): *Antrodiella citrinella*: a new polypore species. — *Karstenia*, Helsinki, 23: 26—30.  
 RYVARDEN L. et JOHANSEN I. (1980): A preliminary polypore flora of East Africa. — 636 p., Oslo.

Adresa autora: RNDr. Josef Vlasák, Leninova 120, 373 41 Hluboká nad Vltavou.



## **Sagenomella bohémica Fassatiová et Pěčková sp. n. (Moniliales)**

*Olga Fassatiová and Milena Pěčková*

A new species *Sagenomella bohémica* from the *Moniliales* order from peloids for balneological purposes at Františkovy Lázně (Franzensbad, West Bohemia) was described.

Je popsán nový druh *Sagenomella bohémica* z řádu *Moniliales*, který byl izolován z peloidů pro lázeňskou léčbu ve Františkových Lázních (Západní Čechy).

In detailed study of micromycetes isolated from Bohemian peloids for balneological purposes (Pěčková et Fassatiová, 1989) a new species of the *Sagenomella* W. Gams genus was twice isolated.

### ***Sagenomella bohémica* Fassatiová et Pěčková sp. n.**

Coloniae in agar maltoso post 10 dies 4 cm in diam., prius humillimae et sparsae, pallide fuscae, posterius cinnamomeae, in zonis concentricis accrescentes. Centrum coloniae tomentosum, posterius cum hyphis porphyreis in funiculos tenues conjunctis vel saepe etiam acervos parvos aurantiacos extra agarum formantibus. Hyphae prius hyalinae 1,5–2  $\mu\text{m}$  diam., posterius coloratae, 2–3  $\mu\text{m}$  latae. Zona marginalis post 21 usque 28 dies pulverulenta cum conidiis glaucis. Coloniae inferior porphyreae cum pigmento purpureo vel porphyreo in agar diffundente. Conidiophora plerumque pluries ramosa cum metulis 10–12 (–20)  $\times$  2,4–2,7  $\mu\text{m}$  magnis verticillis phialidarum ferentibus. Phialides 2–5 in verticillo parallelae vel paululum divergentes, obclavatae cum collo longo collario distincto instructo. Phialides 13–25 (–30)  $\times$  2,5–3  $\mu\text{m}$  magnae, collum 3,5–5  $\mu\text{m}$  longum apice attenuatum (usque 1,7  $\mu\text{m}$  diam.). Conidia 7–9  $\times$  2,6–3  $\mu\text{m}$  magna in catenulis longis cohaerentibus, fusiformia cum connectivis distinctis, integumentum cellulare eorum inhaerens et intra cum guttulis olei.

Culturae holotypi CCF 2330 et paratypi CCF 2396 in collectione culturarum fungorum cathedrae botanicae Universitatis Carolinae pragensis depositae e peloidis balnearum Františkovy Lázně (Bohemia occidentalis) isolatae.

### ***Sagenomella bohémica* Fassatiová et Pěčková sp. n.**

After 10 days' cultivation on malt-extract agar the colonies reach 4 cm diam., are very low and thin, the mycelium is light brown, later cinnamon brown. The hyphae are first hyaline, of 1,5–2  $\mu\text{m}$  diam. The colonies grow in concentric zones. The center of the colony is later tomentose, forming pink brown to red brown hyphae joining into narrow funicles and often also small orange acervuli of sterile mycelium. The marginal zone is formed by cinnamon coloured, fine, low mycelium; 3 to 4 weeks later a heavy sporulating in form of 1–2 cm wide powdery band formed by grey green conidial coating. Reverse is first red brown with the pigment diffusing into the surrounding agar conspicuously coloring it.

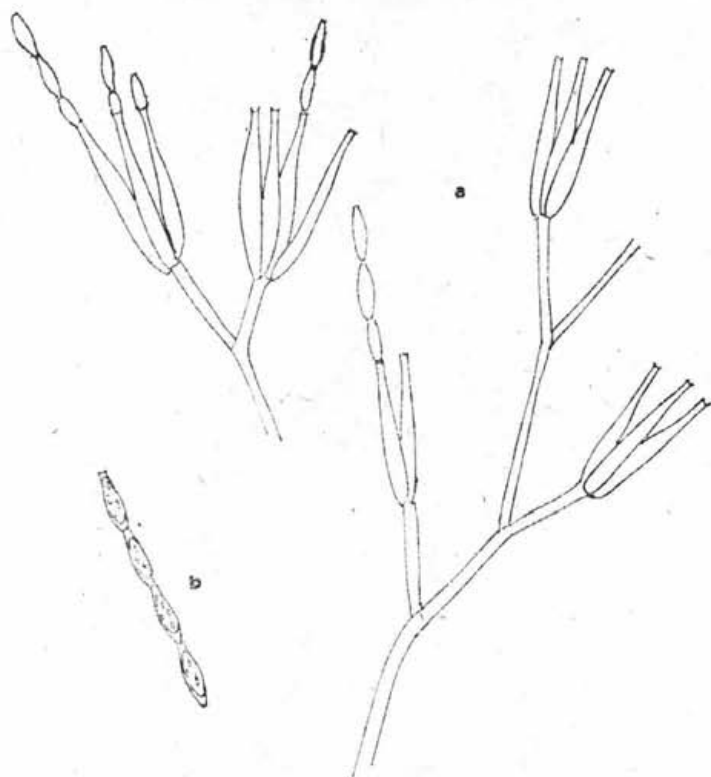
The conidiophores are formed by verticils of phialides growing on metulae. The verticils consist of 2–5 phialides growing parallelly or in slightly divergent whorls; they are ampuliform, elongated, with a relatively long neck provided with a pronounced collarette. Size of the metulae: 12 (20)  $\times$  2,4–2,7  $\mu\text{m}$ , size of the phialides: 13–25 (–30)  $\times$  2,5–3  $\mu\text{m}$ . The neck is 3,5–5  $\mu\text{m}$  long, narrowed at the end to 1,7  $\mu\text{m}$ . Conidia are produced in long chains, elongated, fusiform, truncate on both ends, with distinct connectives, encrusted cell wall and oil drops inside. Size of the conidia 7–9  $\times$  2,6–3  $\mu\text{m}$ .

Typus CCF 2330, paratypus CCF 2396. The isolates were obtained from

FASSATIOVÁ et PEČKOVÁ: SAGENOMELLA BOHEMICA

peloids (peat) at the Františkovy Lázně Spa (Franzensbad) in West Bohemia in 1986 and 1988.

The *Sagenomella* genus was described by Gams in 1978 as a genus closely related to the genus *Acremonium* Link. Gams reports as one of the most characteristic feature of the new genus coherent chains of conidia. Coherence of the conidia is given by their origin from the phialide by thickening of the end of conidium and by forming thus connectives, similarly as in the genera



*Sagenomella bohemica* — microscopical details: a — conidiophores with young conidia, b — chain of matured conidia.

*Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium* and others. The *Acremonium* genus in the present conception (Gams 1978) has no coherent chains of conidia. Gams included 9 species into the *Sagenomella* genus; 5 were transferred from other genera (*Paecilomyces* and *Acremonium*) and 4 were newly described. Most of these species form singly phialides, only two species — *S. verticillata* W. Gams et Söderström and *S. humicola* (Onions et Barron) W. Gams — form phialides in verticils. The newly described *S. bohemica* differs from the above two species in the first place by larger dimensions of an amply ramified conidiophore, larger phialides and high dimensions of fusiform conidia which have a thicker wall and contain oil drops. The species does not form chlamy-

dospores. Other different characters are the appearance and coloration of the colony. *S. bohémica* forms typical red brown hyphae connected into narrow funicles, as well as orange or pink acervate mycelial formations in the center of the colony, and finally distinct red to red brown coloration of the colony reverse. Pigment of the same colour diffuses into the surrounding agar and is visible also from the obverse. None other species of the *Sagenomella* genus has such characteristic of the colony. Representatives of the *Sagenomella* genus are not abundant. Most species were isolated from soil in Europe and America. In Czechoslovakia so far *S. verticillata* W. Gams et Söderström was found in forest soil in Central Bohemia and *S. oligospora* W. Gams et Luiten was isolated from the surface of human skin in North Bohemia (Fassatiová, 1982).

#### References

- FASSATIOVÁ O. (1982): New or rare records of some Deuteromycetes and Ascomycetes from Czechoslovakia. — Čes. Mykol., Praha, 36: 100—108.  
GAMS W. (1978): Connected and disconnected chains of phialoconidia and *Sagenomella* genus nov. segregated from *Acremonium*. — Persoonia, Leiden, 10: 97—112.  
PĚČKOVÁ M. et FASSATIOVÁ O. (1989): Die Mikromyzeten in den böhmischen Peloiden. — Balneol. Bohem., Mar. Lázně, 18: 10—21.

Addresses of the authors: RNDr. Olga Fassatiová, katedra botaniky přírodovědecké fakulty UK, Benátská 2, Praha 2. RNDr. Milena Pěčková, Výzkumný ústav balneologický, Mikrobiol. odd., Horova 3, Karlovy Vary.

## Méně časté příznaky napadení obilnin dvěma parazitickými houbami

Less common symptoms of cereal diseases by two parasitic fungi

Jaroslav Benada

Na ječmeni byla nalezena snětivá ložiska (*Ustilago nuda*) na čepeli spodního listu místo na klasu. Na čepelích pšenice napadené rží pšeničnou (*Puccinia persistens* var. *triticea*) vyrostlé na poli a přenesené do skleníku uredie vytvořily prstencovité útvary.

Loose smut (*Ustilago nuda*) was found on barley leaf instead in the ear. In the case of brown rust on wheat (*Puccinia persistens* var. *triticea*) ring formic arrangement of uredia was found on plants grown firstly in the field and thereafter taken to the glasshouse.

Sněť prašná ječná [*Ustilago nuda* (Jens.) Rostr.] napadá zpravidla klasy ječmene a přeměňuje je v masu chlamydospor. V roce 1987 byla nalezena na poli u Kroměříže jedna rostlina, jejíž čepel byla z části přeměněna v chlamydospory uvedené sněti, avšak klas nebyl napaden. Svazky cévní zůstaly zachovány. Příčinou tohoto neobvyklého jevu bylo pravděpodobně příliš vlhké počasí v období růstu stébla. Sběr je uložen v Národním muzeu v Praze (PRM 866026). Z jiných snětí na obilninách napadá běžně listy žita jen sněť stébelná [*Urocystis occulta* (Wallr.) Rab.].

Prstencovité uspořádání urediospor kolem střední kupky urediospor rží pšeničné [*Puccinia persistens* Plow. var. *triticea* (Erikss.) Urban et Marková] bylo pozorováno na podzim 1988 na rostlinách pšenice z výdrolu přenesených do skleníku v říjnu. Spodní listy těchto rostlin byly napadeny rží pšeničnou a padlím travním. Kupky urediospor byly roztroušeny nepravidelně na čepelích spodních listů. Po přesázení rostlin do skleníku se nové kupky rží vyvíjely tak, jak je uvedeno shora. Takovýto jev byl zobrazen již v Atlase chorob a škůdců obilnin (Benada et al. 1967) na str. 71 na prvním listu mladé rostliny.

Prstencovitá tvorba uredií o větším průměru je běžná na rostlinách ve skleníku během zimy za krátkého dne, i na dalších listech, tedy nikoli jen na prvním listu. Průměr prstenců je až 10 mm (obr. 1 a 2). K největšímu rozšíření rží na poli dochází během sloupkování pšenice a kupky urediospor jsou vždy rozptýleny nepravidelně na listových čepelích. Podobně nepravidelně bývají rozptýleny kupky telii. Dimorfismus v uspořádání kupek rží je možno pozorovat i u rží plevové (*Puccinia striiformis* West.), kde kupky uredií na klíčcích rostlinách nebo rostlinách odnožujících jsou uspořádány nepravidelně na čepelích, naproti tomu na rostlinách sloupkujících jsou uspořádány v podélných řadách a tvoří pruhy. Naproti tomu u rží ovesné (*Puccinia coronata* Cda. var. *avenae* Fraser et Ledingham) kruhové uspořádání na čepelích rostlin na poli je běžné u teliového stadia. Změny v uspořádání výtrusů zřejmě souvisejí se změnou fyziologických podmínek listu vlivem vnějších podmínek a ontogeneze. Exsikát je uložen v Národním muzeu v Praze (PRM 866027).

### Literatura

BENADA J., SEDIVÝ J. et ŠPAČEK J. (1967): Atlas chorob a škůdců obilnin. — Praha.

Adresa autora: Ing. Dr. Jaroslav Benada, CSc., Oseva — koncernový výzkumný a šlechtitelský ústav obilnářský, 767 41 Kroměříž.

## Významné životní výročí RNDr. Anastázie Ginterové, CSc.

Sexagonario RNDr. Anastázia Ginterová, CSc., ad salutem!

Václav Šašek

Je málo žen, kterým se obdivuji pro výsledky jejich vědecké práce. Doktor-ka Ginterová mezi ně patří. Proto jsem s potěšením přijal výzvu výboru ČSVSM napsat k nadcházejícím narozeninám dr. Ginterové krátký článek.



Anastázia Ginterová, přáteli nazývána Nasfa, se narodila 5. prosince 1930 v malé vesničce Otrhánkách na Slovensku. Ještě donedávna by bylo možno vyzdvihovat její přímo „dělnicko-rolnický“ původ — otec byl malý rolník a truhlář. V důsledku zmatků 2. světové války navštěvovala různé školy, než v roce 1950 maturovala na Obchodní akademii v Trenčíně. Po určitém váhání mezi studiem filozofie a medicíny se nakonec rozhodla pro přírodní vědy a v roce 1954 ukončila studium na přírodovědecké fakultě v Bratislavě, specializaci biochemie. Tématem její rigorózní práce bylo studium antibiotických vlastností druhů rodu *Penicillium* a mechanismus působení penicilinu. Pak nastoupila interní vědeckou aspiranturu v Biologickém ústavu



SAV a v r. 1958 obhájila kandidátskou disertaci „Mechanismus působení etylenchlorhydrinu na dormantní hlízy *Solanum tuberosum*“.

Od roku 1959 pracovala ve Výzkumném ústavu potravinářském v Bratislavě, z něhož se reorganizací stal Výzkumný ústav lihovarů a konzervárny. Tehdy si vzala za cíl studium využití lignocelulózových materiálů vyššími dřevokaznými houbami. Této problematice, přes určité komplikace a překážky (např. na krátký čas převedení do JZD Rača a další přesun do Výzkumného ústavu krmivářského průmyslu a služeb v Ivance při Dunaji — kde pracuje dodnes), zůstala po 30 let věrná. Zde bych se mohl vrátit k objasnění důvodu mého obdivu. Poznal jsem, jak je obtížné překonávat překážky, komplikace, nepochopení, nezáměr atd. na cestě k rozvoji pěstování jedlých hub. Pěstování žampionů u nás prakticky po mnoho let stagnuje a jejich produkci hluboce zaostáváme za vyspělými evropskými zeměmi. To však neplatí o pěstování hlívy ústříčné. Díky soustavnému úsilí a nezdolnosti při překonávání průběžně se vyskytujících problémů dosáhla dr. Ginterová toho, že se pěstování hlívy ústříčné u nás přece jen rozvíjí, bylo vybudováno již přes 30 hlíváren a produkce hlívy dosahuje 700 tun ročně, což je přibližně polovina naší současné produkce žampionů. Navíc, dr. Ginterová v posledních letech svou prací přispívá i ke zvyšování produkce hlívy v rozvojových zemích, pro něž tato houba je velmi vhodným organismem pro výrobu potravin s použitím rozmanitých odpadů zemědělské výroby jako jediné vstupní suroviny.

Mezinárodní prioritu mají výsledky, které dr. Ginterová dosáhla ve využití vypleného substrátu po pěstování hlívy ústříčné jako přídatku do krmných směsí pro skot a vepř. Získala rovněž četné původní vědecké poznatky z fyziologie hlívy ústříčné, především v otázce metabolismu dusíku. Šíře, v jaké dr. Ginterová studovala svůj oblíbený houbový model, je dobře patrná z následujícího seznamu publikací.

Z povahových vlastností dr. Ginterové bych chtěl na tomto místě zmínit alespoň dvě. Prvou je odvaha a nekompromisnost, se kterou vyjadřuje svůj nesouhlas se všemi projevy administrativně-totalitního přístupu. Byl jsem několikrát přítomen situaci, když dr. Ginterová tvrdě kritizovala v přítomnosti „důležitých činitelů“ nedostatky a chybná rozhodnutí brzdící rozvoj pěstování hub; mne z toho málem mrazilo, ale měl jsem dojem, že dr. Ginterová to činí s chutí. Druhou typickou vlastností dr. Ginterové je skromnost. Tu nejlépe vystihuje závěr dopisu, v němž mi posílala podklady pro sestavení seznamu publikací. Dovoluji si citovat: „Vašek, prosím Ťa, len nenapiš, že som dosiahla nejaké úspechy. To by nebola pravda, so mnou bolo vždy toľko ľuďi, čo mi pomáhali, že by to bolo nespravodlivé. Mojm hlavným úspechom je to, že ešte žijem a možem pracovať, že som stále rovnako tvrdohlavá a zvedavá“.

Dovoluji si jménem přátel a spolupracovníků dr. Ginterové do dalších let popřát dobré zdraví, pracovní pohodu, dobře vybavenou laboratoř (která jí stále chybí) a další vědecké úspěchy.

Mykologické práce RNDr. Anastázie Ginterové, CSc.

1971—1975

- Ginterová A.: Bilancia dusíku u niektorých kmeňov vyšších húb pri submerznej a stacionárnej kultivácii. — Mykol. Sborník, Pěstování Žampionů 8: 60—63, 1971.  
 Ginterová A.: Perspektivy pěstování vyšších hub v civilizované společnosti. — Mykol. Zpravod. 16: 31—34, 1972.  
 Ginterová A., Janotková O.: Niektoré výsledky štúdia problematiky pestovania slamienky, *Stropharia rugosoannulata* Farlow ex Murr. — Mykol. Zpravod. 16: 75—78, 1972.

- Ginterová A.: Perspektívy technológie pestovania hľivy v zužitkovaní odpadov. — In: Souhrny referátů z konference Věda pomáhá rozvoji výroby hub, p. 44—48, Praha, 1972.
- Ginterová A.: Niektoré podmienky rastu mycelia podpňovky obyčajnej (*Armillaria mellea*). — In: Sborník referátů Symposium o václavce obecné *Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Kumm., p. 145—146, Brno, 1973.
- Ginterová A.: Fixácia atmosférického dusíku vyššími hubami a možnosti, ktoré z toho vyplývajú. — Bulletin Čs. biochemické společnosti 1: 28, 1973.
- Ginterová A.: Dedicaryotization of higher fungi in submerged culture. — Fol. Microbiol. 18: 277—280, 1973.
- Ginterová A.: Hľiva miskovitá (*Pleurotus cornucopiae*), nová huba pre priemyselné pestovanie. — Mykol. Zpravod. 18: 9—13, 1974.
- Ginterová A.: Využitie drevokazných húb na výrobu krmív z poľnohospodárskych a priemyselných odpadov. — Mykol. Zpravod. 18: 23—26, 1974.
- Ginterová A.: Niekoľko pozoruhodností zo života hmyzích pestovateľov húb. — Mykol. Zpravod. 18: 63—65, 1974.
- Ginterová A.: Využití zemědělských a průmyslových odpadů houbami. — In: Sborník mezinárodního sympózia Fysiologie, ekologie a pěstování jedlých hub, p. 57, Praha, 1974.
- Ginterová A.: Súčasný stav a perspektíva vývoja pestovania húb na Slovensku. — Mykol. Zpravod. 19: 7—11, 1975.
- Ginterová A.: K histórii vzniku prvej československej hľivárne. — Mykol. Zpravod. 19: 63—65, 1975.
- Ginterová A.: Pestovanie hľivy ušticovitej. — Mykol. Zpravod. 19: 66—69, 1975.
- Ginterová A. et Janotková O.: Recepty na jídla z hľivy úšticné (*Pleurotus ostreatus*). — Mykol. Zpravod. 19: 107—108, 1975.
- Ginterová A.: Možnosti perspektívneho využitia húb v krmivárstve. — In: Sborník semináře Netradičné krmoviny v chove hospodárskych zvierat, p. 155—161, Starý Smokovec, 1975.
- Ginterová A. et Maxiánová A.: The balance of nitrogen and composition of proteins in *Pleurotus ostreatus* grown on natural substrates. — Fol. Microbiol. 20: 246—250, 1975.
- Ginterová A. et Janotková O.: A simple method of isolation and purification of cultures of wood-rotting fungi. — Fol. Microbiol. 20: 519—520, 1975.
- 1976—1980
- Ginterová A.: Súčasná situácia v pestovaní hľivy úšticovitej (*Pleurotus ostreatus*) a plány na ďalšiu päťročnicu. — Mykol. Zpravod. 20: 19—21, 1976.
- Ginterová A. et Kříž K.: První Mykologické dny na Slovensku. — Mykol. Zpravod. 20: 79—82, 1976.
- Ginterová A.: Tvorba plodníc u *Pleurotus ostreatus*. — In: Souhrny referátů XIII. sjezdu Čs. společnosti mikrobiologické při ČSAV, p. 29, Gottwaldov, 1976.
- Ginterová A., Ryzner R. et Janotková O.: Technológia pestovania hľivy ušticovitej ve veľkoobjemových paletách. — In: Souhrny referátů VI. celostátní mykologické konference, p. 86—87, Pezinok, 1976.
- Ginterová A., Janotková O. et Valovič K.: Hľiva ušticovitá, pestovanie a spracovanie, 54 p., VÚLIKO Bratislava, 1976.
- Janotková O. et Ginterová A.: Výber kmeňov a príprava sadby na pestovanie hľivy ušticovitej. — In: Huby, zborník prednášok z technologických seminárov o hubách, p. 87—93, Košice, 1976.
- Ginterová A. et Janotková O.: Hľiva ušticovitá ako perspektívna konzervárenská surovina. — In: Huby, etc. p. 79—87.
- Ginterová A. et Janotková O.: Substráty vhodné pre pestovanie hľivy úšticovitej a ich úprava. — In: Huby, etc. p. 87—93.
- Janotková O. et Ginterová A.: Pŕíkový spôsob pestovania hľivy ušticovitej. — In: Huby, etc. p. 103—107.
- Ginterová A. et Janotková O.: Rast vyšších húb na zbytkoch po kyslej hydrolyze exkrementov ošípaných. — In: Sborník z III. symposia Využívanie netradičných zdrojov bielkovín a energie vo výžive hospodárskych zvierat, p. 215—221, Senec, 1977.
- Ginterová A.: Hľiva ušticovitá, nová potravinárska surovina. — Mykol. Sborník 54: 13—14, 1977.

- Lóry T., Ginterová A. et Janotková O.: Způsob povrchové fermentácie húb. — AO 166907, 1977.
- Škultétyová N., Sommer A. et Ginterová A.: Výskum výživnej hodnoty vyplodeného substrátu hľivy ústřicovitej. I. Obsah živín v substráte. — Poľnohospodárstvo 24: 65—73, 1978.
- Sommer A., Škultétyová N. et Ginterová A.: Výskum výživnej hodnoty vyplodeného substrátu hľivy ústřicovitej. II. Stráviteľnosť živín vyplodeného substrátu hľivy ústřicovitej. — Poľnohospodárstvo 24: 152—157, 1978.
- Jelínek B., Ryzner R., Ginterová A. et Janotková O.: Krmná prísada pre hospodárske zvieratá a lesnú zver. — AO 202282, 1978.
- Macko O., Grom A., Kočí S. et Ginterová A.: Spôsob výroby krmiva s obsahom nutričných látok. — AO 192962, 1978.
- Ginterová A. et Gallon J. R.: *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm. a fixácia dusíka. — In: Sborník 3. mezinárodného symposia Fysiologie, ekologie a pěstování jedlých hub, p. 155—161, Praha, 1979.
- Ginterová A. et Gallon J. R.: *Pleurotus ostreatus*, a nitrogen fixing fungus? — Biochem. Soc. Trans. 7: 293—295, 1979.
- Barták R., Ginterová A. et Janotková O.: Způsob výroby krmiva vhodného k použiti do krmných směsí používaných v živočišné výrobě. — AO 176987, 1979.
- Barták R., Ginterová A. et Janotková O.: Způsob výroby plodnic konzumních hub očkováním substrátu. — AO 177745, 1979.
- Ginterová A., Janotková O., Zemek J., Augustín J. et Kuniak L.: Cellulase activity of higher fungi. — Fol. Microbiol. 25: 318—323, 1980.
- Ginterová A., Polster M. et Janotková O.: The relationship between *Pleurotus ostreatus* and *Aspergillus flavus* and the production of aflatoxin. — Fol. Microbiol. 25: 332—336, 1980.
- 1981—1985
- Ginterová A.: Mnohostranná užitečnost hľivy. — Mykol. Sborník 58: 140—142, 1981.
- Ginterová A., Janotková O., Zemek J., Augustín J. et Kuniak L.: Orientation screening of alpha-amylolytic activity in higher fungi and comparison with the cellulolytic activity. — Biológia 36: 23—29, 1981.
- Ginterová A., Janotková O. et Findová L.: Effect of cultivation conditions on cellulase activity of higher fungi. — Fol. Microbiol. 26: 133—136, 1981.
- Ginterová A. et Janotková O.: Utilization of fat and degradation of cholesterol by *Pleurotus* sp. — Fol. Microbiol. 26: 228—231, 1981.
- Ginterová A. et Janotková O.: Hľiva a hospodarenie s dusíkom. — Pěstování Hub 6: 5—9, 1981.
- Ginterová A., Černý M. et Janotková O.: Substráty pre pestovanie hľivy ústřicovitej, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm. — Čes. Mykol. 36: 232—235, 1982.
- Ginterová A., Janotková O., Brabec J. et Farkaš J.: Vplyv chemickej úpravy na rozklad dreva hubou *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm. — Čes. Mykol. 36: 228—231, 1982.
- Ginterová A.: Pestovanie ďalších druhov jedlých húb. — In: Sborník přednášek odborné konference Efektivně využití druhotných surovin hubami, p. 35—41, Nitra, Agrokomplex, 1982.
- Ginterová A.: Pestovanie húb — nové odvetvie rastlinnej výroby. — Ibid., p. 4—9.
- Ginterová A. et Janotková O.: K niektorým biotechnologickým aspektom využitia hľivy ústřicovitej na krmivárske účely. — In: Sborník prací Celostátní konference: Využití biotechnologií při výrobě krmiv, krmných zmesí a ich racionálnom využití vo výžive hospodárskych zvierat, p. 253—257, Tatr. Lomnica, 1983.
- Ginterová A. et Lichvár I.: Hľiva ako transformačný organismus pre využitie lignocelulózových materiálov. — In: Sborník přednášek odborné konference Uplatnění biotechnologií v polnohospodárskej veľkovýrobe, p. 50—56, Nitra, Agrokomplex 1983.
- Ginterová A. et Lichvár I.: Krmivárske využitie hľivy ústřicovitej. — Krmivářství 20: 91—92, 1984.
- Ginterová A., Janotková O. et Ryzner R.: The growing of *Pleurotus* in CSSR. International Symposium on Substrates for Mushroom Growing and Cultivation of *Pleurotus* species. Poszter öszefoglalok p. 21, Budapest, 1984.
- Ginterová A., Janotková O. et Ryzner R.: Spôsob prípravy substrátu pre pestovanie húb. — AO 214580, 1984.
- Ginterová A., Lazarová A. et Lichvár I.: Novšie poznatky pri biologickej úprave

- lignocelulóзовых materiálov na krmivá pomocou vyšších húb. — In: Sborník konference: Biotechnologická racionalizácia výroby krmív a krmných zmesí a ich využitie vo výžive hospodárskych zvierat. I. diel, p. 106—110, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, 1985.
- Ginterová A.: Pestovanie hlívy, progresívna biotechnológia súčasnosti. — Informácie MPVŽ SSR: 20—22, 1985.
- Ginterová A.: Možnosti zvýšenia výroby hlívy kooperáciou. — In: Zborník I. celoštát. zjazdu pestiteľov hlív, p. 113—116, Bratislava-Rača 1985.
- Ginterová A.: Základy súčasnej technológie pestovania hlív. — Ibid., p. 19—30.
- Ginterová A.: Pestovanie húb. 210 p. — Nakl. Príroda, Bratislava 1985.

1986—1989

- Ginterová A.: Pestovanie jedlých húb od historie po moderné biotechnológie. — Abstrakt in Čes. Mykol. 40: 111, 1986.
- Lichvár I., Roháček L. et Ginterová A.: Vplyv vylodeného substrátu pšeničnej a repkovej slamy v krmných dávkach dojníc na konverziu krmív a produkciu mlieka. — In: Sborník ze školení: Produkce krmív ze zemědělských odpadních produktů získaných pomocí vyšších hub, p. 56—62, V. Bystřice, okr. Olomouc, 1986.
- Ginterová A.: Netradičné krmivo pre zver. — Polovníctvo a Rybárstvo 39: 192—193, 1987.
- Ginterová A.: Biotechnologična dela v loviščich. — Lovec, Beograd, 70: 253—254, 1987.
- Ginterová A. et Lazarová A.: Degradation dynamics of lignocellulose materials by wood-rotting *Pleurotus* fungi. — *Fol. Microbiol.* 32: 434—437, 1987.
- Ginterová A. et Lazarová A.: Amino acid composition of wood-rotting fungi (*Pleurotus*) and total amino acid balance of the cultivating system. — *Food Chem.* 23: 35—41, 1987.
- Ginterová A., Lazarová A. et Hrabovcová J.: Vhodnosť rozličných kmeňov hlív pre úpravu lignocelulóзовых materiálov na krmivá. — In: Sborník 11. celoštátnej konferencie: Racionalizácia výroby a využitia krmív, krmných zmesí a doplnkov vo výžive hospodárskych zvierat, p. 187—191, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, 1987.
- Ginterová A.: Pestovanie hlív v ČSSR. — In: Zborník prednášok II. celoštát. zjazdu pestiteľov hlív, p. 5—13, Bratislava-Rača, 1987.
- Ginterová A. et Mikušová D.: Vzťah hlívy k niektorým druhom nižších húb. — Ibid., p. 89—95.
- Hrabovcová J., Lazarová A. et Ginterová A.: Produkčné kultúry hlív a služby VÚKPS. — Ibid., p. 116—122.
- Barták R., Broda J. et Ginterová A.: Přírodní organické směsi k ochucování potravin a jídel. — Ibid., p. 152—154.
- Ginterová A.: *Pleurotus* in modern agricultural production. — XII. Intern. Congr. on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Braunschweig, 1987.
- Ginterová A.: Wykorzystanie podłóże po uprawie grzybów. — *Grzyby* 15: 5—11, 1987.
- Ginterová A., Poljak M. et Barták R.: Způsob anaerobno aerobnej fermentácii substrátu pre pestovanie húb. — PV 08124, 1987.
- Ginterová A. et Lazarová A.: Spůsob spracovania textilných a iných lignocelulóзовых materiálov. — PV 3605, 1987.
- Ginterová A. et Petrová M.: Biotechnological importance of higher fungi. — In: *Industrial Biochemicals, Interbiotech* 88, p. 102, Bratislava, 1988.
- Ginterová A. et Poliak M.: Procesná kniha o pestovaní hlív. — 2. doplnené vydání, 116 p., VÚKPS Ivanka pri Dunaji, 1988.
- Ginterová A., Hrabovcová J., Lois J. et Forsthoffer J.: Spůsob využitia zvyškov cukrovej trstiny na výrobu jedlých húb a krmív. — Příhlaška vynálezu, Praha, 1989.
- Ginterová A., Hrabovcová J. et Lois J., Forsthoffer J.: Metodo de utilizacion de residuos lignocelulosicos de la caña de azucar para la produccion combinada de hongos comestibles y foraje beneficiado. — Příhl. vynálezu, Havana, 1989.
- Kuňak L., Ginterová A., Fehérváry A., Augustín J. et Kodrliková A.: Fungálna lakkáza a spôsob jej prípravy. — Příhl. vynálezu, Praha, 1989.
- Lazarová A. et Ginterová A.: Spůsob prípravy substrátu bavlněného odpadu textilnej výroby alebo zmesi bavlněného odpadu s inými lignocelulóзовými materiály pre fermentáciu húb. — Příhl. vynálezu, Praha, 1989.
- Hrabovcová J. et Ginterová A.: Novošlachtené kmeny hlív VÚKPS. — In: Sborník



- referátů a souhrnů referátů z 8. celostátní vědecké mykologické konference, p. 114, Brno, 1989.
- Ginterová A. et Hrabovcová J.: Príspevok k štúdiu úlohy vyšších drevokazných húb v pôde s dopadom na zdravotný stav rastlín. — In: Sborník: Patofyziológia rastlín, p. 417—425, Bratislava, 1989.
- Ginterová A., Petrová M., Kuniak L. et Augustín J.: Topography of some enzymes in higher fungi. — Interbiotech 89, Bratislava, sub prelo.
- Ginterová A. et Poláček I.: Biotechnológia pestovania hliv v ekologických súvislostiach. — In: Sborník z 12. celostátní konference Technológia výroby a využitia krmív, krmných zmesí a krmných doplnkov vo výžive hospodárskych zvierat, Vys. Tatry — Strbské Pleso, 1990, sub prelo.

E. J. H. Corner: *Ad polyporaceas V.* — Beihefte zur Nova Hedwigia 96, 218 pp.; *Ad Polyporaces VI.* — Beihefte zur Nova Hedwigia 97, 197 p., 11 barev. tabulí. Obojí vyšlo v nakl. J. Cramer, 1989. Cena neuvedena.

U některých lidí jakoby se vysoký věk neprojevoval — ač penzisté už mnoho let, stále jsou neobyčejně činní, tj. fyzicky i psychicky aktivní (z našich botaniků to je např. prof. J. Dostál). Patří k nim bezesporu i anglický mykolog prof. dr. Corner, jemuž nyní vyšly v jeho sérii publikací o choroších hned dvě knihy.

V pátém dílu série *Ad Polyporaceas* je zahrnuto zpracování 21 rodů chorošovitých hub, většinou však jen s malým počtem druhů (z rodů bohatých na druhy to je pouze *Tyromyces* P. Karst.). Jako v předešlých dílech této série prací (recenze viz v Čes. Mykol. 38: 62—63, 1984; 40: 61—62, 1986; 42: 127—128, 1988) je výběr zařazených druhů omezen především na malajsijskou oblast jv. Asie, kde autor dlouhá léta pracoval jako mykolog a odkud tedy má nejvíce materiálu, který postupně zpracovává a uveřejňuje. Jde převážně o tropické druhy chorošů a evropské jsou zahrnuty tehdy, pokud byly nalezeny také v tropech, popř. v subtropích.

V této knize je popsáno ohromné množství nových taxonů (139): 2 podrody, 108 druhů a 29 variet (provedeno je 9 nových kombinací); jejich hodnotu nemůžeme přirozeně vzhledem k neznalosti tropického materiálu malajsijské oblasti posoudit — ani sám autor si není v některých případech jistý, zda příslušný taxon nebyl popsán již dříve (pro nedostatek času nedělal revizi za účelem porovnání herbářového materiálu jiných mykologů). K zajímavým a osobitým taxonomickým názorům prof. Cornera na rodovou systematiku patří např. jeho návrat k Pilátovu širokému pojetí rodu *Gloeoporus* Mont., kam řadí i druhy, které jsou dnes běžně uváděny téměř všemi mykology v rodu *Bjerkandera* P. Karst. a *Skeletocutis* Kotl. et Pouz. Ale i v některých dalších případech se odchyluje od běžných taxonomických pojetí; např. v tomto pátém dílu uznává rod *Fomitopsis* P. Karst. s řadou druhů (včetně několika jím nově popsaných), avšak hned v dalším, šestém dílu jej dává do synonymiky rodu *Trametes* Fr. Podobných nedůsledností je v Cornerových knihách více. Nelze se tomu ovšem příliš divit, neboť chce-li autor tolik poznatků rychle publikovat, nestačí prostě včas různé rozpory vyřešit.

V šestém dílu *Ad Polyporaceas* jsou zahrnuty pouze druhy rodu *Trametes* Fr., který ovšem prof. Corner pojímá značně široce, opět obdobně jako kdysi A. Pilát (vyjímaje např. rod *Trichaptum* Murrill). I v tomto dílu je popsáno několik desítek (92) nových taxonů: 65 druhů a 27 variet (navrženo je 12 nových kombinací). Na konci knihy pak jsou krátké zajímavé úvahy o evoluci chorošů (vyjímaje ty, které patří do řady *Hymenochaetales*, tj. tak zvané xanthochroidní druhy), dále přehled rodové systematiky chorošovitých hub a potom úvaha o úspěšnosti vybraných mykologů (jejichž dílo je uzavřeno, nově popsané taxony zrevidovány a uveřejněny) při popisování nových druhů chorošů: nejvyšší procento úspěšnosti má Wakefieldová, a to 61 % (tj. z 18 jí popsaných nových druhů chorošů je jich uznáváno 11), dále pak Persoon (59 %), Hooker (55 %) aj., zatímco někteří jiní mykologové vykazují velice nízké procento úspěšnosti — např. Murrill (19 %), Léveillé (13 %) a zcela neúspěšný byl např. Lázaro e Ibiza (0 %), jemuž nezbyl žádný jím popsaný a dnes uznávaný druh choroše, ačkoli jich popsal 44.

Obě recenzované knihy prof. Cornera (*Ad Polyporaceas V a VI*) jsou i pro evropské mykology významné krásnými anatomickými kresbami mikrostruktur (ale i celých plodnic v barevných akvarelech v šestém dílu) tropických chorošů ve srovnání s evropskými. Autorovi je nutno vyslovit obdiv k vytvoření takového díla (v němž dále pokračuje) a blahopřát mu k jeho záviděníhodné výkonnosti!

František Kotlaba a Zdeněk Pouzar



## Významná životní jubilea členů Čs. vědecké společnosti pro mykologii v roce 1990

### Bedeutsame Gedenkstage unserer Vereinsmitglieder im Jahre 1990

Svatopluk Sebek a Cyprián Paulech

Jako každoročně, tak i letos připomínáme významná životní výročí některých našich členů, kteří — každý svým způsobem — přispěli k rozvoji naší mykologické vědy. Z našich členů — letošních padesátníků — připomínáme především jubileum paní Milady Grünerové z Prahy (nar. 14. 9. 1940), vědeckého pracovníka katedry ochrany lesů Vysoké školy lesnicko-dřevářské ve Zvolenu ing. Karola Vaníka, CSc., (nar. 26. 8. 1940) a Paed. Jiřího Rotha z Chomutova (nar. 11. 8. 1940).

V tomto roku oslaví významné životné jubileum (60 rokov) doc. Ing. Jozef Kodrík, CSc., pracovník lesníckej fakulty Vysoké školy lesníckej a dřevářskej vo Zvolenu. Narodil sa 4. 10. 1930 vo Zvolene, kde v roku 1949 ukončil stredoškolské štúdium na tamojšom gymnáziu. V rodnom mestě absolvoval aj vysokoškolské štúdium (1949—1953) na Vysoké škole lesníckej a dřevářskej. V roku 1966 získal vedeckú hodnosť kandidáta poľnohospodárskych a lesníckych vied a po predložení habilitačnej práce bol v roku 1977 menovaný docentom. Po skončení vysokej školy pracoval na Lesprojekte Zvolen (1953—1961) a od roku 1961 pôsobí na terajšom pracovisku, na katedre krajinnárstva a ochrany lesa VŠLD vo Zvolene. Ťažisko jeho doterajšej práce bolo a je zamerané na pedagogickú, výskumnú a organizačnú prácu v oblasti lesníckej fytopatológie a ochrany lesa. Pozornosť venoval hlavne problematike stability a ochrany lesných porastov pred nepriaznivými účinkami mechanicky pôsobiacich abiotických činiteľov (vietor, mraz), ako aj výskumu ich vzťahu k výskytu fytopatogénnych húb koreňových systémov lesných drevín. Zaoberal sa i štúdiom biotechnológie pestovania jedľých drevokazných húb. Výsledky svojich prác publikoval v príslušných vedeckých, odborných a popularizačných časopisoch, ako aj v knižných publikáciách. Úspešne vykonával funkciu prodekanu lesníckej fakulty pre vedecko-výskumnú činnosť a rad ďalších významných pedagogických a vedeckých funkcií. Na pracovisku prednáša a vedie cvičenia z predmetu ochrana lesa. Je členom obhajovacej komisie kandidátskych disertačných prác z vedného odboru mykológia. Pri príležitosti jeho jubilea prajeme mu hodne zdravia a úspechov v jeho tvorivej a pedagogickej činnosti, ako i v jeho osobnom živote.

Ďalším šesťdesiatnikom je Ing. Roman Leontovyč, CSc., narodený 19. februára 1930 v Horních Černošicích (okr. Praha—Juh). V r. 1950 absolvoval reformné reálne gymnázium v Praze 19 —V elvarská a r. 1954 Lesnícku fakultu pri ČVUT v Prahe, kde obhájil aj kandidátsku dizertačnú prácu v r. 1963 na tému „Vliv vyvíjivosti na houbové nákazy topolů“. Po dokončení Lesníckej fakulty nastúpil ako pomocník vedúceho poľsia na Správu lesného hospodárstva Závadka nad Hronom, odkiaľ bol vyzvaný na Výskumný ústav lesného hospodárstva do Banskej Štiavnice za účelom založenia pracoviska lesníckej fytopatológie. Touto disciplínou sa na uvedenom pracovisku zaoberá doteraz, s výnimkou šiestich rokov, kedy pracoval ako expert v odbore lesníckej fytopatológie na Kube (zakladá laboratórium lesníckej fytopatológie, pomáha zakladať výskumné ústavy lesníckej, strednú a vysokú lesnícku školu, na ktorej i prednáša), v Mexiku (prednáša na vysokej škole v Chapingo) a v Angole (vypracoval návrh lesného zákona a ochrany prírody). Jeho obľúbenou témou sú choroby topolov (pôsobil aj ako predseda Komisie ochrany topolov RVHP) a v poslednom čase i mykózy v súvislosti s hromadným hynutím dubov, ktorú úlohu ako zodpovedný riešiteľ 40 členného kolektívu dokončuje s úspechom, keďže úloha bola ocenená cenou ČSAZ v r. 1985. Pracuje ako člen European Plant Protection Organization. Vyškoliť 4 aspirantov v odbore lesníckej fytopatológie a zverejnil vyše 200 publikácií prevažne so zameraním na ekologické a fyziologické vzťahy, odolnosť a náchylnosť jednotlivých lesných drevín k chorobám, závislosť epifytícií na klimatických faktoroch, vplyv hospodárenia v lesoch na jednotlivé choroby, otázky selekcie, zvyšovanie odolnosti apod.

Rady šesťdesiatníku rozmnožil 22. února 1990 také RNDr. Karel Micka, CSc., jehož prínos k rozvoji diagnostiky vyšších húb metódou makrochemických reakcií jsme ocenili u příležitosti jeho padesátin v r. 1980 (Čes. Mykol., 34: 173—176, 1980). Dnešními informacemi doplňujeme jeho biografii k jeho letošním šedesátinám. Dr. Micka vyrostl ve středních poměrech měšťanské rodiny jako jediný syn bývalého výrobce rukavic, který byl od r. 1933 živ z podílu na činovním domě v Praze, zabýval se malířstvem a hudební kompozicí, a matky — dcery českého fyzika prof. Ceňka Strouhala, která absolvovala pražské dívčí gymnázium Minerva a byla za-

městnana v domácnosti. Po absolvování Nerudova reálného gymnasia v Praze 1 vstoupil na přírodovědeckou fakultu Karlovy University (1949), kterou úspěšně dokončil v r. 1953, a byl přijat prof. J. Heyrovským do jeho nedávno předtím založeného Polarografického ústavu. Již během studia počal navštěvovat přednášky ČsVSM, kde ho zvláště zaujaly přednášky Ivana Charváta a dr. A. Piláta. Když dr. Pilát jednou upozornil na zvláštní podobnost dvou čirůvek, *Tricholoma pessundatum* a *T. populinum*, z nichž první roste pod jehličnany a je jedovatá, kdežto druhá roste pod listnatými stromy, a je jedlá, ale jinak se nedají rozlišit, rozhodl se, že se pokusí o jejich rozlišení chemickou cestou. Tak vznikla jeho dlouholetá práce na poli kapkových chemických reakcí hub, u jejichž začátku stál I. Charvát a v níž později spolupracoval s dr. M. Svrčkem, CSc., dr. Z. Pouzarem, CSc. (1956) a dr. J. Klánem, CSc. (1980). A tak vzniklo několik publikací, v nichž shrnul své zkušenosti. Jako nejperspektivnější činidlo se ukázal benzidin, který posléze umožnil i rozlišení jmenovaných dvou druhů čirůvek (*T. pessundatum* je negativní, *T. populinum* dávala modrou reakci). V současné době se věnuje práci v oboru teoretické elektrochemie; je též spoluautorem vysokoškolské příručky „Technická elektrochemie 2 — Elektrochemické inženýrství“ (ACADEMIA, Praha, 1981) autorů I. Roušara, K. Micky a A. Kimly.

V tomto roku oslaví svoje šedesátiny i RNDr. Mária Stanová. Narodila sa 21. 3. 1930 v Pavliciach okres Trnava. Maturovala na gymnáziu (Trnava 1949) a vysokoškolské štúdium ukončila na PFUK v Bratislave (1954) na špecializácii botanika. Do zamestnania nastúpila vo vtedajšom Laboratóriu rastlinnej biológie SAV v Bratislave (dnes Ústav experimentálnej biológie a ekológie SAV), kde pracovala až do odchodu do dôchodu. Vo svojej práci sa orientovala hlavne na výskum fytopatogénnych húb podieľajúcich sa na odumieraní kôstkovín a v ostatných rokoch i jadrovin (hlavne jabloní). Ako samostatná pracovníčka sa podieľala na riešení viacerých výskumných úloh ŠPZV. Cenné poznatky získala hlavne v biológii, výžive, parazitizme a v patogenéze huby *Cytospora* sp. Výsledkami svojich prác dokázala, že v našich podmienkach je uvedená huba aktívny parazit, majúci podstatný podiel na usychaní a predčasnom odumieraní kôstkovín. Zistila závislosť úspechu infekcie stromov uvedenou hubou do hĺbky ich poranenia a od ročného obdobia. Dokázala, že pre úspešný priebeh infekcie je potrebné, aby sa huba (ako ranový parazit) dostala do kontaktu s bunkami xylému. Histologicko-anatomickými štúdiami potvrdila lokalizáciu a rast huby v pletivách hostiteľských rastlín v priebehu jednotlivých etáp patogenézy. Okrem druhov rodu *Cytospora* zaoberala sa i štúdiom druhov *Monilia laxa*, *M. fructigena*, *Schizophyllum commune* a niektorými druhmi rodu *Fusarium*. Výsledky svojich experimentálnych prác publikovala v troch desiatkach pôvodných vedeckých prác a predniesla na viacerých domácich a zahraničných podujatiach. Do knižnej publikácie „Zemědělská fytopatologie 4“ spracovala ča mykózy marhúl a časť bakteriózy broskyň. Jubilanťka svojou usilovnou prácou prispela k rozvoju fytopatologickej mykológie a patofyziológie ovocných drevín napadnutých hubami podieľajúcimi sa na ich prečasnem odumieraní. Rozšírila existujúce poznatky hlavne o ekológii a patofyziológii uvedeného onemocnění. Za jej prácu a za získané výsledky je patrí naše uznanie. Do ďalších rokov jej želáme hodne zdravia a úspechov v osobnom živote.

Počátkem letošního jara oslavil své šedesátiny náš pilný jihočeský člen, mykologista ing. Jiří Valter. Narodil se dne 23. března 1930 v Šaraticích (okr. Vyškov), kde též vychodil obecnou a mešťanskou školu. V roce 1944 vstoupil do učení na prodavače v Holubicích u Brna a po vyučení pracoval jako prodavač v Brně. V letech 1949—1952 studoval na vojenských školách v Uherském Hradišti a Hranicích na Moravě, kde maturoval a dosáhl hodnosti poručíka jako absolvent dělostřeleckého učiliště. V letech 1954—1957 získal vysokoškolské vzdělání na Vojenské technické akademii v Brně. Až do svého odchodu do důchodu v r. 1988 zastával různé funkce v ČSLA a dosáhl hodnosti plukovníka.

Jeho vztah k mykologii se formoval již v dětství, kdy jezdil se svým bratrem pravidelně na prázdniny k babičce do otčova rodiště, Olšan u Rousínova, malé vesničky, ležící uprostřed lesů na okraji Drahnské vysočiny. Tady se učil znát své první houby; jeho zájem o houby se postupně prohluboval, pro hlubší studium si později zakoupil i mikroskop a získal potřebné chemikálie pro mikroskopování a makrochemické reakce. Od r. 1981 fotografuje houby na barevné diapozitivy; největšího úspěchu dosáhl v r. 1985, kdy získal 2. místo v celostátní soutěži ve fotografii vybraných druhů hub. Od r. 1970 si vede záznamy o svých nálezech a lokalitách, což mu pomohlo při zpracování podkladů pro mapování hub; v tomto směru spolupra-

uje zejména s doc. dr. Bronislavem Hlúzou, CSc. a prof. Z. Kluzákem a uvedené záznamy mu též pomohly při poskytování podkladů pro Červenou knihu ohrožených druhů hub v ČSFR. Od r. 1969 je členem Čs. mykologické společnosti a od r. 1984 též členem Čs. vědecké společnosti pro mykologii při ČSAV, kde pracuje v sekci pro mykofloristiku a mykocenologii.

Do řad šedesátníků vstoupil letos také RNDr. et PhMr. Miroslav Vostatek, který se narodil 19. 9. 1930 v Pelhřimově. V Ledči n. Sáz., kde prožil své mládí, vystudoval také gymnázium a po maturitě absolvoval v letech 1950—1954 farmaceutickou fakultu v Brně. Nejdříve pracoval ve Východočeských chemických závodech Synthesia v Semtině, později na generálním ředitelství UNICHEM v Pardubicích. Později zakotvil v nemocnici v Pardubicích na oddělení klinické biochemie, kde pracuje dodnes. Během své praxe se zde setkal s poměrně častými intoxikacemi (náhodnými, úmyslnými i průmyslovými), mezi nimiž byly i alimentární intoxikace houbami. Svůj zájem o tuto problematiku a své vzdělání si prohluboval navázáním užšího kontaktu s primářem dr. Zdeňkem J. Cvrčkem a s primářem dr. J. Herinkem. Dr. M. Vostatek je členem ČSVSM a pracuje v sekci pro mykologickou toxicologii jako konzultant pardubické nemocnice pro obor intoxikací houbami a jako jejich registrátor.

Při této příležitosti připomínáme také letošní 65. výročí narození řady našich dalších významných členů, jejichž stručný životopis a přehled jejich odborné práce jsme přinesli u příležitosti jejich šedesátin: Ing. Josef Drbala (Čes. Mykol. 39: 250, 1985), Věry Kachyňové (Čes. Mykol., 39: 250, 1985), Františka Míky (Čes. Mykol., 39: 251, 1985), Ing. Rudolfa Kuželky (Čes. Mykol., 39: 251, 1985), Dr. Jiřího Müllera (Čes. Mykol., 39: 251—252, 1985), doc. dr. Jana Nečáskova, CSc. (Čes. Mykol., 39: 169—172, 1985), dr. Mirko Svrčka, CSc. (Čes. Mykol., 39: 243—249, 1985) a Ing. dr. Vladimíra Zachy, CSc. (Čes. Mykol., 39: 253, 1985).

V malé galerii našich letošních jubilantů připomínáme, že se před 75 lety narodil zasloužilý člen naší Společnosti MUDr. Ferdinand Hřebík; krátký životopis byl uveden u příležitosti jeho šedesátin v Čes. Mykol., 39: 250, 1985.

A závěrem roku (25. 12.) nemůžeme nezpomenout pětasedmdesátin našeho milého přítele MUDr. Josefa Herinka, který se s neúnavnou vehemencí zúčastňuje odborné práce nejen v sekci pro mykologickou toxicologii, v sekci pro ochranu hub a jejich životního prostředí a v sekci pro mykofloristiku a mykocenologii, ale i spolkového života jako člen výboru ČSVSM a oblíbený autor fundovaných přednášek, které doprovází vlastními charakteristickými diapozitivy. V posledních letech zpracoval pro Červenou knihu ohrožených druhů hub v ČSFR příslušné kapitoly o vybraných druzích čeledí *Boletaceae*, *Agaricaceae*, *Hygrophoraceae* a *Russulaceae*. Jeho obsáhlá mykologická práce byla již zhodnocena při jiných příležitostech (např. A. Pilátem v r. 1966, K. Křížem v r. 1976 a M. Svrčkem v r. 1986). Zde jsou také uvedeny jeho bibliografie (za r. 1932—1965 in Pilát 1968, za r. 1966—1975 in K. Kříž 1976 a za r. 1976—1985 in Svrček M. 1986 s doplňky za r. 1973—1975). V následujících řádcích jsme se pokusili zachytit jeho hlavní mykologické publikace po r. 1985.

1986

Sedesát let mykologa Svatopluka Šebka. — Čes. Mykol., Praha, 40 (3): 165—176 (Z. Pouzar).

Osmdesát let Emila Horníčka. — Čes. Mykol., Praha, 40(4): 251—254.

1987

Příčiny a mechanismy poruch zdraví z požití jedlých hub. — In: Kotlaba F., Semerdžieva M., Šebek S. [red.]: Houby z hlediska ochrany přírody a zdraví člověka. Sborné souhrnné referáty a posterů z celostátního symposia se zahr. účastí, konaného dne 31. března 1987 v Praze, p. 20, Praha (ČSVSM).

1989

Rozšíření některých vybraných Boletales a Agaricales : *Agaricus phaeolepidotus*, *Buchwaldoboletus lignicola*, *Cystolepiota bucknalianii*, *Hygrophorus capreolarius* a *Russula viscida*. — In: Kotlaba F. et Šebek S. [red.]: Aktuální rozšíření některých druhů řas, mechů, lišejníků a hub v Československu, p. 24—29, Praha, ČSVSM.

Všem našim jubilantům přejeme při této příležitosti hodně zdraví, spokojenosti a vytrvalosti do dalších let jejich života s poděkováním za jejich práci a s přáním, aby v osobní pohodě mohli v ní pokračovat k prospěchu československé mykologie.

## Literatura

D. F. Farr, G. F. Bills, G. P. Chamuris a A. Y. Roseman: *Fungi on plants and plant products in the United States*. APS Press, St. Paul, Minnesota, 1989, 1252 stran, cena 74 dolarů.

Velice objemná a pečlivě vyrobená publikace je dílem nejen jmenovaných autorů, nýbrž velké řady skutečných odborníků mykologů a fytopatologů vyjmenovaných v Poděkování. Převládají Američané, avšak nalezneme i známá jména z Nizozemska, Anglie a Kanady.

V předmluvě je řečeno, že kniha je výsledkem již staršího projektu Ministerstva zemědělství USA a jeho Zemědělského výzkumného střediska v Beltsvillu, Maryland, konkrétně pak Laboratoře systematické botaniky a mykologie, který je zaměřen s pohledem do daleka na využití databází shromažďovaných ve zmíněné instituci. Je to návaznost na již dříve vydanou (poprvé 1950) a pak v nových vydáních přetiskovanou a tedy užitečnou publikaci *Index to plant diseases in the US*, od které se však recenzované dílo liší v následujících zásadních bodech: a) nejsou podchycena hádátka, viry a bakterie; b) při její kompilaci bylo jedním z stejnocenných hledisek taxonomie a nomenklatura hub; c) jakýkoliv důležitý údaj taxonomický nebo týkající se rozšíření, spektra hostitelů atd. je možno ověřit a studovat za pomoci odkazu na rozsáhlý seznam citované literatury (4030 časopiseckých prací, monografií, herbářových sbírek atd.); d) v seznamu vazeb hostitel — houba jsou zachyceny již dříve zmíněné údaje. V předmluvě je též pro nás zajímavá zmínka, že originální exemplář byl bez jakýchkoliv dalších mezistupňů pořízen přímo z počítače.

V úvodu je nejdříve podrobněji rozveden obsah a cíl díla: poskytuje přehled o patogenních houbách a chorobách v USA, v kterém jsou zahrnuty i houby na sklizeném ovoci, zelenině, různých plodech a obilkách, dále houby poškozující a zbarvující dřevo, houby na rostlinných zbytcích atd. V Seznamu hostitelů (substrátů) a jejich patogenů je uvedeno kolem 78 000 kombinací. Dalším z cílů knihy je soustředit, pokud je to možné, správná jména (společně s častějšími synonymy) jednotlivých druhů hub, uvést jejich rozšíření celkové a v USA, jejich anamorfy (teleomorfy), choroby, které způsobují, spektrum hostitelů a odkazy na důležitou literaturu. To vše se stává předpokladem k dalšímu využití, totiž jako cenné pomůcky při podrobném studiu chorob a poškození a při určování jejich původců.

Určitá omezení obsahová jsou v tom, že literární excerpty se vztahovala jen na houby na cévnatých rostlinách v přirozených prostředích (tedy nikoliv v laboratorních a skleníkových podmínkách).

V tomto oddíle autoři též připomínají využití příručky: zemědělská výzkumníka tu najdou správná vědecká jména hub, případné odkazy na díla taxonomická a nomenklatorická což vše usnadní jejich vzájemné odborné dorozumění. Tytéž služby budou k užítku redakcí a vydavatelům odborných a vědeckých děl. Domácímu i mezinárodnímu obchodu budou užitečné údaje o škodlivosti houbových patogenů a přispějí k zavedení karanténních opatření. Pracovníci v ochraně rostlin ocení data o rozšíření hostitele a patogena na jejichž základě budou uvažovat o možném ohrožení porostů a při šlechtění využijí poznatků o odolnosti či náchylnosti lokálních kultivarů. Informace příručky mohou posloužit též při posuzování možnosti škodlivého působení patogenů na nově zavážené plodiny a jejich kultivary. Již zmínění šlechtitelé najdou v knize tolik potřebné údaje o stávajících i možných patogenních houbách jak na plodinách tak na jejich blízkých planých příbuzných.

V druhé části předmluvy je podrobný a velice instruktivní návod (i pro pracovníky nikoliv zběhlé v mykologii) k využití této pomůcky, co všechno lze se v jednotlivých oddílech dozvědět. K tomu přispívá též třetí část, která konkrétně informuje o tom, jaká byla hlediska a prameny při kompilaci. Při tom zvlášť je probírán Seznam uvádějící vztah hostitel — houba, zvlášť Seznam hub a opět odděleně jsou poznámky k údajům o rozšíření, hostitelském spektru, o zkratkách autorů, periodik atd.

Vedle již zmíněných Seznamů (oddílů) kniha obsahuje citovanou literaturu, rejstřík hostitelů, rejstřík národních jmen rostlin, rejstřík hub a jména (a jejich zkratky) autorů hub. Letným pohledem jsem zachytil, že z našich mykologů jsou citováni K Cejp a Z. Urban.

Recenzovaná příručka není nezbytnou pomůckou pro dříve jmenovaná pracoviště jen v Severní Americe, nýbrž je plně využitelná i v Evropě neboť, jak známo, zmíněné kontinenty mají řadu druhů hub společných nebo alespoň druhy vikarizující a sobě navzájem blízké taxonomicky i ekologičtěji. Doporučuji proto ji zakoupit.

Zdeněk Urban



M. J. Larsen and L. A. Cobb-Pouille: *Phellinus* (Hymenochaetaceae). A survey of the world taxa. — 206 p., Synopsis fungorum 3, Fungiflora, Oslo, 1990. Cena neuvedena.

Rod chorošů *Phellinus* Quél. je na druhy neobyčejně bohatý a bylo dosud obtížné se v něm orientovat (pokud jde o celosvětový pohled). Proto výše uvedení američtí autoři (práce však vyšla v Norsku) přistoupili k soupisu všech popsanych druhů na světě a zároveň k prověřování znaků, kterými se jednotlivé druhy liší. Tento úkol se jim však podařilo zvládnout jen zčásti. Důkladný přehled (a zejména pak monografie) totiž zároveň předpokládá podrobnou revizi typového materiálu všech popsanych druhů, což ovšem autoři provedli jen v menším počtu případů a většinou pracovali jen s literaturou. Pro budoucí monografii by bylo ještě zapotřebí studovat množství dalšího, z taxonomického a mykogeografického hlediska důležitého materiálu. Proto nemohl recenzovaný přehled dosáhnout uspokojivějších výsledků a mnohé problémy spíše otevřel, než vyřešil.

Tak např. autoři přijali druh *Phellinus coffeatorporus* Kotl. et Pouz., aniž nějak reagovali na ztotožnění tohoto druhu s *P. merrillii* (Murrill) Ryv., což publikovali Gilbertson a Ryvarden (1987). Dále dospěli autoři přehledu k názoru, že ztotožnění euroasijského choroše popsaneho jako *Inonotus heinrichii* (Pilát) Pilát s americkou *Poria weirii* (Murrill) Murrill, které jsme provedli před 20 roky (Kotlaba et Pouzar 1970), není správné — uznávají je totiž jako dva samostatné druhy. Přitom ovšem přehlédli, že pak by nemělo platit pro euroasijskou houbu jméno *Phellinus sulphurascens* Pilát 1935 (jak jej použili), nýbrž jméno založené na *Xanthochrous heinrichii* (Pilát 1932) Pilát 1934 — a pak by bylo nutné udělat novou kombinaci v rodu *Phellinus*. Zdá se, že autoři také nedocenili znaky *P. vorax* (Harkness) Černý, který kladou bez jakéhokoli komentáře rovnou do synonymiky *P. pini* (Brot.:Fr.) A. Ames. Na druhé straně nám nepřipadá příliš opodstatněné rozlišování celé řady subspecifických taxonů (zejména forem), např. u *P. ignarius*, *P. pini*, *P. ribis* a *P. torulosus*.

Některé nedostatky v taxonomickém pojetí vyplývají asi z toho, že autoři nedocenili určité, podle našeho názoru důležité znaky, jako je např. tloušťka stěny výtrusů, která hraje významnou roli třeba u *P. nigrolimitatus* (neuvádějí, že jsou tenkostěnné). Naopak některé znaky pokládají za důležité, jako např. přítomnost set v tramě rourek nebo v dužnině u *P. conchatus*, což jsme nemohli potvrdit (jde o evidentní omyl); to je dosti závažné, neboť autoři zařazují podle tohoto znaku uvedené druhy i do určovacího klíče... Pokud jde o zeměpisné rozšíření, uvádějí autoři většinou údaje opírající se o čtené literární prameny (v podobě číselných odkazů na literaturu), avšak nikoli u všech druhů. Např. u *P. pilatii* Černý je uvedeno poměrně široké (nám neznámé) rozšíření, avšak citován není ani jediný literární zdroj; na druhé straně u *P. pouzarii* Kotl. jsou uvedeny pouze dva státy, kde se podle nich vyskytuje, ačkoli je známý ze čtyř zemí (což je publikováno). Pro údaje o rozšíření (ale i z dalších hledisek) je dobře využitelná kniha prvního z recenzentů o zeměpisném rozšíření a ekologii chorošů v Československu (Kotlaba 1984), kterou však autoři monografie zřejmě neznají. Obecně lze říci, že přes poměrně bohatou, v závěru brožury citovanou literaturu, údaje v ní obsažené (taxonomické, nomenklatorické, mykogeografické etc.) nejsou v práci dostatečně využité.

K zajímavostem recenzované práce však patří, že popisy většiny druhů zahrnují nejen vlastní poznatky autorů, ale i jiných mykologů, na jejichž práci je zpravidla v popisu odkaz v podobě čísla vztahujícího se k seznamu literatury. Pokud jde o literaturu, je zřejmé, že jsou vyxercpovány především údaje z větších studií nebo knih, avšak v mnohem menším rozsahu z drobnějších článků v časopisech, třebaže přinášejí důležité informace, které mohly být v přehledu s prospěchem využity (např. u *P. rimosus* neuvádějí žádného hostitele, ačkoli je znám z více druhů dřevin).

Z omylů vyplývajících z celkové neznalosti problematiky některých chorošů, náležejících do jiných rodů než ohňovec, vzniklo mylné ztotožnění *Phellinus megaloporus* (Pers.) Bond. a *P. cryptarum* Quél., tj. *Donkioporia expansa* (Desm.) Kotl. et Pouz., s druhem *Echinochaete brychypora* (Mont.) Ryv., což jsou zcela nepříbuzné houby (str. 152—153).

Závěrem lze konstatovat, že přehled rodu *Phellinus* M. J. Larsena a L. A. Cobb-Pouilleové je i přes výše uvedené (i jiné) kritické poznámky přínosný shrnutím mnoha poznatků o dosud popsanych druzích ohňovců.

František Kotlaba a Zdeněk Pouzar



## LITERATURA

Stellan Sunhede: *Geastraceae (Basidiomycotina)*. — 535 p. (včetně několika barevných a množství černobílých ilustrací). Synopsis fungorum 1. Fungiflora, Oslo, 1990. Cena neuvedena.

Švédský autor recenzované práce (vydané v Norsku) navštívil před 20 lety v rámci studia hvězdkovitých hub také Československo a my jsme ho zavedli v okolí Prahy na lokality některých hvězdkovek. Z další spolupráce s ním jsme proto dobře věděli, že pracuje na monografii o těchto zajímavých a krásných houbách už po léta, avšak zatím jsme marně čekali na její vyjití — až jsme se konečně dočkali! Je to svým způsobem monumentální, bohatě ilustrovaná kniha o hvězdkovitých houbách, které autor studoval nejméně 25 let. Podobnou knihu chtěl asi vytvořit náš specialista na hvězdkovky dr. V. J. Staněk, jemuž však osud dopřál publikovat pouze poměrně stručné pojednání o hvězdkovitých pro Floru ČSR — *Gasteromycetes* (1958).

Sunhedemu se podařilo podrobným studiem jednak anatomie a morfologie, jednak ekologie a zeměpisného rozšíření hvězdkovitých posunout poznání těchto hub značně daleko za hranice našich dosavadních vědomostí. Pokud jde o rozlišovací znaky použitelné k určování, považujeme za důležité jeho zjištění, že hygroskopická povaha exoperidie spočívá v anatomickém rozdílu struktury masité vrstvy, která je vytvořena tlustostěnnými buňkami u druhů hygroskopických a tenkostěnnými u nehygroskopických. Toto zjištění má zásadní význam při určování takových exemplářů, u nichž si nejsme jisti, do které skupiny náležejí. Např. podobné druhy *Geastrum campestre* a *G. berkeleyi* (malé exempláře) lze pak podle výše uvedeného znaku dobře rozlišit. Autor přišel dále na to, že v myceliové vrstvě na vnější straně exoperidie lze podle kvantitativního zastoupení dvou typů hyf rozlišovat např. někdy dost obtížně poznatelné *G. saccatum* a *G. lageniforme*. Sunhedemu se rovněž podařilo pečlivým rozбором znaků obhájit samostatnost některých druhů, o jejichž existenci (resp. samostatnosti) někteří mykologové pochybovali (*G. kotlabae*, *G. limbatum*, český endemit *G. pouzarii*). Potvrdil též názor Dörfeltův a autorů této recenze, že *G. hollosii* a *G. pseudostriatum* jsou synonymní s *G. berkeleyi*. Tyto a další taxonomické závěry mohl autor učinit zejména proto, že studoval velice bohatý živý (ale ovšem i sušený) materiál hvězdkovitých hub z celé Evropy — samozřejmě včetně z jím nově objevených bohatých nalezišť především ve Švédsku (hlavně pak na baltských ostrovech Gotland a Öland).

Na základě svých morfologických studií a sledování vývinu plodnic se Sunhedemu podařilo vysvětlit a v podstatě dopracovat koncepci dr. Staňka o perimyceliální a basimyceliální povaze plodnic hvězdkovek. Zjistil totiž, že mycelium je rozprostřeno na celém povrchu exoperidie všech druhů, avšak u některých není schopné obrůstat (zarůstat) zbytky rostlin a částky půdy (tj. detritus) z těsného okolí plodnice, zatímco u jiných ano (připojení svazkem mycelia na bázi plodnice je tedy u všech druhů). Oproti jiným autorům z posledních 30 let však na druhé straně dospěl k poznání, že je oprávněné řadit *G. melanocephalum* do samostatného rodu; proto rehabilitoval rod *Trichaster* Czern.

Pokud jde o nomenklaturu, ustálil ji Sunhede ve své monografii hvězdkovitých tím, že stanovil neotypy pro ta jména, která neměla své typy (druhy Friesovy, Hollosovy, Vittadiniho), a to velmi uvážlivě a s dokonalou znalostí věci. Postavil tak na pevný základ např. *Geastrum elegans* Vitt. (což je nyní správné jméno pro hvězdkovku, známou dosud pod jménem *G. badium* nebo *G. umbilicatum*), *G. fimbriatum*, *G. hungaricum*, *G. lageniforme*, *G. pectinatum* a *G. quadrifidum*. Všeobecně lze dále o recenzované monografii říci, že se v ní autorovi podařilo uvést na pravou míru řadu mylných koncepcí, které byly v posledních desetiletích v literatuře o hvězdkovitých houbách publikovány.

Velice závažnou součástí monografie je ekologická analýza lokalit jednotlivých druhů čeledi *Geastraceae* (zejména na švédských nalezištích), v níž se zabývá geologickým podkladem, charakterem půdy, doprovodnými rostlinami apod. Pokud jde o zachycení zeměpisného rozšíření hvězdkovitých, všimá si autor na mapách pouze severského výskytu (Skandinávie, Finsko, Dánsko, sev. Německo, popř. sev. Polsko); v mnoha případech ovšem vymapovává detailní rozšíření i na velmi malých územích Švédska, to je tam, kde je velké druhové i kvantitativní bohatství hvězdkovitých, jako např. na ostrovech Gotland, Öland a Lilla Karsö.

V Sunhedeho knize jsou podrobně zpracovány v čeledi *Geastraceae* evropské rody *Geastrum*, *Myriostoma* a *Trichaster* a ve stručnější formě mimoevropské rody *Gasteropsis*, *Phialastrum* (nově popsáný rod), *Pyrenogaster*, *Radiigera* a *Terro-*

*stella*. Velkou předností recenzované monografie jsou velmi pěkné a instruktivní ilustrace, a to jak mikroskopických struktur (perokresby anatomických struktur, bazidií, výtrusů, chlamydospor, hyf a snímky výtrusů, povrchu endoperidie aj. v rastrovacím elektronovém mikroskopu), tak mikroskopického vzhledu (perokresby a fotografie plodnic i jejich částí), ale také informativní fotografie některých konkrétních lokalit hvězdkovitých hub.

Sunhedeho monografie Geastraceae je velmi pečlivě vytištěna na kvalitním křídovém papíru a je opravdu reprezentativním dílem (občas vadí pouze některé tiskové chyby). K této přínosné knize lze autorovi i vydavateli jen co nejujmavněji blahopřát.

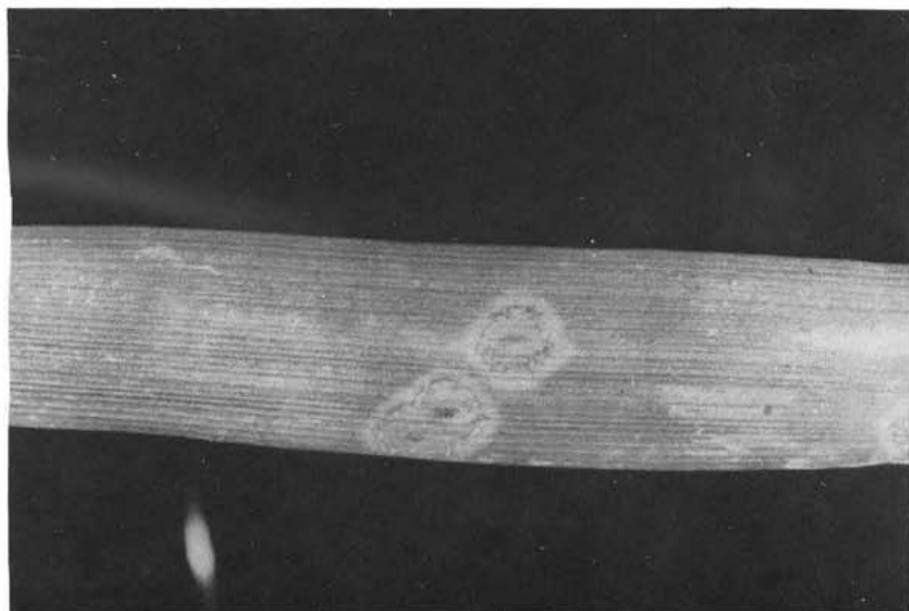
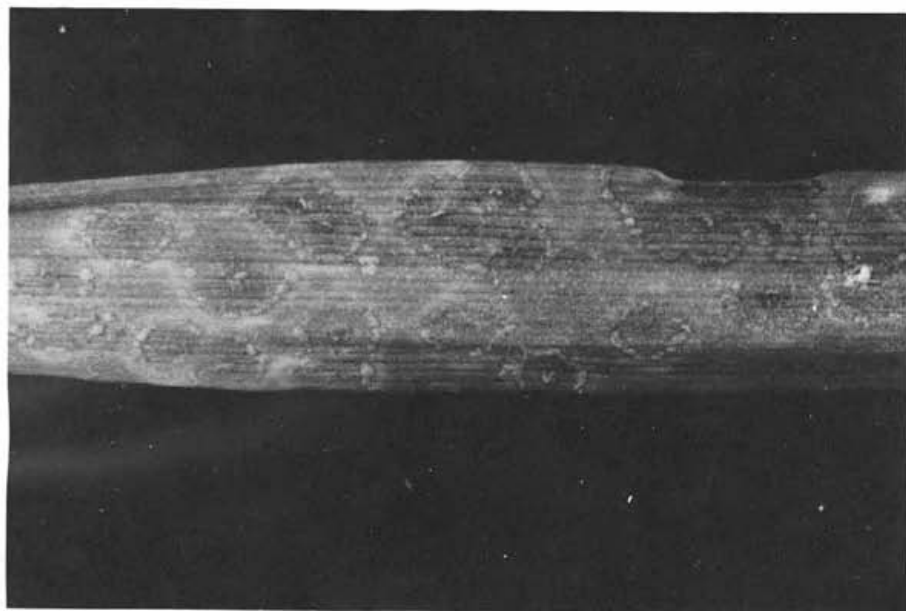
František Kottaba a Zdeněk Pouzar

---

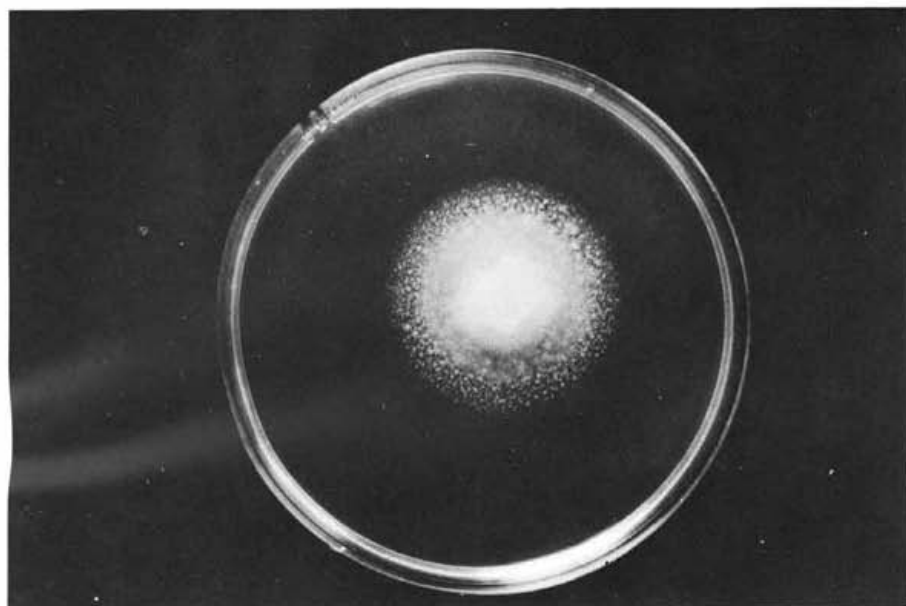
ČESKÁ MYKOLOGIE — Vydává Čs. vědecká společnost pro mykologii v Akademii, nakladatelství ČSAV, Vodičkova 40, 112 29 Praha 1. — Redakce: Václavské nám. 63, 115 79 Praha 1, tel.: 26 94 51 — 59. Tiskne: Tiskařské závody, n. p., závod 5, Sámova 12, 101 46 Praha 10. — Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT Kafkaova 19, 160 00 Praha 6, PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru č. 2, 656 07 Brno, PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice a dovoz tisku Praha, administrace vývozu tisku, Kovpakova 26, 160 00 Praha 6. Návštěvní dny: středa 7.00—15.00 hodin, pátek 7.00—13.00 hodin. Cena jednoho čísla Kčs 10,—, roční předplatné (4 sešity) Kčs 40,—. (Tyto ceny jsou platné pouze pro Československo.) — Distribution right in the western countries: Kubon & Sagner, P. O. Box 34 01 08 D-800 München 34, GFR. Annual subscription: Vol. 44, 1990 (4 issues) DM 124,— excl. postage.

Toto číslo vyšlo v listopadu 1990.

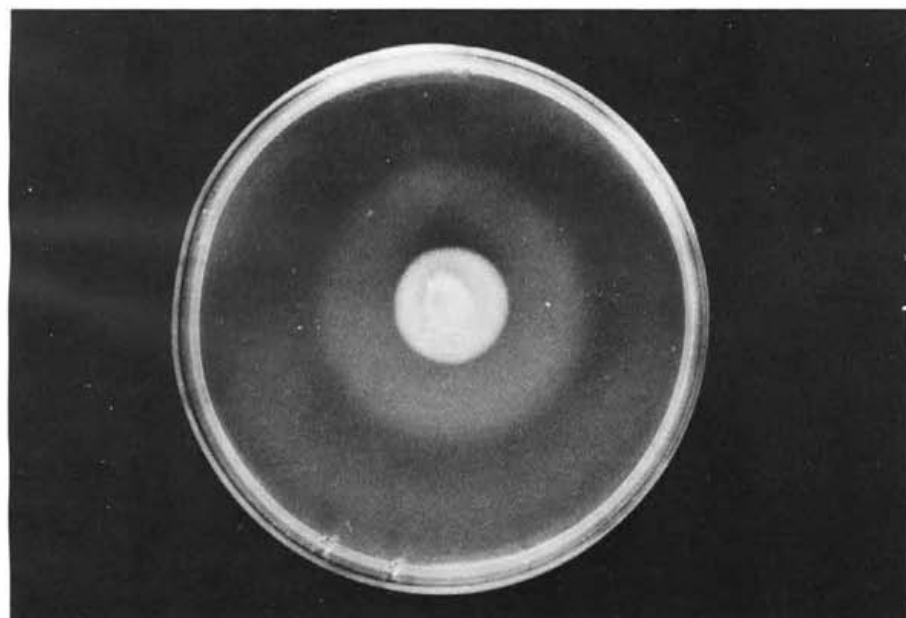
© Academia, Praha 1990.



1. a 2. Prstěncovité uspořádání uredií rzi pšeničné (*Puccinia persistens* var. *tritici*) na čepelích pšenice.



1. Lipase activity (Tween 80) of *Flammulina ononidis* — flake like zone.



2. Lipase activity (Tween 80) of *Gymnopilus hybridus* — milky opaque zone.

Redakce časopisu přijímá jen rukopisy vyhovující po stránce odborné i formální. Pfiispěvatelé necht se řídit pfi přípravě rukopisů těmito pokyny.

1. Český nebo slovensky psaný článek začíná českým nebo slovenským nadpisem, pod nímž se uvede překlad nadpisu v některém ze světových jazyků, a to ve stejném jako je abstrakt (popř. souhrn na konci článku). Pod nadpisem následuje plné křestní jméno a pfiimení autora (autorů) bez akademických titulů a bez místa pracoviště. Články psané v cizím jazyce musí mít český nebo slovenský podtitul a abstrakt (popř. souhrn).

2. Původní práce musí být opatřeny pod jménem autora (autorů) krátkým abstraktem ve dvou jazycích, a to na prvním místě v jazyku, v jakém je psaný článek. Abstrakt, který stručně a výstižně charakterizuje výsledky a pfiinos práce, nesmí pfiisahovat 15 řádek strojopisu (v každém jazyku).

3. U důležitých a významných článků doporučuje se pfiipojit kromě abstraktu ještě podrobnější souhrn na konci práce, a to v téže jazyce, v kterém je abstrakt (a v odlišném než je článek); rozsah souhrnu je omezen na 2 strany strojopisu.

4. Vlastní rukopis, tj. strojopis (30 řádek na stránku po 60 úhozech na řádku, nejmýše s 5 opravenými pfieklipy, škrty nebo vpisy na stránku), musí být psán černou páskou a normálním typem stroje (ne „perličkou“); za každým interpunkčním znaménkem (tečkou, dvojtečkou, čárkou, středníkem) se dělá mezera. Pfi uvádění makro- a mikroznaků se pfidržujte tohoto vzoru: (8-110,5-12(-13,5) x 4-5 μm (mezery jsou pouze pfi a za znaménkem „x“) a pfi zkratkou mfy: jen v angličtině se dělají tečky místo desetinných čárek). Nepfi pouštíte se psaní nadpisů a autorských jmen velkými písmeny, prostrkávání písmen, podtrhávání nadpisů, slov či celých vět v textu apod. Veškerou typografickou úpravu rukopisu pro tiskárnu provádí redakce sama. Autor může označit tužkou po straně rukopisu části, které doporučuje vyciit drobným písmem (petitem) nebo podtrhnout pferušovanou čarou části vět, které chce zohraznit.

5. Literatura je citována na konci práce, a to každý záznam na samostatném řádku. Je-li od jednoho autora citováno více prací, jeho jméno se vždy znovu celé vypisuje, stejně jako citace zkratky opakujícího se časopisu (nepoužíváme „ibidem“). Jména dvou autorů spojujeme latinskou zkratkou et; u prací se třemi a více autory se cituje pouze první autor a pfiipojí se et al. Za pfiimením následuje (bez čárky) zkratka křestního jména (první písmeno s tečkou), pak v závorce letopočet vyjítí práce, za závorkou dvojtečka a za ní název článku nebo knihy (nikoli podtitul); po tečce za názvem je pomíčka, celkový počet stran knihy a místo vydání. U vědeckých knižních publikací uvádíme pfied pomíčkou číslo dílu pomocí zkratky vol. (= volumen), pokud není číslo dílu součástí titulu knihy. Stránky knihy citujeme se zkratkou p. (= pagina). U citování prací z časopisů následuje po pomíčce název časopisu (kromě jednoslovných se užívá zkratk), dále číslo ročníku (bez vypisování roč. vol., Band apod.), pak následuje dvojtečka a citace stránek celkového rozsahu práce.

6. Pravidla citování literatury, jakož i seznam vybraných periodik a jejich zkratk jsou zahrnuty v publikacích, které vyšly jako pfiilohy Zpráv Čs. botanické společnosti pfi ČSAV - Zpr. Čs. Bot. Společ., Praha, 13 (1978), append. 1: 1-85, et 14 (1979), append. 1: 1-121. (Tyto publikace lze zakoupit v sekretariátu Čs. botanické společnosti, Benátská 2, 128 01 Praha 2.)

7. Pfi citování ročníků časopisů nebo dílu knihy používáme jen arabské číslice.

8. Druhové latinské názvy se pfiší s malým písmenem, i když je druh pojmenován po některém badateli, pfičímž háčky a čárky se vypouštějí (např. *Sclerotinia veselyi*, *Geastrum smardae*).

9. Pfi uvádění dat sběrů pfišeme měsíce výhradně římskými číslicemi (2. VI. 1982).

10. Pfi citování herbářových dokladů uvádějí se zásadně mezinárodní zkratky herbářů (viz Index herbariorum 1981; např. BRA - Slovenské národní muzeum, Bratislava; BRNM - botanické odd. Moravského muzea, Brno; BRNU - katedra biologie rostlin pfirod. fakulty UJEP, Brno; PRM - mykologické odd. Národního muzea, Praha; PRC - katedra botaniky pfirod. fakulty UK, Praha). Soukromé herbáře citujeme nezkráceným pfijmením majitele (např. herb. Herink) a stejně nezkracujeme herbáře ústavů bez mezinárodní zkratky.

11. Pfi popisování nových taxonů nebo nových kombinací autorů se musí pfidržovat zásad posledního vydání mezinárodních nomenklatorických pravidel - viz Holub J. (1968 et 1973): Mezinárodní kód botanické nomenklatury 1966 a 1972. - Zpr. Čs. Bot. Společ., Praha, 3, append. 1, et 8, append. 1; týká se to pfievším uvádění typů a správné citace basionymu.

12. Adresa autora nebo jeho pracoviště se uvede až na konci článku pod citovanou literaturou.

13. Ilustrační materiál (kresby, fotografie) k článkům se čisluje průběžně u každého článku zvlášť, a to arabskými číslicemi (bez zkratk obr., fig., apod.) v tom pořadí, v jakém má být uveřejněn. Fotografie musí být dostatečně kontrastní a ostré, perokresby (tuší) nesmí být pfiliš jemné; všude je třeba uvádět zvětšení. Text k ilustracím se pfiše na samostatný list.

14. Separáty prací se tisknou na účet autora; na sloupcovou korekturu autor poznamená, žádá-li separáty a jaký počet (70 kusů, v jimečně i více).



Part 3 was published on the 22th October 1990

Cena Kčs 10,—

48 238

## ČESKÁ MYKOLOGIE

The journal of the Czechoslovak Scientific Society for Mycology, formed for the advancement of scientific and practical knowledge of the fungi.  
P. O. Box 106, CS — 111 21 Praha 1

Vol. 44

Part 4

November 1990

### CONTENTS

P. Fragner et P. Miřejovský: Key to histological identification of causative agents in systemic mycoses IV . . . . .	193
J. Klán et D. Baudišová: Enzyme activity of mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (Basidiomycotina). I. Methods of hydrolases estimation . . . . .	203
J. Klán et D. Baudišová: Enzyme activity of mycelial cultures of saprotrophic macromycetes (Basidiomycotina and Ascomycotina). II. Methods of oxidoreductases estimation . . . . .	212
J. Klán: Lignin test — its mycotoxicological and chemotaxonomical significance . . . . .	220
J. Klán et D. Baudišová: Toxicity of <i>Amanita phalloides</i> (Fr.) Link in a vinegar brine . . . . .	224
F. Kotlaba et Z. Pouzar: Type studies of polypores described by A. Pilát — III. . . . .	228
J. Vlasák: <i>Antrodiella citrinella</i> — nový choroš pro ČSFR . . . . .	238
O. Fassatiiová et M. Pěčková: <i>Sagenomella bohemica</i> Fassatiiová et Pěčková sp. n. (Moniliales) . . . . .	240
J. Benada: Less common symptoms of cereal diseases by two parasitic fungi . . . . .	243
V. Šašek: Sexagenario RNDr. Anastázie Ginterová, CSc., ad asludem! . . . . .	244
S. Šebek et C. Paulech: Bedeutsame Gedenkstage unserer Vereinsmitglieder im Jahre 1990 . . . . .	250
References . . . . .	249, 253, 254, 255
With black and white photographs:	
XI. <i>Puccinia persistens</i> var. <i>triticea</i> (Erikss.) Urb. et Mark.	
XII. Lipase activity of <i>Flammulina ononidis</i> and <i>Gymnopilus hybridus</i> .	