

ČESKOSLOVENSKÁ VĚDECKÁ SPOLEČNOST PRO MYKOLOGII PŘI ČSAV

SEKCE PRO STUDIUM MIKROSKOPICKÝCH HUB V ČSSR

PROBLEMATIKA A METODIKA DETERMINACE NĚKTERÝCH SKUPIN MIKROSKOPICKÝCH HUB

Sborník referátů, přednesených na seminářích sekce pro studium mikroskopických hub v ČSSR ČS. vědecké společnosti pro mykologii při ČSAV ve dnech 8. 2. 1988 a 8. 2. 1989 v Praze

Redaktor: Karel Prášil

PRAHA 1990

Československá vědecká společnost pro mykologii při ČSAV

Sekce pro studium mikroskopických hub v ČSSR

Problematika a metodika determinace některých skupin
mikroskopických hub

Sborník referátů, přednesených na seminářích sekce
ve dnech 8. 2. 1988 a 8. 2. 1989 v Praze

Redaktor: Karel Prášil

Praha 1990

Problematika a metodika determinace některých skupin mikroskopických hub.

Sborník referátů, přednesených na seminářích sekce pro studium mikroskopických hub v ČSSR Čs. vědecké společnosti pro mykologii při ČSAV ve dnech 8. 2. 1988 a 8. 2. 1989 v Praze.

Obsah

Morfologická stavba hyfomycetů, konidiogeneze a užívaná terminologie (V. Holubová-Jechová)	1
Metodika a problematika určování zástupců rodu <i>Penicillium</i> (O. Fassatiová)	28
Metody a principy determinace staurosporních a skolekosporních hyfomycetů (L. Marvanová)	34
Několik poznámek k určování imperfektních hub rodů <i>Alternaria</i> a <i>Drechslera</i> (M. Ondřej)	43
Poznámky k určování zástupců rodu <i>Cladosporium</i> (K. Prášil)	58
Metodika izolace a determinace půdních hyfomycetů (A. Řepová)	68
Systematika, morfologie a určovací klíče řádu <i>Mucorales</i> (M. Váňová)	71

Morfologická stavba hyfomycetů, konidiogeneze a užívaná terminologie

Věra Holubová-Jechová

Botanický ústav ČSAV, 252 43 Průhonice u Prahy

Vegetativní mycelium u hyfomycetů je tvořeno válcovitými hyfami, jejichž stěny uzavírají většinou mnohojaderný protoplast, který neustále ukládá materiál na novou stěnu v rostoucím vrcholku hyfy. Hyfy mají diskovité přehrádky většinou s jedním pórem uprostřed. U širokých tmavě zbarvených hyf nebo u konidií je někdy tento centrální pór v přehrádkách dobře patrný i ve světelném mikroskopu. Většinou je však centrální kanálek v přihrádce jemný, velmi těžko prokazatelný (i v elektronovém mikroskopu). Úplné přehrádky (bez pórů) se také tvoří, např. na basi fialokonidií u některých hyfomycetů se vztahem k askomycetům, ale i na basi některých sympodiálně se tvořících holoblastických konidií. Setkáváme se i s přehrádkami s mnoha póry, např. u přehrádek zapojených přímo do konidiogeneze u *Geotrichum candidum* (přehrádky u vegetativních hyf tohoto druhu mají však jen 1 pór). Hyfy hyfomycetů postrádají přezky, které jsou charakteristické pro velkou část basidiomycetů, vyjma těch, které mají blízký vztah k jmenované skupině hub (např. *Haplotrichum medium* anamorfa od *Botryobasidium medium*, *Ingoldiella hamata* anamorfa od *Sistotrema* sp.). Hyfy mycelia u hyfomycetů mohou být velmi úzké až velmi široké, tenkostěnné i tlustostěnné, bezbarvé i tmavě pigmentované.

Hyfy, které nesou konidie, jsou nazývány konidiofory. Konidiofory jako část houbového těla jsou velmi variabilní, mění se i během ontogeneze houby, často velmi podstatně. Zpočátku může být konidiofor jen nepatrnou buňkou, ale postupnou tvorbou konidií se prodlužuje nebo i bohatě až stromečkovitě rozvětluje. Nejpřijatelnější definice konidioforu je od

Pirozynského (1971) - konidiofor je konidiogenní buňka nebo systém konidiogenních buněk se zřetelnými podpůrnými strukturami nebo bez nich. Jako konidiogenní buňku označujeme takovou buňku, která je zapojena přímo do konidiogeneze; je to buňka, která produkuje konidii, a to buď vně nebo uvnitř, která je morfologicky odlišná od obyčejných podpůrných buněk, konidioforů nebo hyf. Konidiogenní buňka, zvláště ta její funkční část, která se úzce podílí na tvorbě a uvolnění konidie je hodnocena jako významný znak pro klasifikaci.

U konidiogenních buněk lze rozlišit 3 různé typy: 1) konidiogenní buňka ukončená (determinátní) - ukončuje svůj růst vytvořením terminální blastické konidie (*Humicola*, *Acremoniella*) nebo řetízku konidií (*Torula*); 2) konidiogenní buňka retrogresivní - zkracuje se postupnou tvorbou konidií; 3) konidiogenní buňka proliferující - prodlužuje se postupnou tvorbou konidií.

V případě, že zřetelný konidiofor se nevytváří, tzn., že podpůrné buňky nebo podpůrné hyfy chybí, mluvíme o mikronematosním konidioforu. Pak je konidiogenní buňka buď vtělená (integrated) do hyfy a její postavení může být interkalární nebo terminální, anebo je konidiogenní buňka (nebo soubor konidiogenních buněk) zřetelně oddělená (discrete) a její umístění je terminální nebo postranní na hyfě nebo na nějaké vegetativní struktuře (stroma) nebo reprodukivní struktuře (askospora). V případě, že konidiogenní buňka proliferuje, ať už jde o perkurentní nebo sympodiální proliferaci (s následnou nebo bez následné tvorby přehradek), vytvořený konidiofor může být označován jako semimakronematosní. Takto označujeme konidiofory plazivé, vyjímečně nepatrně vystoupavé, nesoucí jednu nebo více konidiogenních buněk. Jako makronematosní konidiofory označujeme ty, které jsou přímé, jejichž konidiogenní buňky jsou nesené sterilními podpůrnými hyfami, často rozmanitě větvenými, tvořícími určité struktury. Taxonomové hodnotí rozma-

nitě větvení konidioforů jako užitečný diagnostický znak pro druh nebo i rod nebo pro určitou vnitrorodovou skupinu (např. u rodu *Penicillium* charakteristické větvení konidioforů je určujícím znakem pro sekce *Monoverticillata*, *Biverticillata*, *Symmetrica* a *Asymmetrica*).

Sympodiální proliferací (fig. 1) označujeme ten typ prorůstání konidiogenní buňky nebo konidioforu, kdy po vytvoření konidie se růst ve směru hlavní osy zastaví, konidiogenní buňka se začne prodlužovat pod konidií k jedné straně a po vytvoření nové konidie se růstový proces opakuje. Výsledkem může být i zcela zřetelné zig-zag prodloužení; někdy se může takto prodloužená konidiogenní buňka nebo konidiofor vyrovnávat ve směru hlavní osy postranním umístěním jednotlivých konidií. Perkurentní proliferací označujeme ten typ prorůstání konidiogenní buňky nebo konidioforu, kdy růst probíhá vrcholem konidiogenní buňky pouze ve směru osy konidiogenní buňky (fig. 2).

Konidie je specializovaná, nepohyblivá, asexuální propagule. Zralá konidie se od konidiogenní buňky odděluje různými způsoby. Způsob rhexolytický (fig. 3b) bývá zprostředkovan křehkou drobnou buňkou vtělenou mezi konidiogenní buňku a konidii, jejíž tenká stěna se lehce rozlomí nebo úzkým prstencem v horní části konidiogenní buňky, jehož stěna se rozpouští enzymatickou aktivitou. Způsob schizolytický (fig. 3a) představuje uvolnění konidie rozpouštěním dvojité přehrádky na basi konidie. Stává se však, že konidie jsou vytvářeny na takovém jemném spojení s vlastní konidiogenní buňkou, že není potřeba k jejich uvolnění žádného zvláštního mechanismu.

Procesy, jakými se konidiogenní buňky a konidie vyvíjejí a konidie uvolňují jsou považovány mykology za znaky velkého významu pro klasifikaci hyfomycetů (též pro klasifikaci coelomycetů). Poprvé Hughes v roce 1953 navrhnul kompletní roztrí-

dění hyfomycetů do 8 skupin na základě různých typů konidioforů, konidiogenních buněk a vývoje konidie. Jeho práce stimulovala mnoho ostatních k vypracování vylepšeného třídění na základě detailnějšího průzkumu konidiogeneze u některých druhů. 35 let pokračuje výzkum v tomto směru a v posledním desetiletí je úspěšně využíváno studia jemných ultrastruktur. Výsledkem je rozlišování tří rozdílných způsobů konidiogeneze jakými se konidie na konidioforu tvoří: holoblastický, entero-blastický a thalický.

Holoblastická konidiogeneze je způsob ontogeneze konidie, při které všechny vrstvy stěny konidiogenní buňky se účastní při tvorbě stěny konidie, tzn., že vnější i vnitřní stěna konidiogenní buňky se podílí na tvorbě stěny konidie. Setkáváme se však s celou řadou kombinací základních znaků, jako je vlastní vývoj konidiogenní buňky, uspořádání konidií a způsob oddělování konidie.

Jedním z velmi častých typů konidiogeneze je způsob sympodiálně holoblastický (např. u *Tritirachium*, *Acrodontium*) (fig. 1). Prvá konidie se vytváří vždy holoblasticky. Konidiogenní buňka se pak prodlouží v místě pod vzniklou konidií, přičemž osa růstu směřuje trochu stranou. Tento proces se několikrát opakuje, konidiogenní buňka se prodlužuje (často zřetelným zig-zag způsobem) a je schopna tak vytvářet velké množství konidií.

Užití elektronových mikroskopů a časované kamery ukázalo, že typy konidiogeneze dříve označované jako fialidické jsou svým způsobem konidiogeneze blastické. Cole a Samson (1979) studovali pomocí elektronového mikroskopu proces konidiogeneze druhu *Trichoderma saturnisporum* (fig. 5). Prvá konidie se vytvoří holoblasticky, odpadne a zanechá postranní část vnější stěny konidiogenní buňky jako límeček. Druhá i všechny následující konidie se vytváří v místě po odpadlé prvé konidii, uvnitř vzniklého límečku. Vnější stěna konidiogenní buňky se dále již neúčastní na tvorbě následujících konidií.

Každá další konidie odvozuje svou vnější stěnu ze stejné vrstvy, z jaké byla tvořena vnitřní stěna konidie předcházející. Konidiogenní buňka při svém vrcholku vytvoří novou vnitřní stěnovou vrstvu při produkci každé nové konidie. U vrcholku konidiogenní buňky se pak tvoří charakteristické periklinální ztluštění (fig. 4). Tento typ konidiogeneze je jeden z nejhojněji se vyskytujících, u velké většiny druhů s tzv. fialidickou konidiogenezí. Tento typ se značně liší od holoblastické konidiogeneze a je označován jako enteroblastický a konidiogenní buňky jako fialidy. Kendrick (1971) definoval enteroblastickou konidiogenezi jako způsob ontogeneze blastické konidie, při kterém vnější vrstva stěny konidiogenní buňky není zapojena do tvorby stěny konidie. Pozdější definice Suttona (1980) naopak charakterizuje tento proces jako způsob ontogeneze blastické konidie, kdy pouze vnitřní stěna konidiogenní buňky přispívá k vytvoření stěny konidie.

Jiný způsob enteroblastické konidiogeneze je způsob ontogeneze konidie tretické (porokonidie, porospora), při které se pouze vnitřní stěna konidiogenní buňky účastní na tvorbě stěny konidie, a stává se vnější stěnou vyvinuté konidie. Konidie se vytvoří vypučením skrze jemný kanálek ve vnější stěně konidiogenní buňky nebo konidioforu (fig. 6). Kanálek se vytváří zřejmě enzymaticky. Tento typ konidiogeneze byl potvrzen užitím elektronového mikroskopu, např. u *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Ulocladium* a j. Rozlišujeme konidiogenní buňky monotretické, mající pouze jediný kanálek (*Deightoniella*, *Corynespora*) a konidiogenní buňky polytretické, které produkují porokonidie pomocí většího počtu kanálků ve stěně (*Helminthosporium*, *Spadicoides*) (fig. 7). *Corynespora* a *Stemphylium* mají monotretické konidiogenní buňky, které jsou vtělené (integrované), terminální a perkurentně proliferují. U *Spondylocladiella* jsou monotretické konidiogenní buňky oddělené (diskretní), a to terminální i postranní a v růstu ukončené (determinátní). U *Helminthosporium* a *Spadicoides*

(fig. 7) jsou polytretické konidiogenní buňky vtělené, a to jak terminální, tak i interkalární a obyčejně jsou ukončené. Polytretické konidiogenní buňky jsou u rodů *Alternaria*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Dendryphiella*, *Ulocladium* a většinou dále sympodiálně proliferují a produkují konidie jednotlivě nebo v akropetálních řetězcích.

Při enteroblastické konidiogenezi dochází někdy k nepatrnému zkracování, jindy naopak k prodlužování konidiogenní buňky, což je někdy patrné i ve světelném mikroskopu, někdy však je těžko rozeznatelné v elektronovém mikroskopu. Např. u *Scopulariopsis brevicaulis* (fig. 9) se při tvorbě každé následné konidie konidiogenní buňka trochu protahuje, takže jizva po odpadnutí konidii se při bočním pohledu jeví jako slabý lem na povrchu konidiogenní buňky. Takové konidiogenní buňky, které mají u horního okraje vrstvu prstenců (lemů) označujeme jako annelidy (fig. 8). U mnoha případů je však prodlužování konidiogenní buňky větší a okraje jizev po jednotlivých konidiích jsou vzdálené, netvoří se zřetelné prstence při vrcholku konidiogenní buňky, ačkoliv se jedná o typické annelidy (fig. 2) (např. u rodů *Endophragmiella*, *Stigmina*). U druhů rodu *Acrogenospora* je prodloužení tak dlouhé, že po oddělení konidie se vytvoří i přehrádka oddělující konidiogenní buňku od nové konidie, a další nově vyvíjející se konidie vznikne již holoblastickým procesem (celá stěna konidiogenní buňky se podílí na tvorbě konidie).

Mykologové dlouho kladli důraz na rozdíl mezi holoblasticko-sympodiálním způsobem vývoje konidií a procesem enteroblastickým, kdy konidie jsou tvořeny z fialid nebo annelid. Jasný rozdíl mezi oběma procesy byl zcela narušen výsledky detailního sledování vývoje konidií u druhů rodu *Pseudospiropes*. U těchto se prvá konidie vytvoří holoblasticky. Konidiogenní buňka se pak začne pod konidií protahovat sympodiálním způsobem trochu ke straně a vnitřní stěna prorazí vnější stěnu; konidiogenní buňka se protáhne a dá vznik nové

konidii procesem enteroblastickým. Uvedený případ konidiogeneze u rodu *Pseudospiropes* a u mnoha jiných rodů představuje přechodný typ mezi konidiogenezí holoblasticko-sympodiální a enteroblasticko-annelidickou.

Poznání různých přechodných typů u konidiogeneze holoblastické a enteroblastické, ale i tretické, vedlo mykology k poznání, že užívané, zdánlivě přesně definované termíny, které byly chápány pro určitý tvar nebo způsob prorůstání konidiogenní buňky, již nestačí k vyjádření široké rozmanitosti, s kterou se můžeme při sledování konidiogeneze setkávat. Pro přesné definování určitého typu konidiogeneze je nutné poukázat na jednotlivá stadia ontogeneze konidie, při kterých je produkována stěna konidie. Minter, Kirk a Sutton (1982) vymezili 5 rozdílných stadií vývoje v procesu vytváření konidie konidiogenní buňkou:

- 1) ontogeneze konidie (vlastní vytvoření konidie);
- 2) ohraničení konidie - pochody, jejichž výsledkem je utvoření přehrádky pod konidií;
- 3) odpadnutí konidie - způsob, kterým se konidie oddělují;
- 4) proliferace - způsob, kterým konidiogenní buňka prorůstá nebo se modifikuje pro další tvorbu konidie či pro vytvoření nové konidiogenní buňky;
- 5) regenerace - způsob opětovného vytvoření funkční konidiogenní buňky, nebo nahrazení novou funkční konidiogenní buňkou.

Sledujeme-li detailně jednotlivá stadia ontogeneze konidie a konidiogenní buňky (ne všechna stadia musí být vždy zastoupena), vidíme, že proliferace často probíhá enteroblasticky, i když všechny ostatní procesy jsou holoblastické (např. u *Cladobotryum varium* (fig. 10 a 11), jiný typ je u *Chloridium virescens* a *Cacumisporium capitulatum*). U některých druhů rodu

Chloridium a *Cacumisporium* první konidie enteroblasticky prorazí vnější vrstvu na vrcholku konidiogenní buňky, vnitřní stěna konidiogenní buňky se trochu protáhne uvnitř vzniklého límečku, někdy i nad límeček a na jejím vrcholku se tvoří postupně, někdy i zřetelně přisedle konidie, které Hammill (1972) označuje jako sympodulofialidy, Sutton (1980) jako perkurentně proliferující fialidy. Tento typ konidiogeneze je považován za fialidický.

U enteroblastické konidiogeneze se často stává, že konidiogenní buňka má najednou dvě nebo více současně aktivních konidiotvorných míst, např. u *Dictyochaeta* (= *Codinaea*) *simplex*, *Phialophora geniculata*, *Polypaecilum* sp. Takové konidiogenní buňky označujeme jako polyfialidy a jsou charakteristické dvěma nebo více zřetelnými límečky.

Detailní studium konidiogeneze, jak v elektronovém mikroskopu na řezech, tak i studium následnosti v rastrovacím mikroskopu, ukázalo i zajímavé rozdíly v tvorbě řetízků konidií. Konidiogenní buňky typu fialid jsou schopny vytvářet dva rozdílné typy konidií;

- 1) konidie netvoří řetízky, shlukují se v lepkavých masách nebo tvoří řetízky nepravé (falešné) (fig. 13b, c), kdy konidie drží při sobě pouze přilnavostí lepkavého povrchu, ať už jedna na vrcholku druhé, nebo nepatrně bočně posunutá (tzv. sklouznuté řetízky - u *Mariannea elegans*) nebo v provazcích (tzv. cirrhi - u *Chloridium* a *Gonytrichum*);
- 2) konidie uspořádané v pevných pravých řetízcích, kde konidie drží pohromadě návazností stěny (fig. 13a). Konidiogenní buňky tvořící pravé řetízky mohou produkovat velké množství konidií bez proliferace, zatímco ty co tvoří nepravé řetízky většinou nemohou produkovat více než jednu konidii bez nějaké, byť i sebenepatrnější proliferace mezi tvorbou každé následné konidie.

Poznatky ze studia při užití elektronového mikroskopu přivedly mykology Mintera, Kirga a Suttona (1983) na myšlenku, že rozmanitost v konidiogenezi a tvorbě řetízků konidií je způsobována třemi různými typy růstové aktivity a jejich různým zapojením do tvorby buněčné stěny konidie. Tito autoři rozeznávají:

- 1) apikální růstovou aktivitu - aktivní bod stavby je soustředěn na vrcholek (apical wall building); organely podporující růst se soustřeďují ve vrcholku konidiogenní buňky, která je charakterizována sympodiálním růstem, annelidickými prstenci nebo periklinálním tloustnutím na vrcholku;
- 2) difúzní růstovou aktivitu (diffuse wall building) - neboli rozptýlená stavba stěny, nikdy není spojena s nějakou koncentrací cytoplasmatických organel a je charakterizována kulatými nebo soudečkovitými tvary u konidií;
- 3) prstěncovou růstovou aktivitu (ring wall building) - účastní se při tvorbě pravých řetízků s nejmladší konidií u báze a při konidiogenezi, kdy délka konidiogenní buňky se nemění.

Minter, Kirk a Sutton (1983) navrhují zavedení termínů "pravé řetízky" a "nepravé řetízky" (nebo "falešné řetízky") konidií a řetízky "s konektivy" a "bez konektivů" pro přesnější morfologické hodnocení vytvářených konidií. (Konektivy (= disjunktory) jsou můstky spojující sousední konidie v řetízku; bývají tvořeny malou buňkou nebo zesílenou stěnou konidie.) Nepravé řetízky bez konektivů (fig. 13b) tvořené fialidami vidíme u *Mariannaea elegans* nebo tvořené annelidami u *Scopulariopsis brevicaulis*; pravé řetízky bez konektivů tvořené uvnitř fialid můžeme pozorovat u rodu *Chalara*, nebo tvořené sympodiálním přemísťováním vrcholové růstové aktivity u *Trichothecium roseum*, anebo tvořené jednoduchým retrogresivním ohraničením konidií u *Basipetospora rubra*; pravé

řetízky s konektivy (fig. 13a) tvořené prstencovou aktivitou při vrcholku fialidy lze produkovat u *Aspergillus*.

Jakým způsobem tvorba stěny probíhá, můžeme usoudit i při použití světelného mikroskopu. Minter, Kirk a Sutton (1983) objasnili různé typy růstové aktivity na několika běžných druzích.

U druhu *Cladobotryum varium* (fig. 10 a 11) se opakuje sled holoblastické konidiální ontogeneze, s retrogresivním ohraničením konidie, pak následuje enteroblastická perikurenční proliferace; konidiogenní buňka se stává kratší sledem vytvářených konidií; konidie netvoří řetízky, ale hromadí se v lepkavých masách. U *C. varium* probíhá konidiogeneze enteroblastická, nelze ale rozlišit, zda je to konidiogeneze fialidická nebo enteroblasticko-annelidická, je však jasné, že jde o vývoj, kdy apikální růstová aktivita stavby stěny se neustále přemísťuje na vrchol konidiogenní buňky.

U druhu *Trichothecium roseum* (fig. 16) se opakuje sled holoblastické konidiální ontogeneze, s retrogresivním ohraničením konidie přehrádkou, při čemž následuje vždy enteroblastická sympodiální proliferace (fig. 14). Konidiogenní buňka se zřetelně stává kratší sledem vytvářených konidií basipetální následností a vytvořené konidie jsou v pravých řetízcích, drží pohromadě svou vnitřní a vnější stěnou. Tato konidiogeneze je enteroblastická; orgány podporující růst se soustřeďují na vrcholku konidiogenní buňky a po odpadnutí konidie se opět na vrcholku konidiogenní buňky aktivizují.

U druhu *Basipetospora rubra* se první konidie vytvoří holoblasticky, ale neodpadá (fig. 15). U konidiogenní buňky dochází ke ztrátě aktivity vrcholového růstu a nastupuje difúzní růstová aktivita buněčné stěny (není spojena s koncentrací cytoplasmatických organel). Vývoj druhé konidie probíhá v horní části konidiogenní buňky, která pod přehrádkou naduří do všech stran a vytvořením přehrádky oddělí novou

konidii. Tento proces se opakuje, konidie zůstávají připevněny a konidiogenní buňka se zkracuje každou vytvořenou konidií; ohraničování konidií je retrogresivní. Vytváří se pravé řetízky, které drží pohromadě stěnou. Tato konidiogeneze je kvalifikována jako blastická.

Autoři (Minter, Kirk a Sutton 1983) navrhli pro stadium, které je charakteristické difúzní růstovou aktivitou buněčné stěny termín konidiové zrání (conidial maturation). Podle nich konidiální zrání představuje proces, v kterém se konidie vytváří difúzní stavbou stěny; tento proces se může shodnout, spolupůsobit nebo následovat vlastní ontogenezu konidie. Při tvorbě konidií mohou být zastoupeny oba typy stavby stěny, aplikální i difúzní, a podle tvaru konidií lze vydedukovat, který z nich převládá. Difúzní dává vznik konidiím kulatým nebo soudečkovitým, aplikální aktivita naproti tomu vznik konidií cylindrickým.

Při detailním pozorování konidiogeneze druhů *Chalara* v elektronovém mikroskopu, byl prokázán odlišný způsob stavby, pojmenovaný výše zmíněnými autory jako prstěncový, při němž se sekreční orgány podporující růst stěny rozmisťují do prstence (fig. 17). U druhů rodu *Chalara* je aplikální růstovou aktivitou vytvořena konidiogenní buňka. Po zastavení této aktivity se postupně vytvoří její vnitřní stěna a během stadia ohraničování konidie se retrogresivně vymezi konidie. Po té následuje aktivita prstěncového růstu. Vnější stěna konidiogenní buňky se na vrcholku prorazí, uvolní se nejhořejší konidie a odnese sebou vršek konidiogenní buňky. Prstěncovou růstovou aktivitou se pak postupně vytváří pravý řetízek konidií. Konidie se vymezují retrogresivně a jsou vytlačovány cylindrickým límečkem, vytvořeným původní vnější stěnou konidiogenní buňky, která se na konidiogenezi nepodílí. Stadium zrání konidie u prstěncového růstu chybí. Tato konidiogeneze je kvalifikována jako enteroblasticko-fialidická.

Druh *Sagenomella striatispora* (fig. 19) byla autory vybrána jako další typ zcela odlišné konidiogeneze, při které spolupůsobí růstový prstenec společně s difúzní růstovou aktivitou stěny. Prvá konidie je vytvořena aktivitou apikálního růstu jako holoblastická a zůstává přichycena. Druhá a všechny další konidie jsou vytvořeny spolupůsobením růstového prstence a difúzní růstovou aktivitou v místě těsně pod přehrádkou předcházející konidie. Proces se opakuje a konidiové zrání od retrogresivního ohraničení přehrádkou je vždy mírně zpožděné. Konidiogenní buňka se během procesu konidiogeneze nezkracuje, dává vznik pravým řetízkům, které vytrvávají, s nejmladší konidií na spodku. V procesu není zapojena žádná enteroblastická proliferace a tento typ konidiogeneze je hodnocen jako přechodný mezi holoblastickým a fialidickým.

Výsledkem objevů z let 1976 a 1977 je též detailní poznání konidiogeneze u *Aspergillus clavatus*, která je hodnocena jako enteroblasticko-fialidická s tvorbou pravých řetízků. Prvá konidie se vytváří holoblasticky aplikální růstovou aktivitou stěny a společně s ní odchází i vnější stěna konidiogenní buňky; její zbytky přetrvávají jako čepička na prvé konidii a jako límeček při vrcholku konidiogenní buňky. Na vzniku druhé a dalších konidií se podílí aktivita růstového prstence, vznikající řetízky konidií jsou právě s nejmladší konidií u báze (fig. 12). Délka konidiogenní buňky se nemění a konidie se tvoří pomocí její vnitřní stěny. Dozrání konidií je zpožděné a je spojené se ztluštěním oddělujících přehrádek mezi jednotlivými konidii v řetízku.

K rozlišení enteroblastického způsobu konidiogeneze většinou stačí studium ve světelném mikroskopu. Důkazem je zřetelné přerušování mezi stěnou konidiogenní buňky a stěnou řetízku konidií, které signalizuje aktivitu

vnitřní stěny konidiogenní buňky.

Určitý typ konidiogeneze je většinou neměnným rodovým znakem. Výzkumy v letech 1973 - 1979 zaměřené na *Aspergillus aureolatus* odhalily však existující souvislosti mezi jednotlivými vývojovými typy konidiogeneze, dokonce mezi konidiogenezí thalickou a fialidickou a pravými řetízky konidií. Je-li totiž *A. aureolatus* kultivován za normální teploty tvoří pravé fialidické řetízky, zatím co kultivaci při 26 °C se vytváří mutant s konidiogenezí holoblastickou, s tvorbou pravých řetízků s nejmladší konidií nahoře. Stejně zjištění bylo potvrzeno u druhu *Sagenomela* (fig. 19), který je schopen produkovat jak pravé řetízky holoblasticky, tak i pravé fialidické řetízky při enteroblastické konidiogenezi.

Fialidy jako projev enteroblastické konidiogeneze bývají někdy velmi redukované, z celé fialidy zůstávají jen límečky např. na hyfách, na konidiích nebo jiných reprodukčních orgánech; tyto pak označujeme jako redukované fialidy.

U thalické konidiogeneze rozlišujeme 3 rozdílné typy na základě vzájemného vztahu buněčné stěny konidiogenní buňky a konidie.

- 1) Holothalická konidiogeneze: fertilní hyfa po ukončení růstu vymezení přehrádkou konidiogenní buňku, která v horní části difúzní růstovou aktivitou naduří a přehrádkou se vymezení konidie. Difúzní růstovou aktivitou se začnou ukládat látky a vytvoří se vnitřní stěna; následné vytvoření vnitřních přihrádek představuje stadium konidiálního zrání, po jehož ukončení protoplasma basální buňky degeneruje, postranní stěna zkolačuje a konidie se rhexolyticky uvolní (např. u *Microsporum gypseum*) (fig. 20).

2) Thalicko -arthrická konidiogeneze: konidie se tvoří rozčleněním předem vytvořeného hyfového elementu 2 různými způsoby -

a) Holoarthrický typ: fertilní hyfa ukončí růst a následnou tvorbou přehrádek se člení na stále menší segmenty:, po zastavení přehrádkování se vytvořené konidie nepatrně zvětší tak, že konce jejich stěn jsou zřetelně konvexní a vzniklé řetízky konidií se postupně rozpadnou (např. u *Geotrichum candidum*) (fig. 18).

b) Enteroarthrický typ: fertilní hyfa ukončí růst a dojde k vytvoření přehrádek; pak následuje přeměna určitých hyfových úseků na konidie, zatím co jiné buňky postoupí autolysu. Výsledkem je fertilní hyfa, jejíž stěna uzavírá konidie se zlustlou stěnou a prázdné buňky, jejichž plasma zautolysovala. Nakonec boční stěny prázdných buněk kolabují a rozpadají se (např. u *Sporendonema purpurascens*) (fig. 21).

Thalickou konidiogenezi můžeme pozorovat např. u druhu *Oidiodendrum truncatum* (zdánlivě se podobá konidiogenezi u *Basipetospora* (fig. 22). Prvá konidie se vytvoří holo-blasticky aplikální růstovou aktivitou a po oddělení přehrádkou zůstává připevněna. Aktivita apikálního růstu se ztrácí a nepřemísťuje se. Dochází k vymezení další konidie přehrádkou retrogresivně, ale tento proces neprobíhá zcela v retrogresivní posloupnosti. Vymezení přehrádkami proběhne dříve než nastoupí difúzní růstová aktivita a stadium zrání konidie. Druhá i následná konidie jsou produkovány bez proliferace konidiogenní buňky. Vytváří se pravé řetízky, při čemž vymezené přehrádky jsou zřetelně tlustší, když konidie dozrávají a po dokončení stadia zrání konidií se objeví tzv. konektivy, v nichž se konidie oddělují schizolyticky.

Jiný příklad thalické konidiogeneze vidíme u druhu *Wallemia sebi* (fig. 23 a 24). Aplikální růstovou aktivitou stěny se vytváří konidiogenní buňka, která po zastavení růstové aktivity vytvoří vnitřní stěnu s novým aktivním vrcholkem. Vnitřní stěna prorazí vnější stěnu a výsledkem je límeček; vnitřní stěna je drsná a na vrcholku jako čepičku nese zbytek původní vnější stěny. Po krátkém čase vrcholový bod ztratí svoji aktivitu a do vývojové akce nastoupí růstový prstenec, který svojí aktivitou podporuje stadium ontogeneze konidie a vymezení konidie přehrádkou. Zapojí se i difúzní aktivita, což je vidět na dozrávání konidie. Ohraničování konidií probíhá v nepravidelném retrogresivním sledu. Když několik vytvořených konidií odpadne, aktivita růstového prstence se zastaví a nastoupí opět aktivita aplikálního růstu nové vnitřní stěny konidiogenní buňky; perkurentní proliferací se konidiogenní buňka prodlužuje. Celý proces s tvorbou dalších konidií se opakuje.

U *Wallemia sebi* a podobně u druhů rodu *Sporoschisma* a *Chalara* existují kombinace vývojových typů - mezi thalickou konidiogenezí a těmi typy konidiogenezí, jejichž fialidy tvoří pravé řetízky. Minter, Kirk a Sutton (1982) navrhli nový termín pro tento typ konidiogenních buněk, a to thalické fialidy.

Od všech tří základních typů konidiogenezí se odlišuje vývoj konidie z konidiogenní buňky označované jako "basauxic" (fig. 25). Příkladem jsou druhy rodu *Arthrinium*, u nichž se blasticky postranně na myceliu vyvine baňkovitá konidiogenní buňka a holoblasticky na ní vypučí konidie. Po její zralosti vnější stěna na krčku konidiogenní buňky praskne a vnitřní stěna se začne protahovat do krátkého nebo delšího segmentu, který se většinou tlustými přehrádkami rozčlení. Postupně se v basipetální posloupnosti na

jednotlivých úsecích, které představují nově vzniklé konidiogenní buňky, holoblasticky vyvinou nové konidie. Po mateřské konidiogenní buňce u některých rodů zůstává na hyfě zřetelný kalíšek. Konidie po dozrání odpadají schizolyticky.

Studie ultrastruktur při procesech tvorby konidií odhalily, že existují vývojové přechody mezi jednotlivými typy konidiogenezí. Klasifikace hub na základě dosud striktně rozlišovaných typů konidiogenezí není teď možná. Většina používaných termínů z hlediska nových poznatků není zcela přesně vymezena. Pod všeobecně užívaným pojmem ontogeneze konidie lze nyní rozeznávat 7 různých vývojových stadií:

konidiální ontogeneze - vlastní vytvoření konidie,
zrání konidie,
ohraničení konidie přehrádkou,
oddělení konidie - rozumí se její uvolnění a odpadnutí,
proliferace konidiogenní buňky,
regenerace konidiogenní buňky,
tvorba límečku.

Dříve užívaný termín "meristem" se doporučuje nahradit třemi různými termíny aktivního budování stěny: vrcholový, difúzní a prstěncový meristem.

Literatura:

- Cole G. T., Samson R. A. (1979): Patterns of development in conidial fungi. - London, San Francisco, Melbourne: Pitman. Pp. 190.
- Hammill T. M. (1972): Electron microscopy of conidiogenesis in *Cloridium chlamydosporis*. - *Mycologia*, Bronx, 64: 1054 - 1065.
- Hughes S. J. (1953): Conidiophores, conidia and classification. - *Canad. Journ. Bot.*, Ottawa, 31: 577 - 659.
- Kendrick W. B. /Ed./ (1971): *Taxonomy of Fungi Imperfecti*. - Univ. of Toronto Press., Toronto. Pp. 309.
- Minter D. W., Kirk P. H. et Sutton B. C. (1982): Holoblastic phialides. - *Trans. Brit. mycol. Soc.*, London, 79: 75 - 93.
- Minter D. W., Kirk P. M. et Sutton B. C. (1983): Thallic phialides. - *Trans. Brit. mycol. Soc.*, London, 80: 39 - 66.
- Pirozynski K. A. (1971): Characters of conidiophores as taxonomic criteria. - in: Kendrick W. B. /Ed./ *Taxonomy of Fungi Imperfecti*. - Univ. of Toronto Press., Toronto. Pp. 37 - 49.
- Sutton B. C. (1980): *The Coelomycetes*. - Commonwealth Mycol. Inst., Kew. Pp. 696.



Fig. 1: Schema sympodiální proliferace na příkladu sympodiálně holoblastické konidiogenese u *Tritirachium oryzae*. (Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

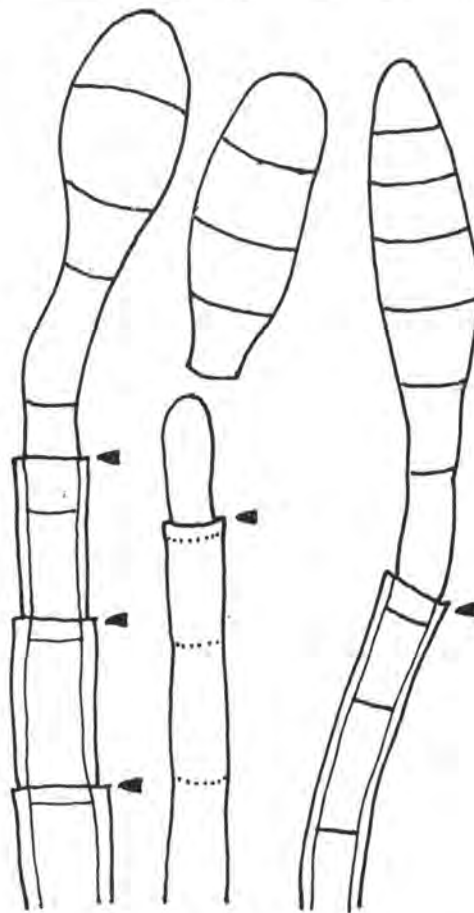


Fig. 2: *Sporidesmium ehrenbergii*
Příklad perkurentní proliferace s vytvářením annelidických prstěnců na povrchu konidioforu. (Podle Cole a Samson 1979.)

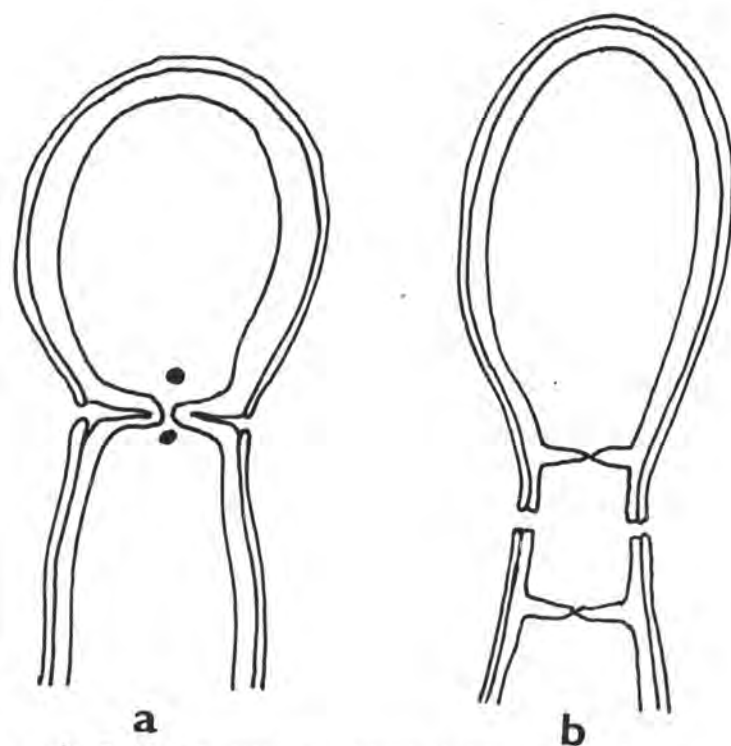


Fig. 3: a) Schema schizolitického uvolňování konidie.
b) Schema rhexolytického uvolňování konidie.
(Podle Cole a Samson 1979.)

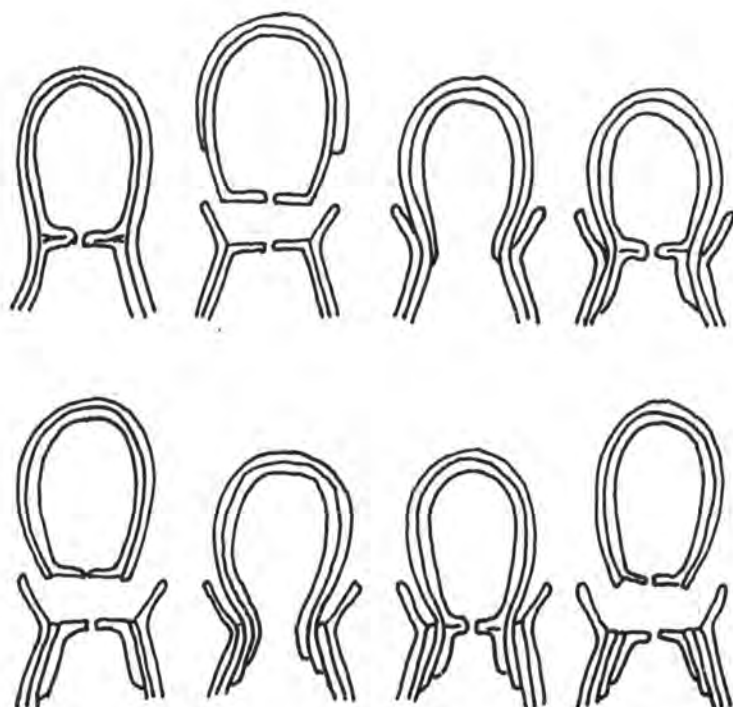


Fig. 4: Schema vývoje konidie u *Trichoderma saturnisporum*. Příklad enteroblastické konidiogenese a fialid.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

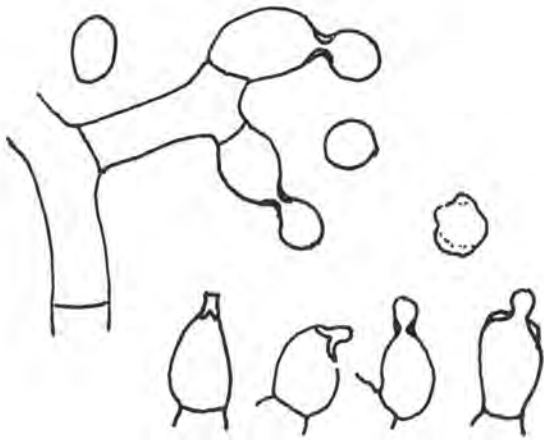


Fig. 5: *Trichoderma saturnisporum*.
(Upraveno podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

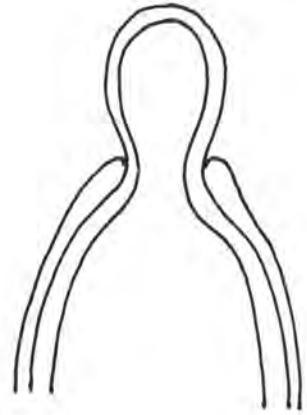


Fig. 6: Schema enteroblastické třetické konidiogeneze s vytvářející se porokonidii.
(Podle Cambell 1968; sec. Cole a Samson 1979.)

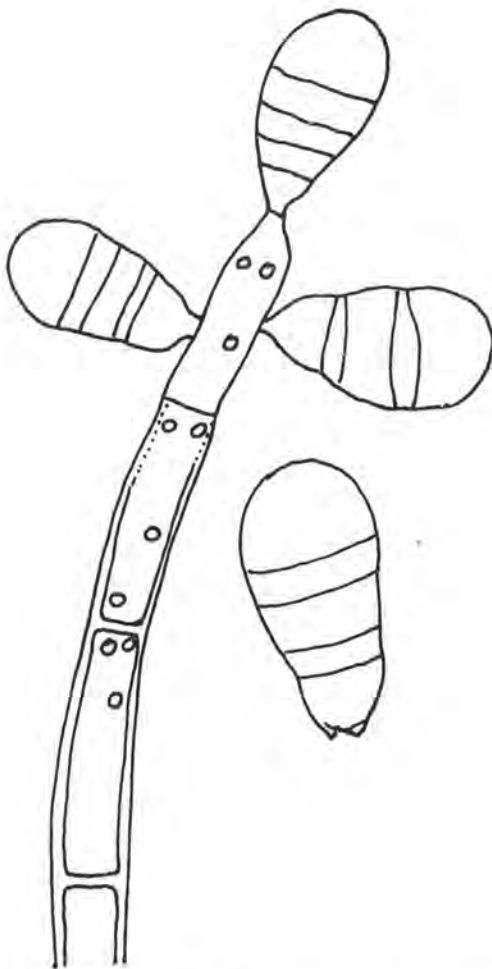


Fig. 7: *Spadicoides grovei*.
Příklad konidiogenních buněk třetických.

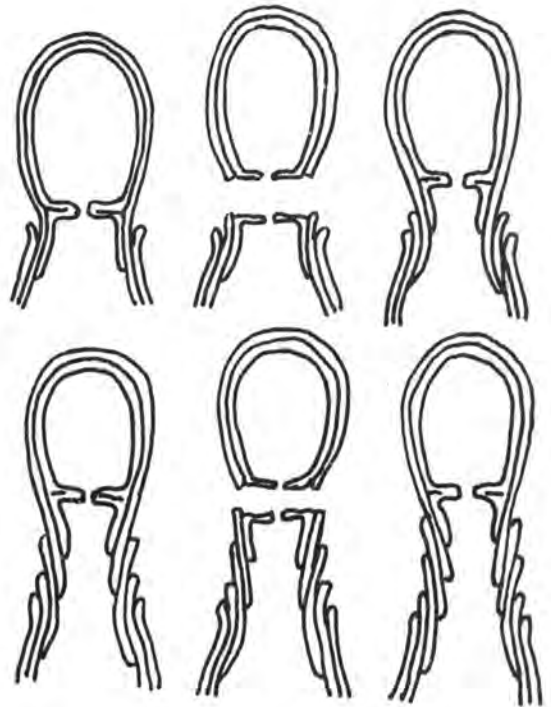


Fig. 8: Schema vývoje konidie u *Scopulariopsis brevicaulis*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

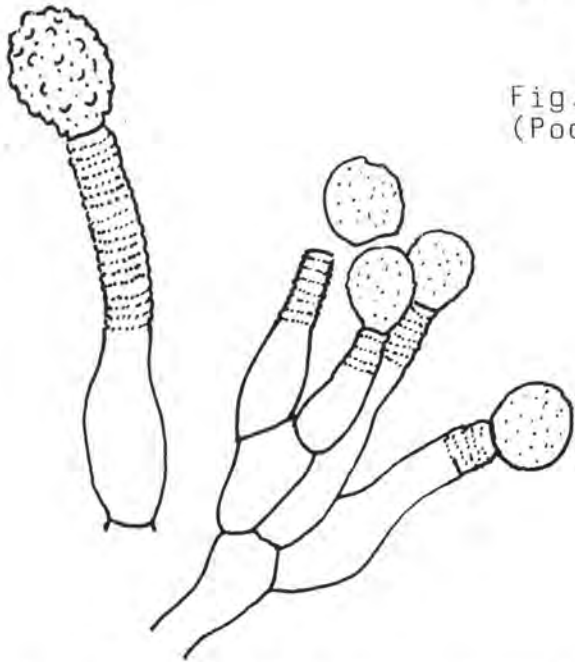


Fig. 11: *Cladobotryum varium*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

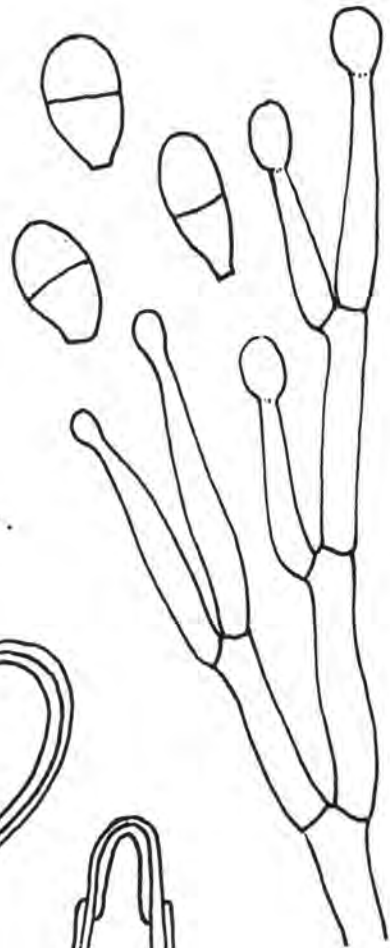


Fig. 9: *Scopulariopsis brevicaulis*.
(Upraveno podle Minter, Kirk a
Sutton 1982.)

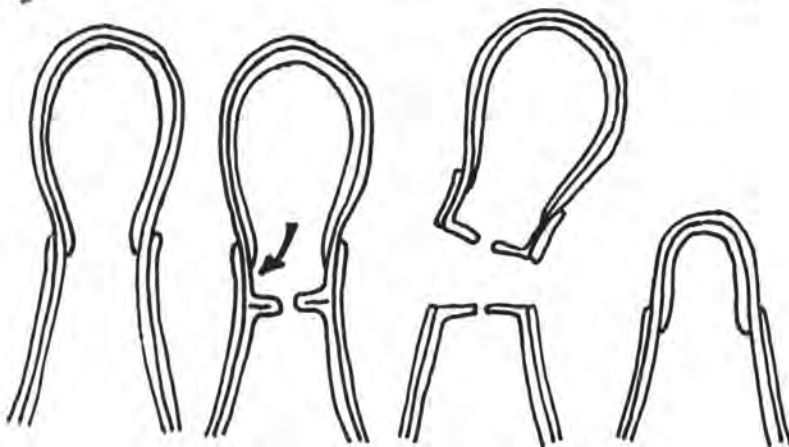
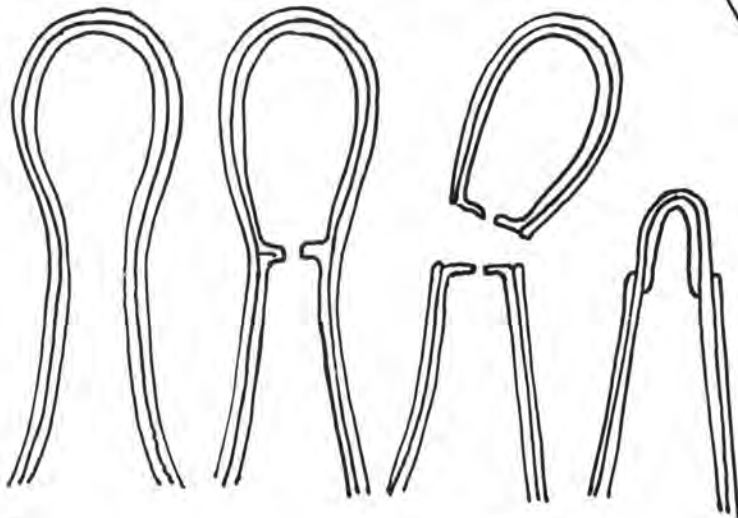


Fig. 10: Schema vývoje konidie u
Cladobotryum varium.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

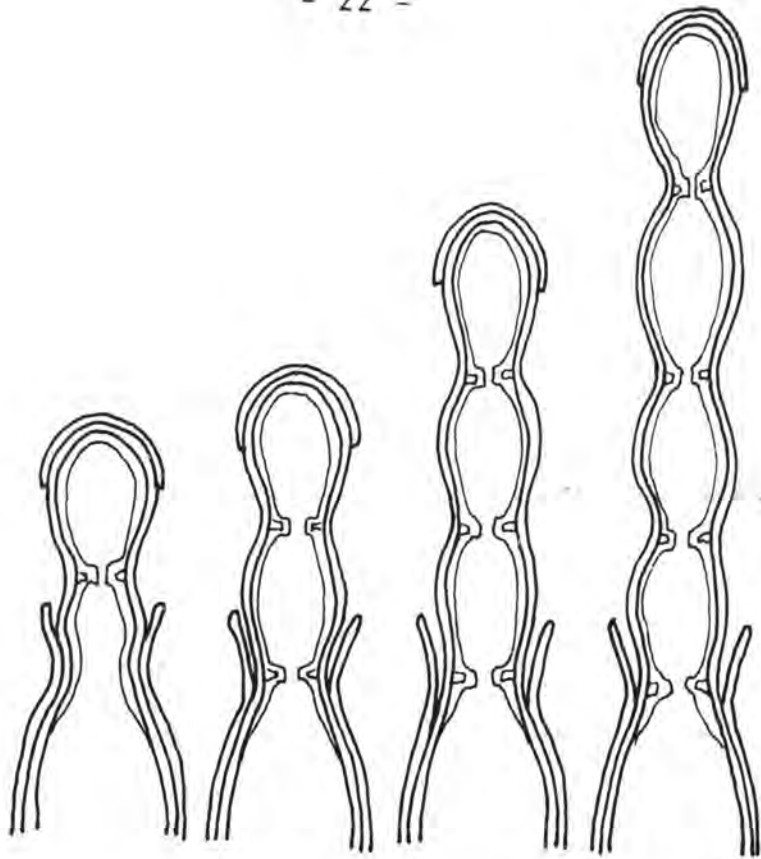


Fig. 12: Vývoj konidií u *Aspergillus clavatus*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1982.)

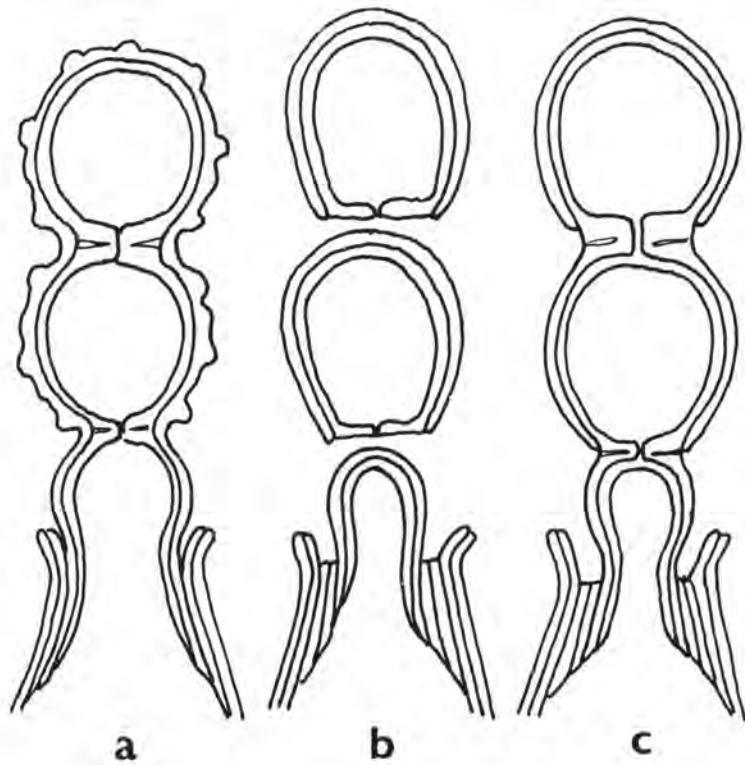


Fig. 13: a) Schema pravého řetízku konidií s konektivy.
b) Schema nepravého řetízku konidií bez konektivů.
c) Schema nepravého řetízku konidií s konektivy.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

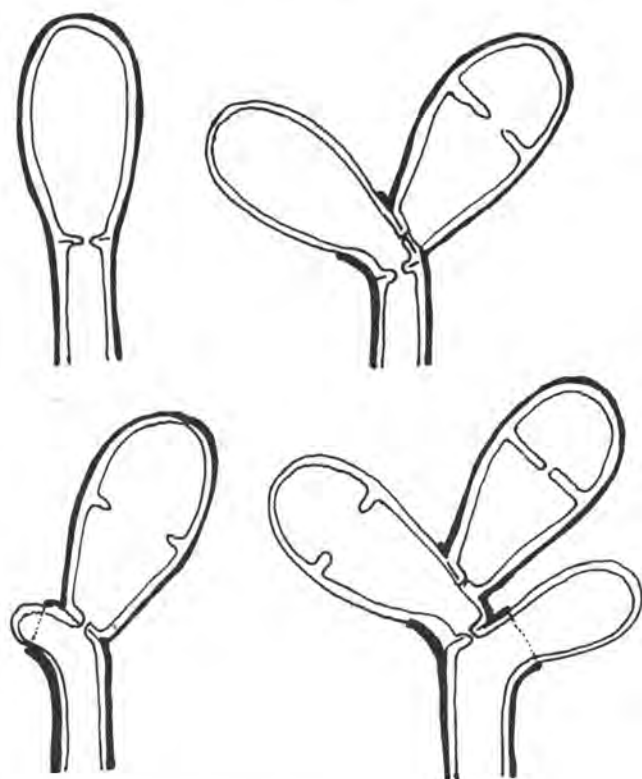


Fig. 14: Schema konidiogeneze u *Trichothecium roseum*. a) První konidie je holobastická. b-d) Další konidie se vyvíjí postranně pod basí předcházející přisedlé konidie. Konidiogenní buňka se zkracuje (d). (Podle Cole a Samson 1979.)

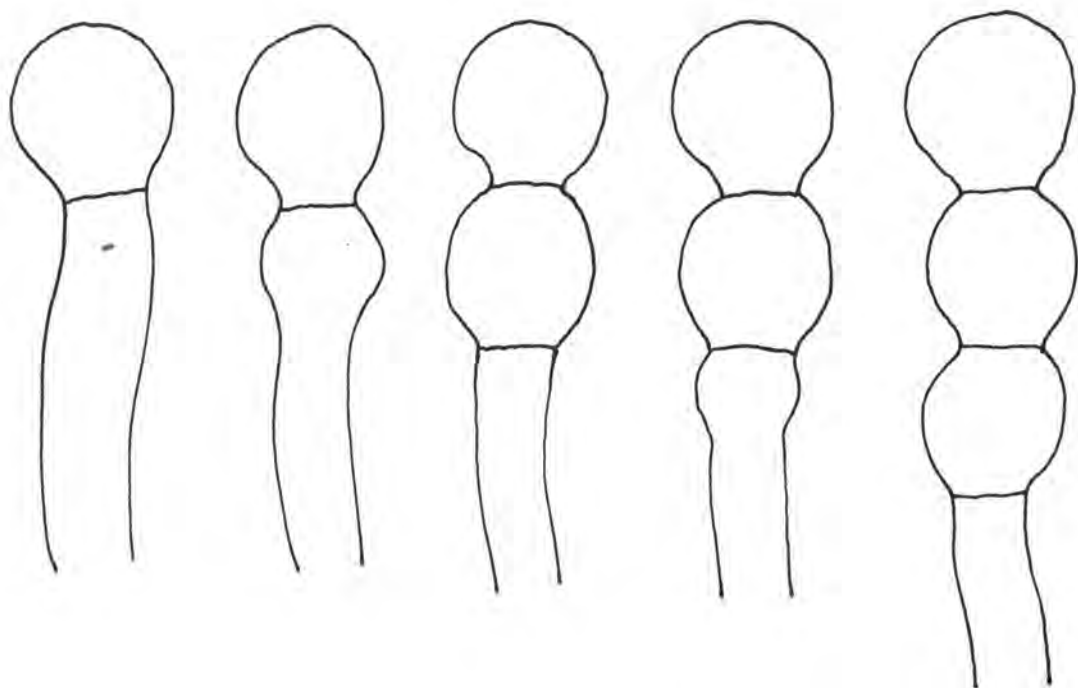


Fig. 15: *Basipetospora rubra*. (Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

Fig. 18: Holoarthrický typ konidiogenese
na příkladu *Geotrichum candidum*.
(Podle Cole a Samson 1979.)

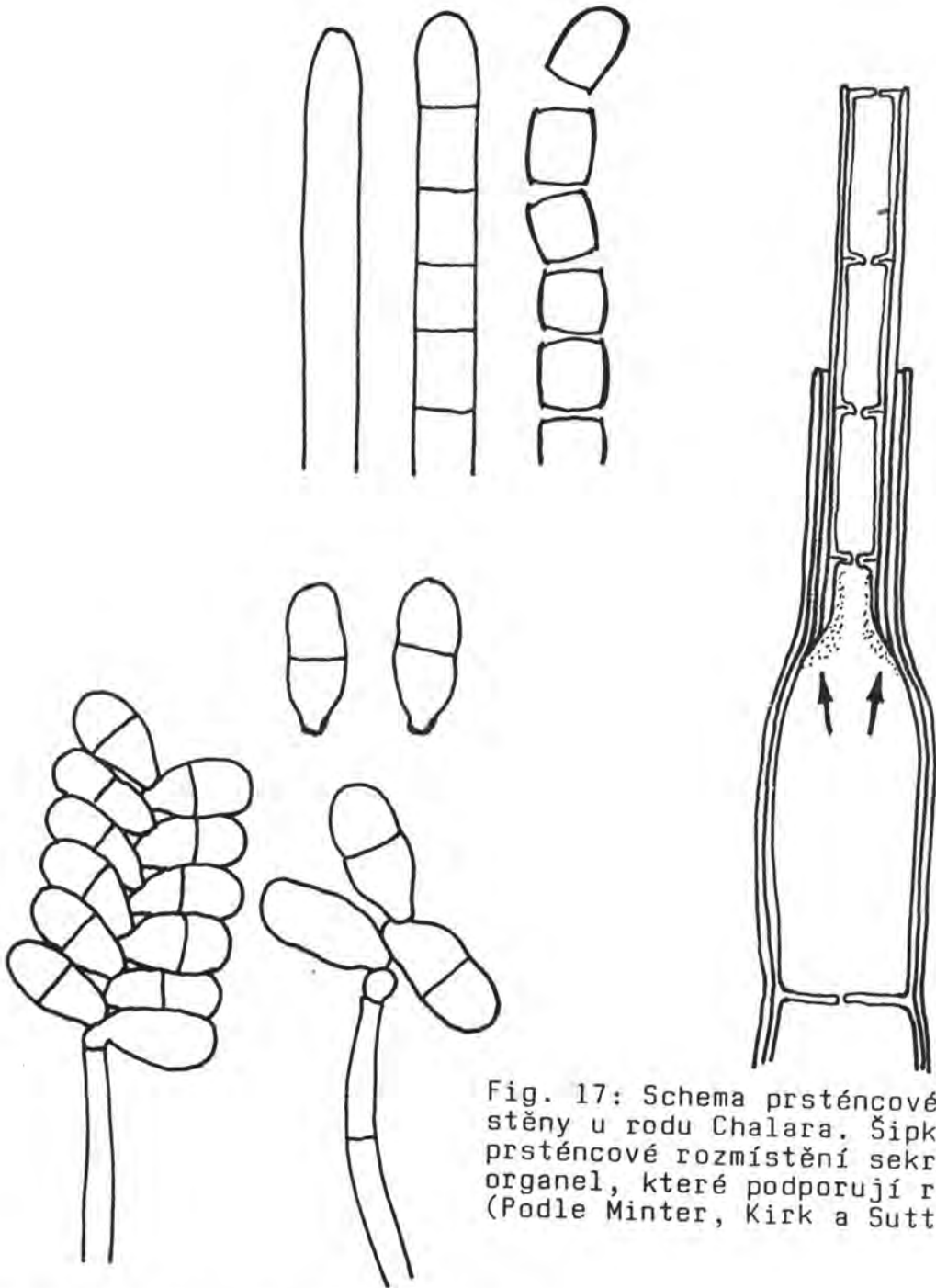


Fig. 17: Schema prstěncové stavby
stěny u rodu *Chalara*. Šipky ukazují
prstěncové rozmístění sekrečních
organel, které podporují růst stěny.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

Fig. 16: *Trichothecium roseum*.
(Podle Cole a Samson 1979.)

Fig. 19: *Sagenomella striatispora*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

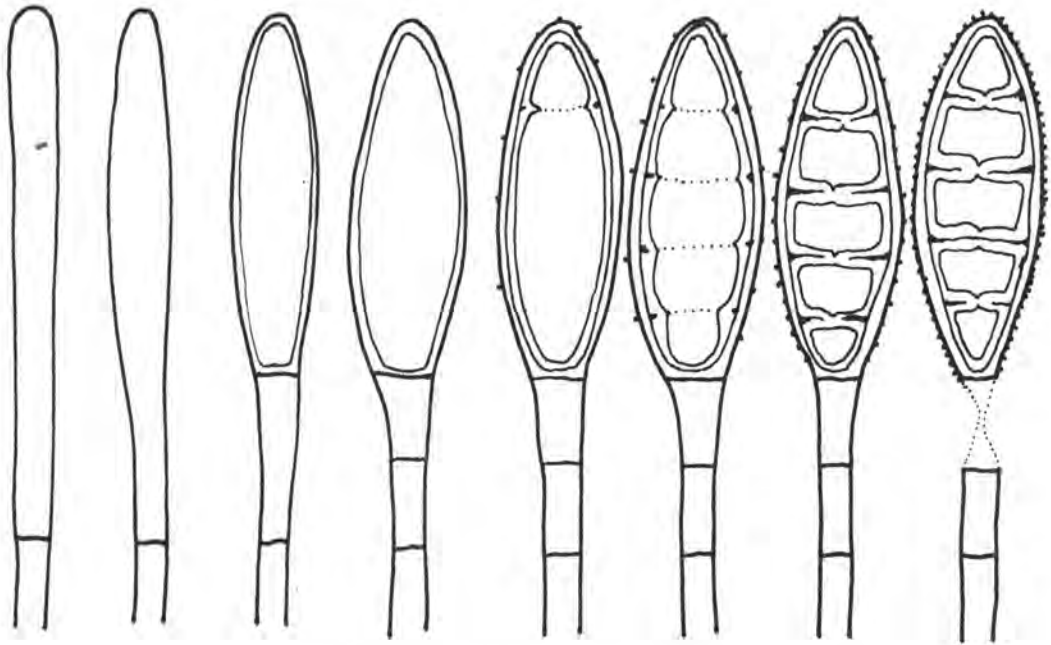
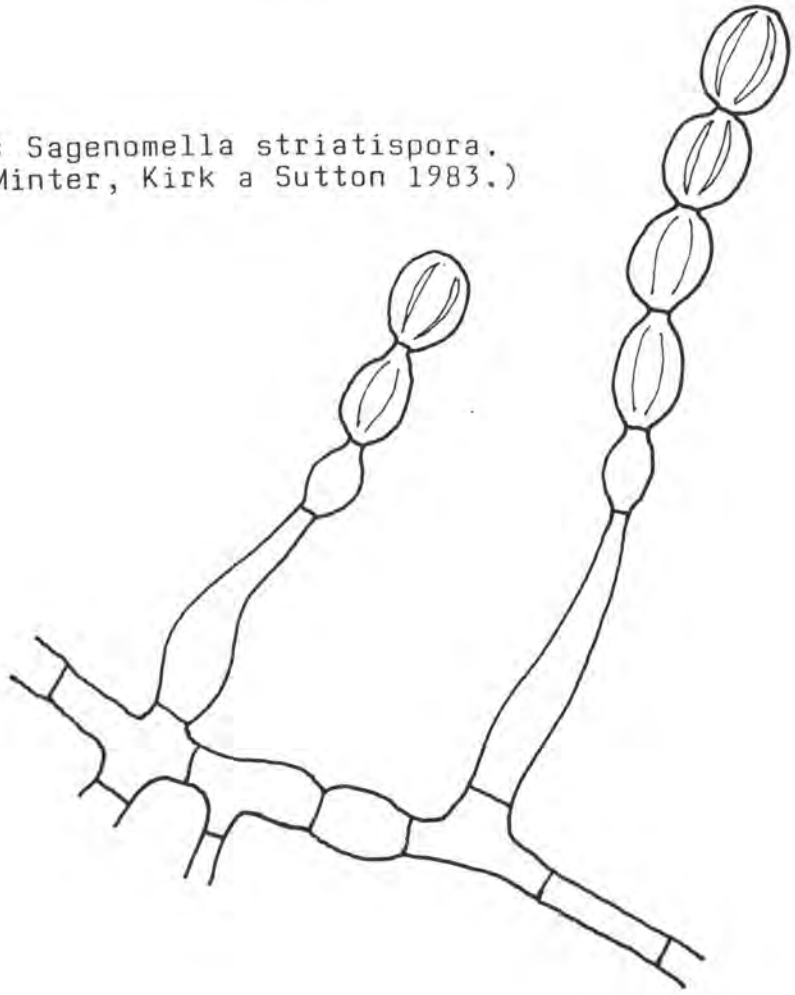


Fig. 20: Holothalický typ konidiogenese
na příkladu *Microsporum gypseum*.
(Podle Cole a Samson 1979.)

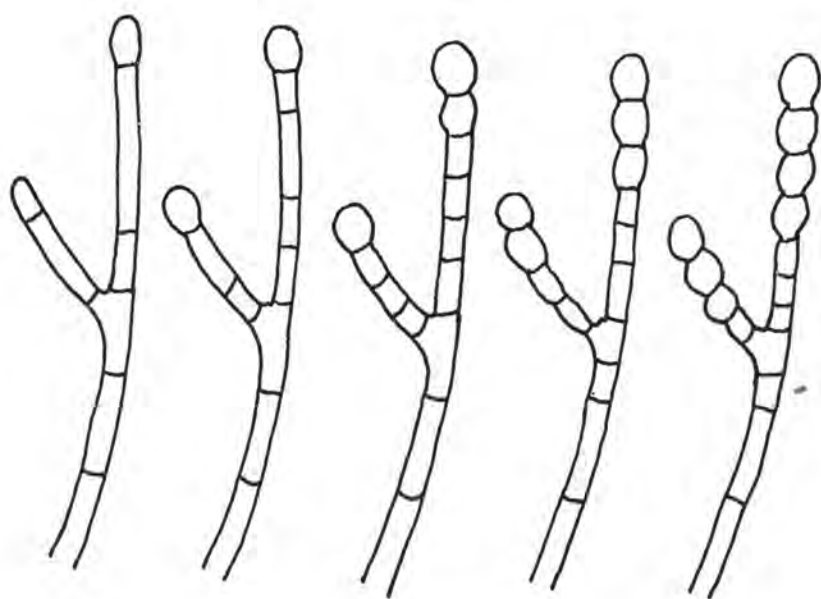


Fig. 22: Vývoj konidií u *Oidiodendron truncatum*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

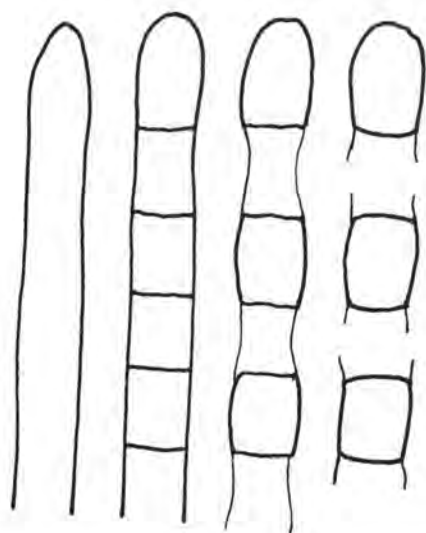


Fig. 21: Enteroarthrický typ konidiogenese na příkladu *Sporendonema purpurascens*.
(Podle Cole a Samson 1979.)

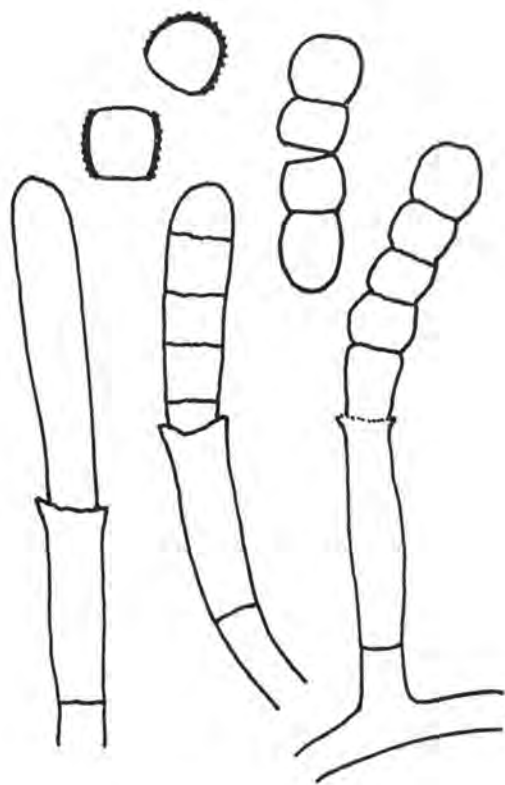


Fig. 23: *Walleimia sebi*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

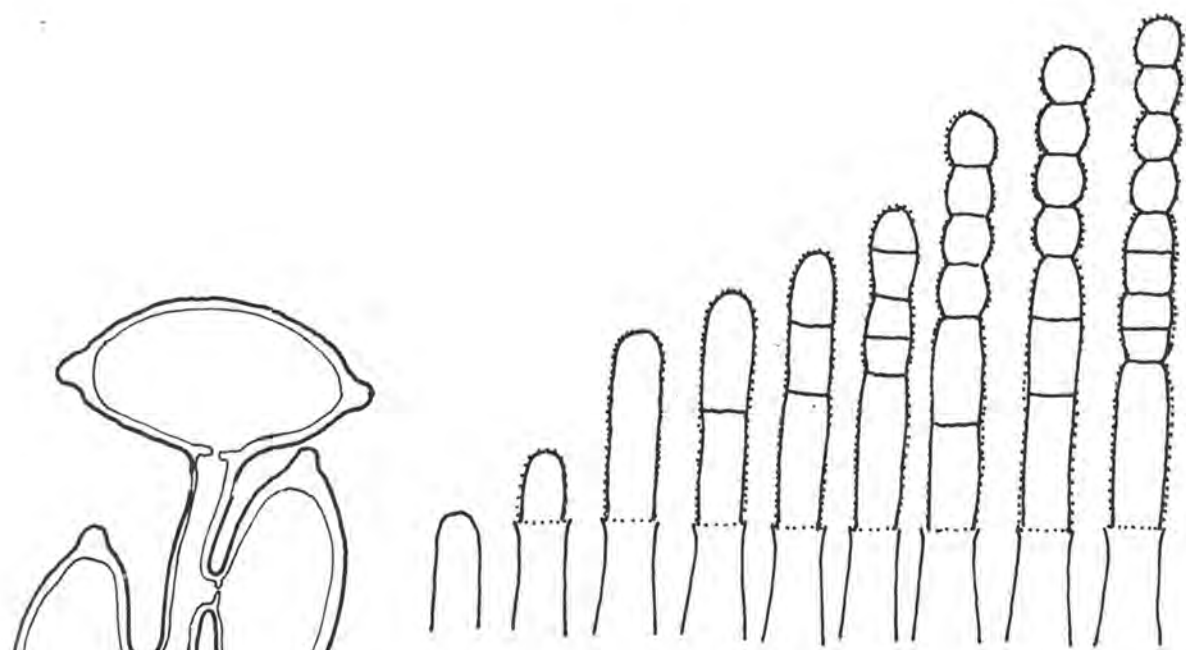


Fig. 24: Vývoj konidií u *Walleimia sebi*.
(Podle Minter, Kirk a Sutton 1983.)

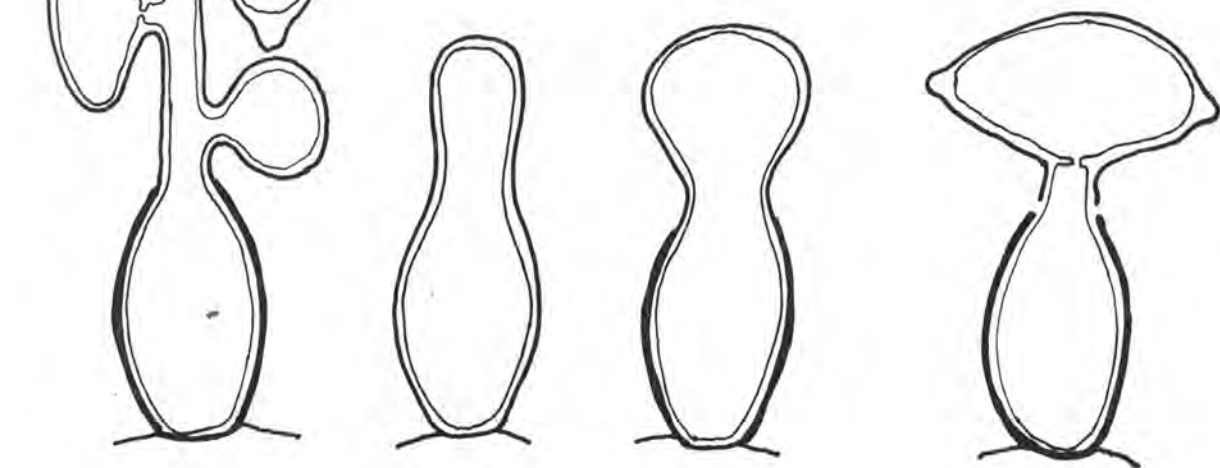


Fig. 25: Schema konidiogenese "basauxic"
na příkladu rodu *Arthrini*. Holoblastická
konidie se vyvíjí basipetálně.
(Podle Cole a Samson 1979.)

Metodika a problematika určování zástupců rodu *Penicillium*

Olga Fassatiová

Katedra botaniky Př. f. UK, 128 01 Praha 2, Benátská 2

Každý, kdo se setkal s druhy r. *Penicillium* a pokoušel se o jejich určení, poznal, že to není snadné. Avšak právě tak není snadné určovat druhy r. *Fusarium*, *Acremonium*, *Trichoderma* a další z těch známých mikroskopických imperfektních hub, které nás stále provázejí. Čím více je studujeme, tím hlouběji i šířeji objevujeme jejich vlastnosti a nové znaky, které nám mají být vodítkem k přesnějšimu vymezení druhu. Je třeba si vždy znovu uvědomit, že jde o organismy s velikou plasticitou a přizpůsobivostí změnám prostředí a to jak ve znacích morfologických tak i fyziologických. Naše čisté kultury jsou vlastně jejich nepřirozeným stavem, protože v přírodě se na podobných substrátech a v monokulturách obvykle nevyskytují. My však nemáme zatím jinou možnost, abychom je druhově odlišili a vymezili jejich charakteristiku.

Většina druhů r. *Penicillium* jsou pouze ve stadiu anamorf. Pokud není známá teleomorfa je obvykle velmi těžké stanovit hodnotu jednotlivých znaků konidiálního stadia. Kolonie penicílií na laboratorních živných půdách vyvolávají u nás často estetický pocit. Za touto přírodní krásou však musíme hledat zákonitý projev jedince a vystopovat jeho charakteristické znaky. Známa příručka "Manual of Penicillia" od Rapera a Thoma z r. 1949 jako první přinesla uceleně podrobné popisy vzhledu kolonií na třech definovaných živných půdách. Uvádí se zde kolonie vzhledu sametového, vlnatého nebo vločkovitého, provazčitého a svazčitého. V praxi, zvláště při srovnávacím studiu se staršími sbírkovými kmeny zjišťujeme, že tato struktura vždy neodpovídá u

všech kmenů danému popisu druhu a že je v mnoha případech nestálá. Sametové kolonie u starších kmenů přecházejí ve vlnaté a svazčité kolonie, mohou se délkou kultivace nebo u kmenů z různých substrátů stávat vlnatými, zrnitými až sametovými. Podobně zbarvení kolonie a zvláště pak zbarvení spodní strany i rozpustného pigmentu nebývá u všech kmenů téhož druhu shodné a často vykazuje barevné přechody. Dokladem toho je i monografie Ramíreze z r. 1981, která přináší celou atlasovou přílohu barevných kolonií všech známých druhů r. *Penicillium*. Ramírez popsal i obrazově předvedl druhy r. *Penicillium* na třech živných půdách: Czapek-Doxově agaru, Czapek-Doxově agaru s kvasničným extraktem (CYA) a na malt-extrakt agaru (MEA). Raper a Thom uvedli své popisy na Czapek-Doxovi, malt-extraktu a steep-agaru. V převážné míře se používaly v laboratořích CZ a MEA nebo sladinový agar. CYA zavedl do kultivace penicilií mykolog Pitt, který ve své monografii z r. 1979 mimo tuto půdu a MEA připravil ještě další nové medium G25N - půda s glycerinem. CZ-agar je proti MEA výhodnější tím, že barevněji zdůrazňuje specificitu druhů r. *Penicillium*. V případě CYA se tato barevnost ještě více projevuje. Pitt však při výběru nových živných půd sledoval ještě další znaky a to růstové, které se na obou nových mediích projevují i za změněných teplotních podmínek.

Základním vodítkem při zařazování druhů r. *Penicillium* do sekcí je morfologie konidioforu či přesněji řečeno štětce. Na základě toho uvádějí Raper a Thom 3 hlavní sekce: *Monoverticillata*, *Biverticillata Asymmetrica* a *Biverticillata Symmetrica*. Ramírez převzal toto zásadní členění a do své monografie připojil další nově popsané druhy po r. 1949. Pitt uvedl nové třídění, které stanovuje do podrodů opět na základě morfologie konidioforu: sg. *Aspergilloides* je obdoba sekce *Monoverticillata*, sg. *Penicillium* je obdoba sekce

Bivert. *Asymmetrica*, sg. *Biverticillium* je obdoba sekce Bivert. *Symmetrica*. Připojil čtvrtý sg. *Furcata*, který zahrnuje penicilia s divarikátním štětcem (z části jde o podsekcí *Divaricata* podle Raper a Thoma, z části o další druhy sekce Bivert. *Asymmetrica*). Jak již bylo shora řečeno, Pitt připojil ke své charakteristice kolonií i fyziologické znaky, t. j. znaky růstu kolonie, jeho rychlosti i změn při různých teplotách. Jimi pak definuje i příbuznost druhů navzájem a v některých případech je činí naroveň morfologickým nebo je dokonce preferuje. Tím se určité druhy podle zařazení Raper a Thoma dostávají do různých skupin - serií. Na první pohled to vypadá, že Pitt nám situaci zkomplikoval. Při podrobnějším studiu jeho díla a po delší determinační praxi však dospíváme k názoru, že v mnoha případech pohled na vyhraněnost druhu upřesnil a mnohdy lépe poukázal na jeho variabilitu nežli tomu bylo u Raper a Thoma. Navíc Pitt připojil ke své monografii všechny dosud známé teleomorfy penicílií a systematicky je utřídil v rodu *Eupenicillium* a *Talaromyces*.

Nyní k vlastní určovací praxi. Co činí největší potíže při určování penicílií. Je to předně metodika přípravy preparátu. Připravit dobrý, t. j. dostatečně informující preparát je základem, který se někdy obtížně uskutečňuje. Důležité je připravit preparát ze zralého stadia kolonie, kdy jsou konidiofory a tvorba konidií plně vyvinuty. U nevyzrálého stadia kolonie jsou konidiofory chudé, ještě s nevyvinutým větvením, nebo dokonce s jednotlivými fialidami. Naopak starší kolonie už mají konidiofory rozpadlé, rozpuštěné autolýzí a preparát obsahuje pouze konidie. Podobně jako v čase můžeme sledovat různé stupně vývinu konidioforů i v plošném rozložení kolonie. V centrální části dochází obvykle k dřívějšímu vývinu sporulace, kdežto na okraji jsou konidiofory mladší. Doporučuje se odebírat

preparát na rozhraní lemu a sporulující zony v období 5. - 10. dne. Později i okrajová zóna stárne a konidiofory nacházíme zčásti deformované. Při tom je třeba upozornit, že za určitých živných i fyzikálních podmínek dochází již v prvním týdnu k masové deformaci konidioforů. Jejich apikální konce bývají naduřené, metuly i fialidy se vyvíjejí tvarově změněně a početně omezeně. Příčinou může být nedostatek stopových prvků v půdě (Cu, Zn), která byla připravena z vody, jež tyto prvky obsahovala v malém množství nebo vůbec ne. Nedostatek stopových prvků se projevuje obyčejně i na růstu a celkové struktuře kolonie.

Další nesnáze při určování druhů r. *Penicillium* vyplývají z charakteru kolonií, který může být u jednoho druhu velmi variabilní. U kolonií je třeba sledovat jejich vývoj v časových intervalech (dorůstání průměru, mohutnost sporulace, jejího zbarvení, charakter sterilního lemu, přítomnost exudátu, zbarvení spodní strany) Mikrohabitus zahrnuje typ větvení konidioforu, rozložení jeho částí, tj. větví, metul a fialid. Zde hodnotíme souběžný nebo rozevřený (divarikátní) růst jednotlivých částí štětce. Preparáty pořízené v laktofenolu s bavlnovou modří tyto znaky zvýrazňují. Přesto však přirozené rozevření štětce se lépe pozoruje při malém zvětšení přímo na okraji kolonie v Petriho misce, kde ještě prochází dostatek světla. Podrobnější znaky na konidioforu a štětci jako je povrch (hladký či drsný) a povrch konidií lze nejlépe sledovat při použití imerze.

Největší počet druhů penicílií je v Raper a Thomově sekci *Biverticillata Asymmetrica* a zde také bývá dosti ne-
snadné určení druhů. Tápeme, protože charakter kolonií v pojetí těchto autorů (sametový, vlnatý, provazčitý a svazčitý) nebývá stálý. Rovněž i zbarvení kolonie. Zbývá tedy pečlivě studovat morfologii štětce a dopátrat se specifických vlastností. U některých biverticilátních asymetrických penicílií

se mohou vyskytovat zčásti i symetrické konidiofory. U divarikátních typů pak i monoverticilátní. Zde bych ráda upozornila na podsekcí Fasciculata a podsekcí Divaricata, jež působí při určování do druhů mnohdy značné potíže. Jednou z pomocí je získat srovnávací materiál kmenů celého okruhu druhů. Kdo však zodpovídá za jejich přesné určení a za to, že se stářím nezměnily? Druhou pomocí je spolupracovat s někým, kdo má více zkušeností a třetí - získat dlouholetou praxí určitý přehled i zkušenost při determinaci běžně izolovaných druhů. Naproti tomu existují některé druhy penicilií, které jsou téměř vždy dobře rozpoznatelné buď na základě charakteru kolonie nebo štětce a konidií. K nim patří např. *P. claviforme*, *P. clavigerum* - oba s charakteristicky svazčitými koloniemi. *P. digitatum* s charakteristickou barvou kolonie (olivově zelená) a protáhle eliptickými konidii. *P. griseofulvum* s šedozelelou barvou kolonie, seskupením metul a malými fialidami. *P. variable* s typickým zeleným zbarvením kolonie, která má žlutý lem a charakteristickými biverticilátně symetrickými štětci. Druhy s velikou šíří znaků makroskopických, které jsou velmi hojně v přírodě zastoupeny, jako např. *P. aurantiogriseum* (= *P. cyclopium*) a *P. janczewskii* (= *P. nigricans*) je třeba poznat na velkém počtu kmenů z čerstvých izolátů.

Důležité pro určovací praxi je shromažďování kresebného materiálu týkajícího se mikroskopických znaků a popisů kolonií na Czapek-Doxově agaru případně na Czapek-Doxově agaru s kvasničným extraktem. Tato dokumentace je velmi dobrým srovnávacím materiálem pro další práci při určování penicilií.

Literatura

- J.I.Pitt (1979): The Genus *Penicillium* and its teleomorphic state *Eupenicillium* and *Talaromyces*. - Acad. Press, N.Y., London, Toronto, Sydney, 634 pp.
- C.Ramírez (1982): Manual and atlas of the *Penicilia* - Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, N.Y. Oxford. 874 pp.
- K.B.Raper et Ch.Thom (1949): A Manual of the *Penicillia*. - The Williams and Wilkins Comp. 875 pp.

Metody a principy determinace staurosporních a skolekosporních hyfomycetů

Ludmila Marvanová, Čs. sbírka mikroorganismů UJEP, tř. Obránců míru 10, Brno

Výrazy "staurosporní", "skolekosporní" nevymezují taxonomické ani pseudotaxonomické kategorie, nýbrž označují pouze tvar konidií. Skolekos znamená červ - skolekoidní konidie jsou delší, většinou různě prohnuté, červovité. Stauros znamená kříž - stauroidní jsou tedy v širším smyslu větvené konidie. Tyto termíny jsou používány dosti volně. Podle definice v Kendrick a Nag Raj (1979) skolekosporní znamená, že konidie jsou alespoň 15x delší než širší. Za staurosporní se označují taxony s konidiemi, které mají aspoň 2 osy a jejichž výběžky nebo větve jsou delší než čtvrtina průměru konidie. Descals (1985) definuje tzv. konidie složené (compound): jsou to ty, které mají více než jeden element. Element je část konidie vytvořená nepřerušným růstem.

Staurosporní a skolekosporní hyfomycety se vyskytovaly v starších mykologických kompendiích v malém počtu v poměru k ostatním typům hyfomycet. Základ k širšímu rozvoji jejich studia, zejména hyalosporních typů, byl dán v pracích Indolda, které se datují od čtyřicátých let a jsou shrnuty v Ingold (1975) a v četných publikacích jeho následovníků, kteří studují tyto houby zejména v tekoucích vodách. Relativně hodně taxonů s tímto typem spor popsal Matsushima (1971, 1975), který nachází tyto houby na vlhkém opadaném listí. Častý výskyt taxonů se skolekoidními a stauroidními konidiemi v prostředcích, kde je voda v kapalně fázi jistě není náhodný. Dá se říci, že tyto tvary konidií jsou výsledkem úspěšné životní strategie hub s nepohyblivými konidiemi ve vodním prostředí (životní strategii můžeme chápat jako neustálé interakce s okolním prostředím, živým i neživým, jejichž výsledkem je optimální stupeň přežití druhu).

Konidie jakožto rozmnožovací jednotky zajišťují především rozšíření od mateřské kolonie a pak osídlení nového substrátu. Pro šíření na delší vzdálenosti ve vodním prostředí má skolekoidní i stauroidní tvar pozitivní význam z hlediska přednostního vychytávání konidií těchto tvarů do pěny na vodě a jejich postupného unášení na hladině, ale také z hlediska jejich pohybu na krátké vzdálenosti v tenkých vrstvičkách vody na opadaném listí po dešti nebo za rosy. Experimentálně bylo prokázáno, (Iqbal a Webster 1973), že na bubliny vzduchu procházející vodou se zejména dobře vychytávají skolekoidní a stauroidní tvary, i když ne všechny se stejnou intenzitou. Při kolonizaci jsou skolekoidní a hlavně stauroidní tvary zvýhodněny především proto, že se dotýkají substrátu ve více než jednom bodě a tím zvyšují pravděpodobnost uchycení. Z tohoto hlediska jsou úspěšné zejména ty typy, které mají větve uspořádané jako osy pomyslného čtyřstěnu a v klidové poloze se dotýkají substrátu vždy ve třech bodech. Tento tvar je v prostředí tekoucí vody mnohem častější než skolekoidní, čímž je doložena jeho větší úspěšnost. U některých staurosporních vodních hyfomycet se vyvinula tvorba slizu a apresorií na vrcholech větví na místech styku s pevným substrátem, což ještě zvyšuje možnost osídlení.

Nejobvyklejším typem skolekoidních konidií ve vodě jsou tzv. sigmoidní konidie (tj. v podobě jedné otočky volné spirály), které se v klidové poloze dotýkají substrátu ve dvou bodech. Při určité turbulenci vody a za jistých okolností i ve stojaté vodě mají skolekoidní konidie některých druhů tendenci se stavět kolmo k substrátu a na tomto konci vylučovat sliz, který usnadní upevnění konidie.

Metody determinace.

U vodních hyfomycet se používají v podstatě dva způsoby:

- a) na základě volných konidií
- b) na základě konidiogenních struktur

První způsob zavedl a propagoval Ingold (1975) a dodnes je používán v některých floristických a ekologických studiích. Je méně spolehlivý než způsob druhý a u skolekosporních druhů velmi riskantní. U staurosporních druhů je jeho spolehlivost větší.

Velmi důležité u volných konidií je, správně stanovit jejich polaritu, tj. bázi (místo připojení na konidiofor) a vrchol. U konidií které se po delší dobu po oddělení od konidioforu nacházely v přírodě ve vodě, bývá jizva po připojení na konidiofor maskovaná tzv. bazálním výrůstkem, který u skolekoidních konidií způsobí jejich zdánlivou homeopolárnost (vrchol je nerozeznatelný od báze).

Další znaky pro určení skolekosporních hyfomycetů na základě volných konidií jsou málo výrazné a silně variabilní: jsou to délka a šířka konidií (délka může u některých druhů varírovat od 50 do 300 μm , což je dáno tím, že některé konidie se uvolňují předčasně, ještě ne plně vyvinuté); míra zakřivení (často závisí na tom, zda se konidie vytváří ponořená nebo na hladině vody, ve stojaté nebo proudící vodě); špičatost nebo tupost horního konce, paralelní stěny nebo zužující se k jednomu či k oběma koncům, hustota přehrádek.

U staurosporních hyfomycetů je znaků více, především je ale nutné určit zda je konidie připojena na konidiofor na konci osy (která může být pro nezkušeného pracovníka zcela nerozeznatelná od větve konidie), nebo v místě, kde se větve spojují. Podobně jako u skolekoidních konidií jsou i u osy pozorovatelné znaky týkající se její polarity, zakřivení (často bývá osa výrazně zakřivená v místě přisedání větví), špičatost a přehrádky. Další znaky se týkají větví. Za základní typ můžeme považovat tzv. trikladioidní větvení, tj. konidie s hlavní osou a několika (většinou 2) střídavými

primárními větvemi (obr. 1a). Od tohoto typu je možno v podstatě odvodit všechny ostatní typy:

- a) větvení v podobě laty (obr. 1b) - primární, sekundární, po případě terciální větve, všechny většinou střídavé, osa většinou není od větví výrazně odlišena;
- b) větvení vstříčné (obr. 1c) - nejčastější typ jsou 2 větve proti sobě přibližně uprostřed osy; tím, že osa je v místě připojení větví zahnutá a větve rozpřažené do prostoru, vzniká tetraradiální typ konidie, který je ve vodě nejvíce zastoupený;
- c) větvení přeslenovité (obr. 2d) - je to typ vstříčného větvení, kdy přibližně na stejné úrovni vyrůstá na ose více než 2, většinou 3 a více větví. Přeslen je většinou umístěn v dolní části osy, někdy je i dvakrát nad sebou.
- d) větvení vrcholové (obr. 2e) - hlavní osa zastaví růst a na jejím vrcholu vyrůstá několik větví (3 a více). Zvláštním typem tohoto větvení je větvení dichotomické, kdy růst vrcholu osy pokračuje v podobě dvou stejnocenných větví. Dichotomie může pak pokračovat i na vrcholech těchto větví.
- e) větvení bez přítomnosti osy (obr. 2 f) - tento typ větvení vzniká tehdy, když je osa redukována na jedinou buňku, která během ontogeneze konidie je zabudována do základu větví, takže často na zralé konidii nebývá rozeznatelná.

Některé z těchto typů větvení se mohou vyskytovat i v kombinované podobě a ve spojení s rozmanitými rozměry jednotlivých částí konidií vytvářejí to bohatství forem, jak je známe ze vzorku pěny na vodě.

Daleko spolehlivější je metoda determinace druhů na základě konidiogenních struktur, tj. konidií na konidioforech. Konidiogenní struktury a jejich vývoj můžeme pozorovat buď přímo na substrátu (listech) doneseném z přírody nebo v čistých kulturách. V prvním případě donesené listy z potoka v laboratoři opláchneme a pak položíme jednotlivě do Petriho misek

s destilovanou vodou tak, aby byly ponořené, a dáme inkubovat do chladna (15-18 °C). Konidiofory s konidii vyrůstají z listového pletiva většinou do 48 hod. a jsou dobře pozorovatelné zejména na okraji listu, přímo pod mikroskopem při malém zvětšení. Většina druhů se takto dá určit, ale u některých může být rozhodující barva a charakter konidie na agaru, nebo i mikrokonidiální stadium.

Čisté (nejlépe monokonidiální) kultury je nutné zakládat vždy, když chceme popsat nějaký nový taxon z této skupiny. Při popisování druhu jen z materiálu z přírody, které je ovšem také přípustné, se připravujeme o celou řadu užitečných informací např. o rychlosti růstu kolonií, o jejich barvě, eventuální produkci pigmentu, tvorbě mikrokonidiální synanamorfy apod.

U agarových kultur existuje nebezpečí, že nebudou plodné. Vodní hyfomycety a po ekologické stránce příbuzné houby jsou často plodné až po ponoření kousku agaru s kulturou do destilované vody. Někdy pomáhá vyvolat fruktifikaci ještě také tzv. vzdušnění kultury, tj. probublávání vody vzduchem. Neustálé proudění vody zvířené vzduchem kolem konců překrojených hyf údajně podporuje tvorbu konidioforů (Webster a Towfik 1972). Jiná možnost vyvolání fruktifikace, která zároveň umožňuje přímé pozorování postupující konidiogeneze, je průtoková komůrka (Descals et al. 1976).

Velmi důležité je, udělat z plodné kultury nejlépe ihned několik trvalých preparátů, a to jednak z mladší části, kde jsou mladá konidiová stadia na konidiogenních buňkách, a také ze starší části, kde bývají vyplozené konidiofory. Mladá konidiová stadia umožňují poznat ontogenezi větví (boční, vrcholové), dále jejich pořadí, tj. zda vyrůstají současně nebo jedna za druhou. Na vyplozených konidioforech je obvykle dobře vidět různé detaily týkající se konidiogenní buňky, zejména jejich změn s postupující tvorbou konidií. Už samotné konidiogenní buňky jsou lépe rozeznatelné po odpadnutí

konidií, zejména u druhů, kde konidiální primordia jsou vtělená (integrovaná) do konidiogenní buňky, a tato do konidioforu, tj. tyto struktury nejsou navzájem morfologicky odlišné. Na fialidách bývá po jejich vyplození lépe patrná periklinální ztuštěnina, která se zvětšuje s počtem vyprodukovaných konidií. Také prodlužování konidiogenních buněk - perkurentní nebo sympodiální - je lépe viditelné na starých konidioforech, které někdy neobsahují cytoplasmu. Také je vhodné udělat si preparát ze samovolně odpadených konidií jejich odebráním z hladiny, kde se po oddělení od konidioforu obvykle shromažďují. Jestliže uděláme preparát z kolonie s dosud připojenými konidii, může dojít k jejich násilnému odtržení a tím k mylnému hodnocení typu oddělení (tzv. secese). Je vhodné pozorovat preparáty vodních hyfomycet mikroskopem s fázovým kontrastem, protože některé druhy velice špatně přijímají jak laktofuchsin tak kotonovou modř a některé struktury jsou pak zejména ve starších preparátech špatně rozlišitelné.

Literatura:

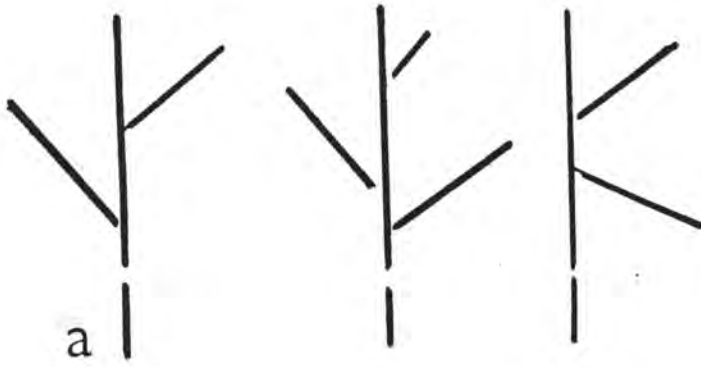
- Descals, E. (1985). Conidia as modified hyphae. Proc. Indian Acad. Sci. 94: 209-227
- Descals, E., Nawawi, A. a Webster, J. (1976). Developmental studies in Actinospora and three similar aquatic hyphomycetes. Trans. Br. Mycol. Soc. 67: 207-222
- Ingold, C. T. (1975). An illustrated guide to aquatic and water-borne hyphomycetes (Fungi Imperfecti) with notes on their biology. Scient. Publ. Freshwat. biol. Ass. No. 30, 96 pp.
- Iqbal, S. H. a Webster, J. (1973). The trapping of aquatic hyphomycete spores by air bubbles. Trans. Br. Mycol. Soc. 60: 37-48

- Kendrick, B. C., a Nag Raj, T. R. (1979). Morphological terms in fungi imperfecti. In: B. Kendrick (Ed.): The Whole Fungus. Vol I, p. 43-61. National Mus. of Nat. Sci., National Mus. of Canada, Ottawa, and The Kananaskis Foundation.
- Matsushima, T. (1971). Microfungi of the Solomon Islands and Papua, New Guinea. T. Matsushima, Kobe
- Matsushima, T. (1975). Icones microfungorum a Matsushima lectorum. T. Matsushima, Kobe
- Webster, J. a Towfik, F. H. (1972). Sporulation of aquatic hyphomycetes in relation to aeration. Trans. Br. Mycol. Soc. 59: 353-364.

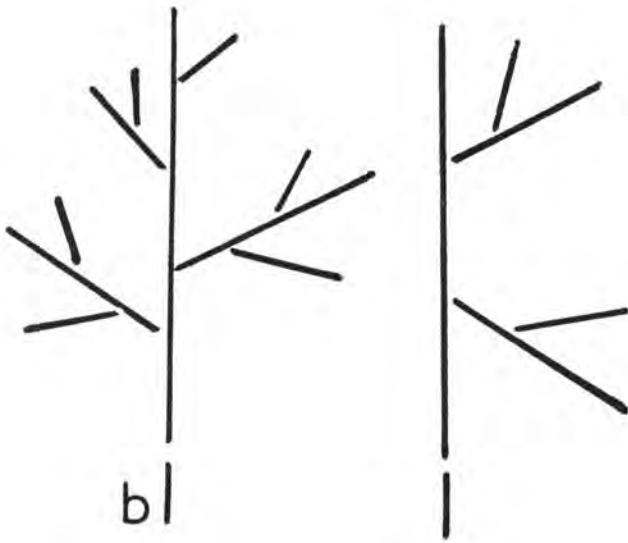
Obrazová příloha

- Obr. 1. Schematické znázornění větvení konidií u staurosporních hyfomycetů. Vysvětlení v textu.
- Obr. 2. Schematické znázornění větvení konidií u staurosporních hyfomycetů. Vysvětlení v textu.

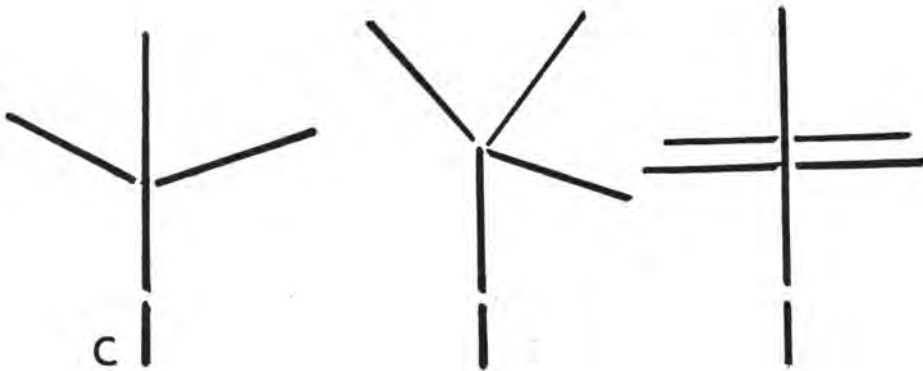
OBR. 1



a

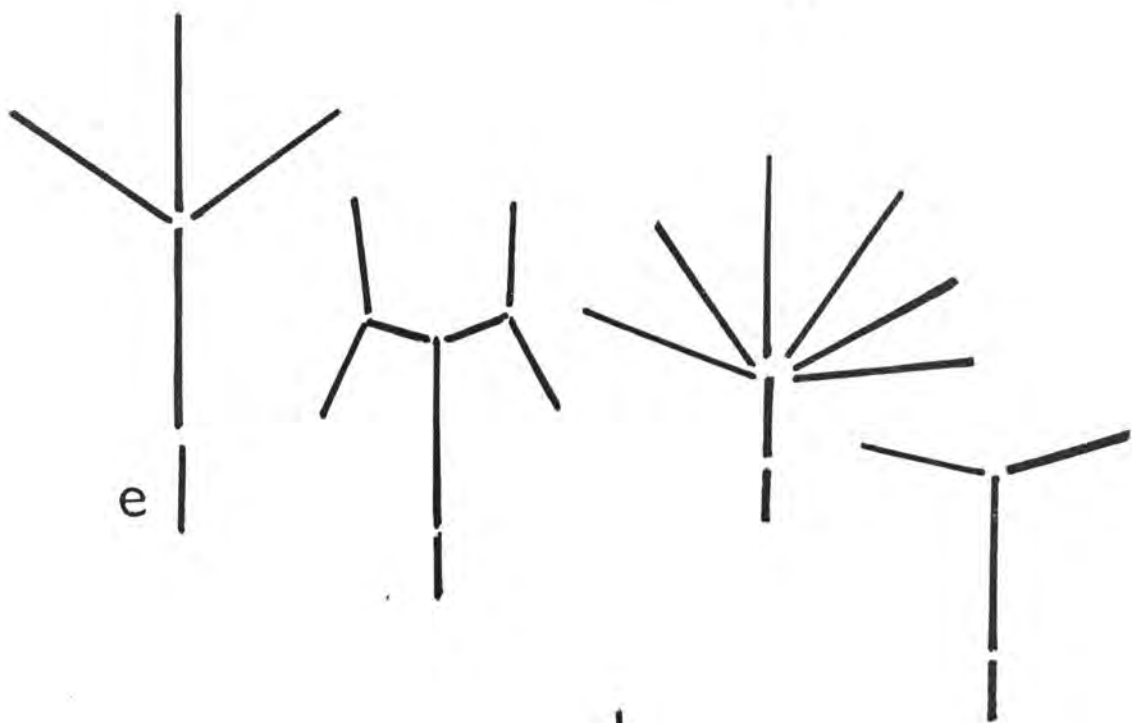
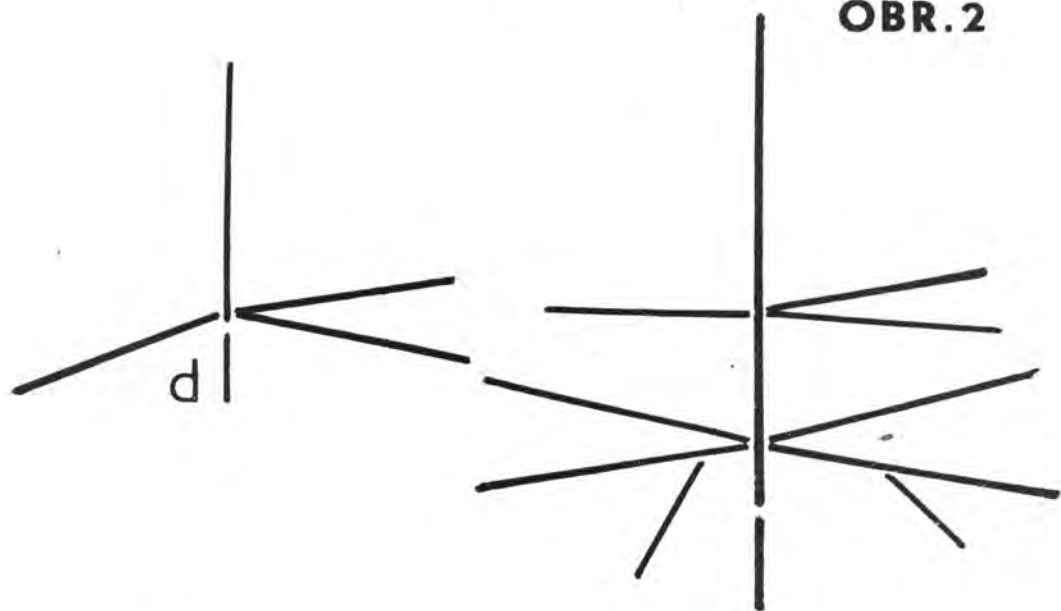


b



c

OBR. 2



Několik poznámek k určování imperfektních hub rodů *Alternaria* a *Drechslera*

Michal Ondřej

Oseva, konc. výzkumný a šlechtitelský ústav technických plodin a luskovin,
787 12 Šumperk - Temenice

Parazitické imperfektní houby rodů *Alternaria*, *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum*, jakož i rodů *Helminthosporium*, *Corynespora*, *Dendryphon*, *Sporidesmium*, *Embellisia* a *Curvularia* patří jak taxonomicky tak i mykofloristicky k velmi zajímavým a atraktivním mikromycetům. Jejich výzkum není ukončený a tak nepřekvapuje, že v mnoha případech není ještě taxonomie uspokojivě dořešena. K úspěšnému taxonomickému řešení je potřebné mít k dispozici dostatečné množství srovnávacího a studijního materiálu (tj. sběrů z různých lokalit), aby bylo možné posoudit šíři variability a provést zobecnění.

K determinaci jednotlivých druhů hub rodu *Alternaria*, *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum* se v minulosti využívaly tradiční rozdíly ve tvaru a velikosti konidií, v počtu přehrádek a rovněž se přihlíželo k jejich specifické vazbě na hostitele. Dnes se využívají kromě jiného i rozdíly ve velikosti konidiální jizvy, rozdíly v rozměrech bazální a apikální buňky atp. K detailnímu rozlišení rozdílů mezi jednotlivými druhy se využívá často tzv. numerická taxonomie. Lamová v Anglii využila 97 znaků pro rozlišení jednotlivých druhů hub rodu *Drechslera* na jílku a kostřavě (tj. druhů *dictyoides*, *siccans*, *nobleae*). Numerická metoda byla využita i pro zjišťování intraspecifické variability u druhů *Bipolaris sorokiniana* v Kanadě roku 1982. U hub rodu *Alternaria* využil poprvé metodu numerické taxonomie Joly roku 1969.

Pokud jsou k dispozici nejmodernější určovací pomůcky a literární údaje publikované v posledních letech, pak by determinace jak alternarií tak i drechsler neměla činit

žádné větší potíže. Problémy budou u druhů obtížně rozlišitelných, u kterých je nezbytné hodnotit co nejvíce znaků, anebo v případech, kdy publikované diagnózy jsou nepřesné, lépe řečeno směsné. Je tomu tak u originální diagnózy druhu *Drechslera dictyoides*, která současně zahrnuje i diagnózu odlišného druhu *Drechslera siccans*. Oba druhy se vyskytují současně na stejných hostitelích (jílek, kostřeva) a z toho pak vyplývají záměny a nepřesné determinace. Obdobně tak tomu je i u originální diagnózy druhu *Alternaria infectoria*, která zahrnuje i údaje směsné příměsi *Alternaria alternata*.

Značnou výhodou determinace parazitických hub je jejich specifická vazba na určitého hostitele anebo úzký okruh hostitelů. Největší pozornost je proto nutné věnovat polyfágním druhům, schopným se vyskytovat na více hostitelích, často i rozdílných čeledí. Podmínkou úspěšné determinace je proto v první řadě zvládnout determinaci polyfágních druhů v celé šíři jejich variability (pro naše podmínky připadají v úvahu druhy: *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Drechslera biseptata*, *D. spicifera*, *Bipolaris sorokiniana*, *B. cynodontis* a *Drechslera tritici - repentis*).

Studiu a sběru hub rodů *Alternaria*, *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum* nebyla u nás v minulosti věnována celkem žádná větší pozornost. Bylo to způsobeno nedokonalou orientací sběratelů v taxonomii uvedených rodů. Nedostatek kvalitních určovacích pomůcek a značná variabilita konidií způsobily, že jednotlivé druhy nebyly prakticky rozlišovány. V československých herbářích se ze starší doby nalézají jen velmi skromný počet sběrů Baudyše, Pichauera, Zavřela a výjimečně i jiných sběratelů. Tyto sběry vyžadují důkladnou revizi a přeurčení podle nejnovějších taxonomických poznatků.

Úroveň poznání hub rodu *Alternaria* se dostala na vyšší stupeň až po druhé světové válce, zásluhou Neergaarda, který roku 1945 publikoval významnou studii, zahrnující 18 dru-

hů. Výrazný pokrok poznání hub rodu *Alternaria* nastává až počátkem šedesátých let. Jolyho práce z roku 1964 uvádí již 121 druhů. Další poznatky, které prohloubily taxonomické poznání hub rodu *Alternaria* byly publikovány následujícími autory: Rao (1965, 1971, 1977), Joly (1969), Simmons (1965, 1981, 1982, 1986).

V Československu publikoval poprvé seznam sběru hub roku 1974 Ondřej v časopise Slezského muzea v Opavě (ser. A., 23: 145-152). V tomto seznamu bylo uvedeno 16 druhů (z toho dva druhy nové pro ČSSR - *A. eryngii* a *A. scirpicola* a dva druhy byly popsány jako zcela nové druhy: *A. thalictрина* a *A. calendulae*). V průběhu dalších let byl výskyt druhů hub rodu *Alternaria* z našeho území průběžně doplňován mykofloristickým výzkumem. Sběry do roku 1982 jsou uloženy ve sbírkách Slovenského národního múzea v Bratislavě. Sběry od roku 1983 jsou zatím ve vlastnictví autora.

K 31. 12. 1988 je z území ČSSR znám výskyt již 31 druhů hub rodu *Alternaria* (viz seznam). K zajímavým druhům po stránce taxonomické patří *Alternaria infectoria* z jílku, *A. resedae* z rezedy, *A. helianthinficiens* ze slunečnice, *A. gypsophilae* z knotovky, *A. anthyllidis* z úročníku, *A. leucanthemi* z kopretiny a *A. caricina* z *Carex brizoides*.

Při srovnání úrovně četnosti a počtu sbíraných druhů s mykologicky vyspělou evropskou zemí Anglií, jsme na tom lépe. V Anglii je zaregistrován výskyt 26 druhů alternarií (společných druhů je 18, z druhů sbíraných u nás, nebylo v Anglii nalezeno 11 a naopak z druhů zjištěných v Anglii, nebylo u nás doposud nalezeno 6 druhů). Po stránce sběratelské aktivity a mykofloristického průzkumu nemusíme tedy mít žádné výčitky svědomí. Horší to ale je s propagací získaných poznatků v mezinárodním evropském měřítku.

Co se týče hub, řazených dříve do souhrnného rodu *Helminthosporium*, který je dnes rozčleněn na rody *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum*, je možné konstatovat, že těmto rodům byla a stále je v celosvětovém

měřítku věnována mnohem větší pozornost, než houbám rodu *Alternaria*. Tato situace se pochopitelně odráží i ve vysoké úrovni poznatků o taxonomii jednotlivých druhů. K významným autorům, kteří značnou měrou přispěli ke studiu těchto hub patří Drechsler (1923), Nisikado (1927, 1928, 1929), Ito (1930), Luttrell (1954, 1955, 1957, 1963, 1964, 1977, 1978), Shoemaker (1959, 1962), Scharif (1961, 1963), Subramanian a Jain (1964), Alcorn (1982, 1983, 1988), Lam (1984, 1985), Sivanesan (1984, 1985, 1987).

V Anglii je zaregistrován výskyt dvaceti druhů hub rodů *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum*. Na území ČSSR je k 14. 12. 1988 znám výskyt 22 druhů (1 druh *Helminthosporium*, 2 druhy *Bipolaris*, 1 druh *Exserohilum* a 18 druhů *Drechslera*). Z uvedeného počtu byly na našem území roku 1988 popsány 3 druhy jako nové (*Drechslera holci*, *D. triseti* a *D. flavispora*). Jejich popisy byly publikovány roku 1988 v časopise *Česká Mykologie*. V roce 1969 byl v *České Mykologii* publikován seznam druhů zjištěných z území ČSSR s klíčem k jejich determinaci.

Rod *Helminthosporium* byl ustanoven již roku 1809 s typovým druhem *H. velutinum*. Konidiofory dorůstají na vrcholku bez sympodiální proliferace. Konidie vznikají z malých a málo zřetelných otvorů v buněčné stěně konidioforu. Parazité trav, popsání původně v rodě *Helminthosporium* se značně odlišovali od typového druhu *H. velutinum*. Konidiofory u nich proliferují sympodiálně, konidie se tvoří jednotlivě na vrcholu konidioforu. Jizvy po odpadlých konidiích jsou poměrně velké, výrazně zřetelné, díky zvýšené pigmentaci. Houby rodu *Helminthosporium* parazitující na travách byly rozčleněny Nisikadem (1928) do dvou podrodů: *Cylindro-Helminthosporium* (druhy s cylindrickými konidiemi, klíčícími ze všech buněk) a *Eu-Helminthosporium* (druhy s vřetenovitými konidiemi, klíčícími pouze z koncových buněk).

Rod *Drechslera* stanovil Ito (1930) pro druhy spadající do Nisikadova podrodu *Cylindro - Helminthosporium* (typový druh *Drechslera tritici - repentis*). Rod *Bipolaris* stanovil Shoemaker (1959) pro druhy spadající do Nisikadova podrodu *Eu - Helminthosporium* (typový druh *Bipolaris maydis*). Rod *Exserohilum* stanovili Leonard a Suggs (1974) pro druhy původně řazené v rodě *Bipolaris*, které se ale odlišují výrazně vyniklou (protuberantní) konidiální jizvou (typový druh *Exserohilum turcicum*).

Dodatečně se zjistilo, že pro rod *Drechslera* bylo o 89 let dříve stanoveno rodové jméno *Angiopoma* Lév. Mezinárodní botanický kongres roku 1987 rozhodl konzervovat jméno *Drechslera*.

Ve světové fytopatologické literatuře je rodové jméno *Helminthosporium* (pro druhy parazitující na travách) stále ještě velmi rozšířeno. Členění na rody *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum* není univerzálně akceptováno. Někteří autoři na druhé straně akceptovali pouze rod *Drechslera*, do kterého řadí i druhy patřící do samostatných rodů *Bipolaris* a *Exserohilum*.

Rozdíly mezi rody *Drechslera*, *Bipolaris* a *Exserohilum* jsou následující:

Klíčení konidií: Konidie buď klíčí ze všech buněk (rod *Drechslera*) anebo pouze z koncových buněk (rod *Bipolaris* a *Exserohilum*). Větší rozdíl je, jakým způsobem klíčí bazální buňka konidií. U rodu *Drechslera* klíčí zhruba v polovině mezi konidiální jizvou a přehrádkou a roste více méně v pravém úhlu na buněčnou stěnu. U rodu *Bipolaris* a *Exserohilum* klíčí těsně vedle konidiální jizvy a roste více méně dolů (tzv. semiaxiální klíčení). U rodu *Helminthosporium* klíčí z konidiální jizvy (tzv. percurrentní klíčení - obdobně tak jako u rodů *Corynespora*, *Sporidesmium*, *Exosporium*).

Ontogeneze přehrádek: Jednotlivé rody se mezi sebou odlišují v pořadí vytvářených přehrádek u tvořících se konidií. U rodů Drechslera a Exserohilum vzniká první přehrádka na bázi, u rodu Bipolaris vzniká uprostřed. V pořadí jako druhá se tvoří přehrádka u rodu Bipolaris na bázi, u rodu Drechslera uprostřed a u rodu Exserohilum ve vrcholu konidie.

Konidiální jizva: Konidiální jizva je důležitým taxonomickým znakem, zvláště pak její morfologie a rozměry. U rodu Drechslera je jizva hladce zaoblená (tvoří ji konkávní deprese v buněčné stěně s výraznou tmavou pigmentací). U rodu Bipolaris je zřetelný vystouplý okrajový val (tzv. papilární jizva). U rodu Exserohilum je konidiální jizva výrazně vyniklá. Často se vytváří kolem jizvy světlejší kroužek (kolárek). Ten je ale možné zjistit pouze při kultivaci na živné půdě.

Tvar konidií: Cilindrický tvar je charakteristický pro rod Drechslera, i když se v rámci rodu setkáváme i s tvarem kyjovitým, opak kyjovitým, červovitým, vejčitým či vřetenovitým. Tvar vřetenovitý je charakteristický pro rody Bipolaris a Exserohilum.

Vztah k teleomorphám je v taxonomii rozhodující a potvrzuje vhodnost a správnost členění na samostatné rody. U rodu Drechslera to je rod Pyrenophora, u rodu Bipolaris - Cochliobolus a u Exserohilum - Setosphaeria. Z tohoto hlediska je pak rod Curvularia velmi blízký k rodu Bipolaris, protože jeho teleomorpha patří rovněž k rodu Cochliobolus.

Ostatní znaky: Největší význam pro taxonomii mají konidie. Hodnotí se u nich tvar, velikost, zbarvení, počet přehrádek (distosept), zakřivení, tvar a rozměry aplikální a bazální buňky, zbarvení koncových buněk, intenzita zbarvení distosept, rozměry konidiální jizvy, šířka buněčných stěn, velikost jednotlivých buněk resp. vzdálenost mezi přehrádkami, poměr šířky apikální buňky (v místě přehrádky) k šířce bazální buňky (rovněž v místě přehrádky), poměr délky konidií k šířce a pod. Rovněž lze využít i odlišnosti v růs-

tových charakteristikách na živné půdě a rozdíly ve fyziologických vlastnostech (tvorba rozdílných pigmentů, metabolitů, antibiotik, toxinů). Na živných půdách je všeobecná tendence ke snižování rozměrů, k určité uniformitě nebo k redukci sporulace. Ke kultivaci se doporučuje sterilní sláma z obilovin umístěná na vodním agaru.

Literatura

- Alcorn J.L. (1982): New Cochliobolus and Bipolaris species. - Mycotaxon 15:1-19
- Alcorn J.L. (1983): Generic concepts in Drechslera, Bipolaris and Exserohilum - Mycotaxon 16: 353-379, 17: 1-86
- Alcorn J.L. (1988): The taxonomy of Helminthosporium species. - Ann. Rev. Phytopathol 26: 37-56
- Drechsler C. (1923): Some graminicolous species of Helminthosporium. - J. Agric. Res., Washington 24: 641-740
- Ellis M.B. (1971): Dematiaceous Hyphomycetes - Kew, 608 pp.
- Ellis M.B. et Ellis J.P. (1985): Microfungi on land plants. An Identification Handbook - London et Sydney, 818 pp.
- Ito S. (1930): On some new ascigerous stages of the species of Helminthosporium parasitic on cereals. - Proc. Imp. Acad, Japan, Tokyo 6: 352-355
- Joly P. (1964): Le genre Alternaria. Recherches physiologiques, biologiques et systématiques. - Editions Paul Lechevalier, Paris 250 pp.
- Joly P. (1969): Essais d'applications de méthodes de traitement numérique des informations systématiques I.-Étude du groupe des Alternaria sensu lato. - Bull. Soc. Myc. France, Paris, 85: 213-233

- Lam A. (1984): *Drechslera siccans* from ryegrass fields in England and Wales. - Trans. Br. Mycol. Soc., London, 83: 305-311
- Lam A. (1985): *Drechslera andersenii* sp. nov. and other *Drechslera* spp. on ryegrass in England and Wales. - Trans. Br. Mycol. Soc., London, 85: 595-602
- Leonard K.J. et Suggs E.G. (1974): *Setosphaeria prolata*, the ascigerous state of *Exserohilum prolatum*. *Mycologia* 66: 281-297
- Luttrell E.S. (1954): Approaches to the classification of *Helminthosporium* species. - Plant. Dis. Rep., New York, Suppl. 228: 111-113
- Luttrell E.S. (1955): A taxonomic revision of *Helminthosporium sativum* and related species. - Am. J. Bot., New York, 42: 57-68
- Luttrell E.S. (1957): *Leptosphaeria* (*Metasphaeria*) perfect stages for *Helminthosporium turcicum* and *H. rostratum*. - *Phytopathology*, New York, 47: 313
- Luttrell E.S. (1963): Taxonomic criteria in *Helminthosporium*. - *Mycologia*, New York. 55: 643-674
- Luttrell E.S. (1964): Systematic of *Helminthosporium* and related genera. - *Mycologia*, New York, 56: 119-132
- Luttrell E.S. (1977): Correlations between conidial and ascigerous state characters in *Pyrenophora*, *Cochliobolus* and *Setosphaeria*. - *Rev. Mycol.*, New York, 41: 271-279
- Luttrell E.S. (1978): Biosystematics of *Helminthosporium* in Biosystematics in Agriculture. - Beltsville Symposia in Agricultural Research 2 (Romberger J.A., Foote R.H. et al. eds.)- Montclair: Allanheld, Osmon et Co., Beltsville, 193-209 pp.

- Neergaard P. (1945): Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Taxonomy, parasitism, economical significance. - Copenhagen 560 pp.
- Nisikado Y. (1928): Studies on the Helminthosporium diseases of Gramineae in Japan. - Special Rept. Ohara Inst. Agr. Res. 4: 1-384
- Nisikado Y. (1929): Studies on the Helminthosporium diseases of Gramineae in Japan. - Ber. Ohara Inst. Landwirtsch. Forsch., Kurashiki, 4: 111-126
- Ondřej M. (1977): Sběry imperfektních hub rodu *Alternaria* Nees z území Moravy. - Čes. Slezského muzea, Opava, ser. A, 23: 145-152
- Ondřej M. (1988): Nové druhy hub rodu *Drechslera* Ito v Československu. - Čes. Mykol., Praha, 42: 84-89
- Ondřej M. (1989): Klíč k určování druhů rodu *Drechslera* Ito sensu lato zjištěných na území Československa.- Čes. Mykol., Praha 43: 45-50
- Rao V.G. (1965): The fungus genus *Alternaria* Nees in Bombay-Maharashtra I. - *Sydowia* 18: 44-64
- Rao V.G. (1971): An account of the fungus genus *Alternaria* Nees from India. - *Mycopath. Mycol. appl.* 43: 361-374
- Shoemaker R.A. (1959): Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from *Helminthosporium*. - *Can. J. Bot.*, Ottawa, 37: 879-887
- Shoemaker R.A. (1962): *Drechslera* Ito. - *Can. J. Bot.*, Ottawa, 40: 809-836
- Scharif G. (1961): Studies on graminicolous species of *Helminthosporium* I. *H. phlei* (Graham) comb. nov. - *Trans. Br. Mycol. Soc.*, London, 44: 217-219
- Scharif G. (1963): Continue of Studies on Graminicolous Species of *Helminthosporium*. - Teheran: Ministry of Economy's Press, 97 pp.

- Simmons E.G. (1981): *Alternaria* themes and variations (1-6). - *Mycotaxon* 13: 16-34
- Simmons E.G. (1982): *Alternaria* themes and variations (7-10, 11-13). - *Mycotaxon* 14: 17-43, 44-57
- Simmons E.G. (1986): *Alternaria* themes and variations (14-16, 17-21, 22-26). - *Mycotaxon* 25: 195-202, 203-216, 287-308
- Simmons E.G. (1965): *Alternaria chrysanthemi*. - *Mycologia*, New York, 57: 140-143
- Sivanesan A. (1984): The Bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. - Vaduz, 701 pp.
- Sivanesan A. (1985): New species of *Bipolaris*. - *Trans. Br. Mycol. Soc.*, London, 84: 403-421
- Sivanesan A. (1987): Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. - *CAB Internat. Mycol., Inst., Mycol. Pap. No. 158*
- Subramanian C.V. et Jain B.L. (1966): A revision of some graminicolous *Helminthosporia*. - *Curr. Sci.* Bangalore, 35: 352-355

Seznam hub rodu *Alternaria* z území ČSSR (stav k 31. 12. 1988)

1. *A. alternata* (Fr.) Keissler
2. *A. amaranthi* (Peck) Venkatakrisnaiah
3. *A. anagallidis* Raebe
4. *A. anthyllidis* (Baudyš) Ondřej
5. *A. brassicae* (Berk.) Sacc.
6. *A. brassicicola* (Schw.) Wiltshire
7. *A. calendulae* Ondřej
8. *A. caricina* Ondřej
9. *A. consortiale* (Thüm.) Hughes

10. *A. cucumerina* (Ellis et Everh.) Elliott
11. *A. dauci* (Kühn.) Groves et Skolko
12. *A. dianthi* Stevens et Hall
13. *A. dianthicola* Neergaard
14. *A. eryngii* (Pers.) Hughes et Simmons
15. *A. gypsophilae* Neergaard
16. *A. helianthinificiens* Simmons, Walcz et Roberts
17. *A. infectoria* Simmons
18. *A. linicola* Groves et Skolko
19. *A. leucanthemi* Nelen
20. *A. malvae* Roum et Letendre
21. *A. porri* (Ellis) Cif
22. *A. radicina* Meier, Drechsler et Eddy
23. *A. resedae* Neergaard
24. *A. saponariae* (Peck.) Neergard
25. *A. scirpicola* (Fuckel) Sivanesan
26. *A. senecionis* Ell. et Neergaard
27. *A. sonchi* J.J. Davis
28. *A. solani* Sorauer
29. *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire
30. *A. thalictrina* Ondřej
31. *A. zinniae* M. B. Ellis

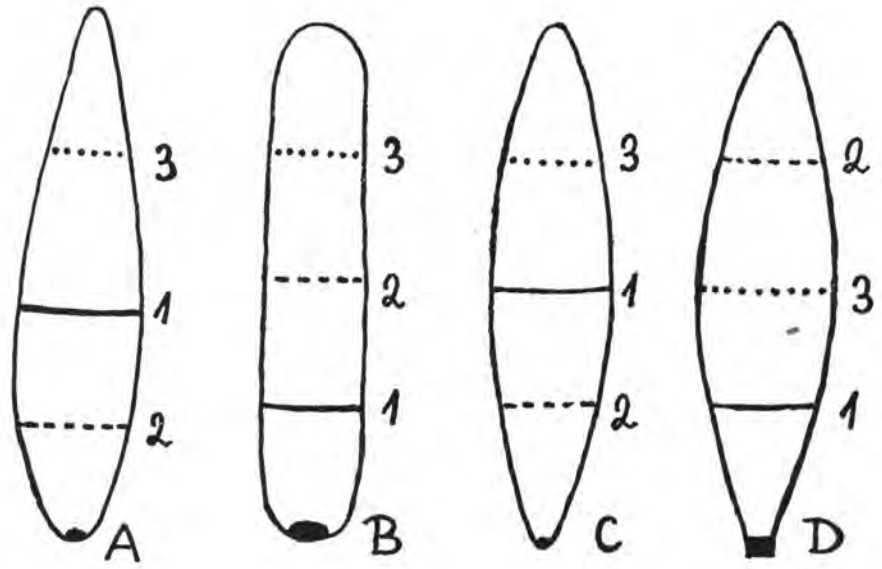
Seznam hub rodů *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Bipolaris*
a *Exserohilum* z území ČSSR (stav k 31. 12. 1988)

1. *Helminthosporium velutinum* Link
2. *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif
3. *D. biseptata* (Saac. et Roum.) Richardson et Fraser
4. *D. bromi* (Died.) Shoem.
5. *D. cactivora* (Petrač) M. B. Ellis
6. *D. dictyoides* (Drechsler) Shoem.
7. *D. erythrospila* (Drechsler) Shoem.
8. *D. flavispora* Ondřej
9. *D. fugax* (Wallr.) Shoem.
10. *D. graminea* (Rabenh.) Shoem.
11. *D. holci* Ondřej
12. *D. phlei* (Graham) Shoem.
13. *D. poae* (Baudyš) Shoem.
14. *D. siccans* (Drechsler) Shoem.
15. *D. spicifera* (Bainier) von Arx
16. *D. teres* (Sacc.) Shoem.
17. *D. triseti* Ondřej
18. *Bipolaris cynodontis* (Marignoni) Shoem.
19. *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem.
20. *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard et Suggs.

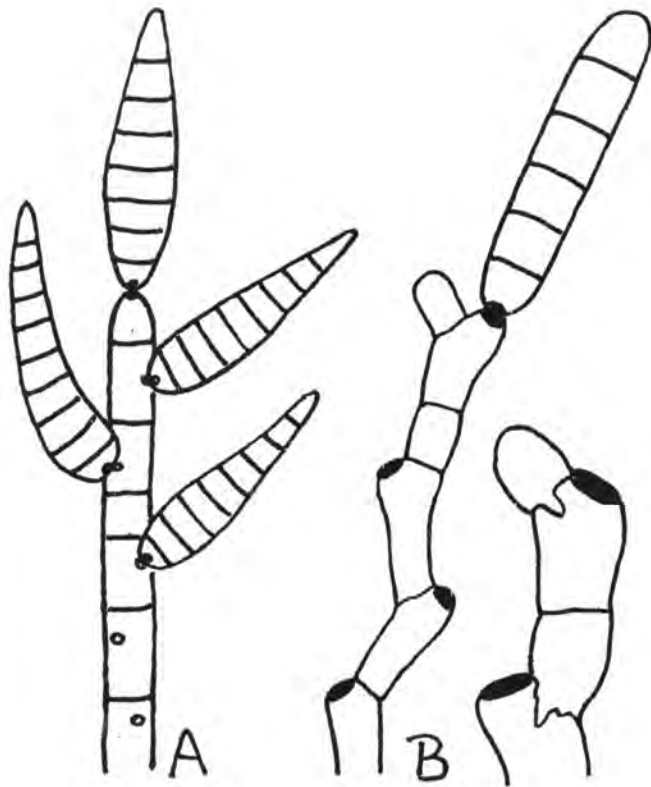
Obrazová příloha

- Obr. č. 1 Pořadí vzniku přehrádek u konidií jednotlivých rodů A - Helminthosporium, B - Drechslera, C - Bipolaris, D - Exserohilum
- Obr. č. 2 Rozdíly ve tvaru konidioforů. A - Helminthosporium, B - Drechslera, Bipolaris, Exserohilum (sympodiální proliferace)
- Obr. č. 3 Rozdíly ve způsobu klíčení bazální buňky konidií. A - Helminthosporium (percurentní klíčení), B - Drechslera, C - Bipolaris, Exserohilum (semiaxiální klíčení)
- Obr. č. 4 Rozdíly ve tvaru bazální buňky konidií a ve velikosti bazální jizvy, řada A - Alternaria, řada B - Drechslera, Bipolaris a Exserohilum

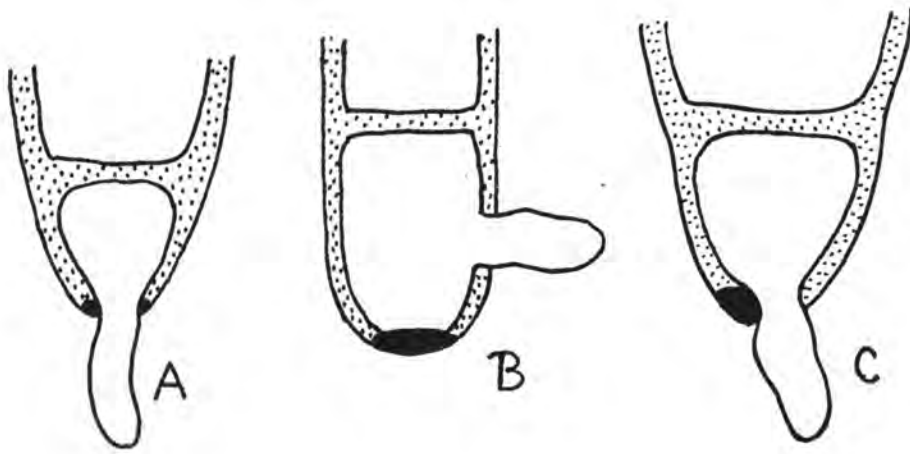
OBR. 1



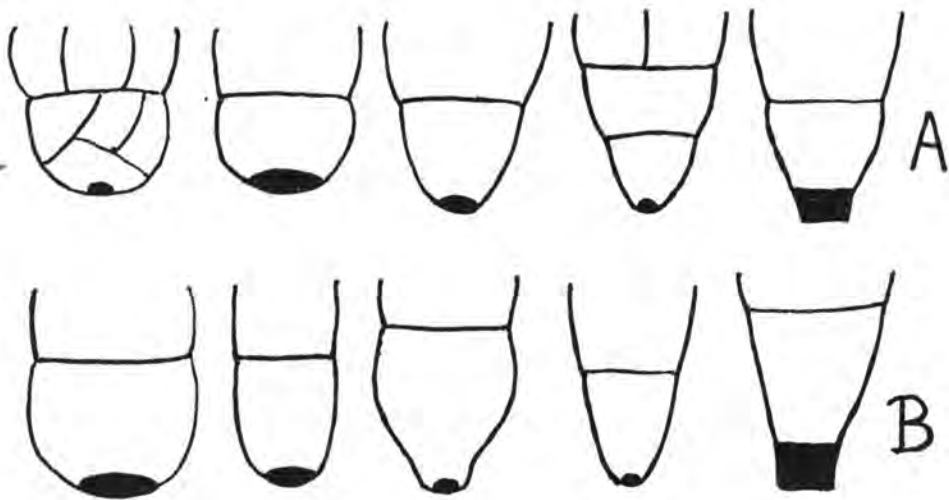
OBR. 2



OBR. 3



OBR. 4



Poznámky k určování zástupců rodu *Cladosporium*

Karel Prášil, katedra botaniky Př. f. UK, Benátská 2, 128 01 Praha 2

Anamorfní rod *Cladosporium* Link: Fr. je jedním z mnoha taxonomicky rozsáhlých a ekonomicky důležitých rodů čeledi Dematiaceae (Hyphomycetes). Je známo, že některé druhy rodu *Cladosporium* náleží do životního cyklu teleomorfních rodů *Mycosphaerella* Johanson, *Venturia* Sacc. a *Apiosporina* Höhnelt (Loculoascomycetes). U mnoha dalších druhů r. *Cladosporium* však dosud nebyla souvislost s konkrétními teleomorfami prokázána. V odborné literatuře bylo zatím popsáno asi 540 druhů a variet r. *Cladosporium*. O mnohých lze předpokládat, že se jedná o synonyma již dříve popsaných druhů, u dalších bude nutno ověřit, zda skutečně náleží do rodu *Cladosporium*.

Určování jednotlivých druhů rodu a někdy i otázka správného zařazení studovaného materiálu do r. *Cladosporium* je často obtížné zejména proto, že dosud chybí (1) jasná rodová koncepce, (2) ucelené a souborné zpracování rodu včetně kritického zhodnocení dosud popsaných druhů a (3) jednoznačný a praktický určovací klíč. V následujícím příspěvku chci podat stručnou charakteristiku rodu, upozornit na základní určovací znaky některých druhů a předložit jednoduchý klíč na určování nejběžnějších druhů.

Z ekologického hlediska lze druhy r. *Cladosporium* rozdělit do tří skupin:

- a) saprofytické plurivorní druhy, většinou s kosmopolitním rozšířením (např. *Cl. cladosporioides*, *Cl. herbarum*, *Cl. sphaerospermum*);

- b) příležitostně parazitické a parazitické druhy na rostlinných hostitelích. U některých byla zjištěna zřetelná vazba na určitého hostitele (substrátová specificita) a v této souvislosti lze rozlišovat druhy teplých oblastí a druhy mírného pásma (např. *Cl. echinulatum*, *Cl. variabile*, *Cl. cucumerinum*);
- c) druhy patogenní pro teplokrevné živočichy, včetně člověka: *Cl. carrionii*, působící chromoblastomykózy, *Cl. bantianum* (= *Cl. trichoides*), původce cerebrálních phaeohyphomykóz a *Cl. devriesii*, působící podkožní phaeohyphomykózy. Teleomorfy těchto druhů zatím nejsou známy. Vzácně byly i některé běžně saprofytické druhy izolovány z nemocných živočišných tkání; v těchto případech se však předpokládá sekundární výskyt.

Jedním z faktorů, které ztěžují jasné vymezení a určování jednotlivých druhů, je značná morfologická proměnlivost, která je zvláště patrná u saprofytických druhů. Také při srovnání morfologických znaků téhož druhu na materiálu z přirozeného substrátu, z izolace (tj. z primární kultury) a po několikerém přeočkování na agarových půdách se projeví rozdíly v makroskopických i mikroskopických znacích.

Z uvedeného tedy plyne, že na jedné straně stojí poměrně nízká úroveň našich znalostí o taxonomii a ekologii druhů rodu *Cladosporium*, na druhé straně je nutno vzít v úvahu značnou ekonomickou důležitost jednotlivých druhů. Ta vyplývá z rozsáhlé spoluúčasti saprofytických druhů při rozkladu organického materiálu včetně potravin, a ze ztrát na pěstovaných rostlinách, způsobených parazitickými druhy rodu. Tento nesoulad vedl v r. 1989 k ustavení subkomise pro taxonomii r. *Cladosporium* při Mezinárodní komisi pro taxonomii hub. Lze předpokládat, že práce této komise, v níž jsou zastoupeni odborníci z mnoha zemí, přinese postupně výsledky ve všech shora uvedených otázkách.

Základní morfologická charakteristika rodu Cladosporium.

Zájemce o bližší rodové vymezení lze odkázat na práce do Vriese (1952), Ellise (1971) a von Arxe (1983). Kolonie na přirozeném substrátu rozlité či zřetelně ohraničené, na listech rostlin u parazitických druhů často ve formě drobných, kompaktních skvrnek (bodů), zelenavé, olivově šedé, hnědozelené až červené, na povrchu sametové, plstnaté až chmýřité, v místech bohaté sporulace moučnaté. Některé druhy mohou na přirozeném substrátu vytvářet stromatické útvary. Při kultivaci na agarových půdách (sladinový agar, Sabouraudův agar) se vytváří poměrně bohaté vzdušné i substrátové mycelium, kolonie dosahují při 20 °C za 10 dnů průměru asi 3-5 cm, po 30 dnech mohou dosahovat až průměru 10 cm; barva a vzhled odpovídá údajům na přirozeném substrátu s tím rozdílem, že vzdušné mycelium je bohatší.

Konidiofory jsou většinou výrazně odlišné od vegetativních hyf, vztyčené (tzv. makronematosní konidiofory), u některých druhů mohou být jen málo odlišné od vegetativních hyf a jen málo vystoupavé (tzv. semimakronematosní konidiofory). Konidiofory jsou hladké či kolénkaté, rovné nebo zakřivené, nevětvené nebo v horní části rozvětvené, u větvených konidioforů dochází často k tvorbě tzv. ramokonidií.

Ramokonidie jsou koncové (vrcholové) části větveného konidioforu, které se po produkci konidií lehce oddělují a přejímají funkci konidií. Hojný výskyt a charakteristický tvar ramokonidií je typický pro některé druhy (např. *Cl. cladosporioides*, *Cl. sphaerospermum*).

Konidiogenní buňky jsou integrované do hyfy, holoblastické, tzn. že vnější i vnitřní stěna konidiogenní buňky přispívá k tvorbě nové konidie.

Konidie se vytvářejí většinou v jednoduchých nebo větvených akropetálních řetízcích, tzn. že nejstarší konidie je

na bázi řetízku a nejmladší na vrcholu. U druhů s velkými konidii se konidie vytvářejí většinou jednotlivě. Tvar konidií přechází od téměř kulovitého přes eliptický, citronkovitý, soudkovitý až po téměř válcovitý, se zaoblenými konci, s jednou či dvěma prominujícími jizvami. Konidie mohou být světle olivové, zelenavé až nahnědlé, hladké či bradavčité, 1-3 (4) buněčné.

Určování jednotlivých druhů bývá založeno na kombinaci morfologických znaků, typu výživy a hostiteli. Za dosud nejúplnější určovací pomůcky lze považovat práce Ellis 1971, Ellis 1976 a Ellis et Ellis 1985. V první práci je uveden klíč k 15 druhům, sestavený na základě uvedených znaků. Druhá práce přináší klíč k dalším 28 druhům, klíč je založen výhradně na substrátové specificitě, nikoli na znacích morfologických, takže oba klíče nejsou navzájem propojitelné.

Substrátová specificita a typ výživy jsou znaky, které nelze pominout při taxonomickém rozboru druhů rodu *Cladospodium*. Na druhé straně se ale jedná o znaky, které lze těžko s určitostí stanovit u dané konkrétní položky či kultury při běžném rutinním určování. Proto je následující jednoduchý klíč na určování nejběžnějších druhů omezen na jednoduché, lehce zjistitelné morfologické znaky, které mohou posloužit pro rychlé orientační určení. Při potřebě větší taxonomické jistoty by však předběžné určení podle následujícího klíče vyžadovalo souhlasu i všech dalších znaků druhu, užívaných při celkovém popisu.

Poznámky ke znakům, použitým v klíči:

Charakter konidioforu: znaky jsou dobře patrné na preparátu ze sporulujícího materiálu. Konidiofor může být téměř hladký, většinou s dobře patrnými jizvami po odpadlých konidiích, především v aplikální části (obr. 1a), někdy bývá na konci mírně rozšířen v hlavici s dobře patrnými prominujícími jizvami (obr. 1b). Kolénkatý (genikulátní) konidiofor,

(obr. 1c) vzniká jako důsledek sympodiální proliferace konidiogenní buňky, zatímco typ konidioforu, označovaný jako nodulózní (tj. s klouby či ztluštěninami) vzniká perkurantní proliferací. Tento typ konidioforu je znám především u některých tropických druhů. U druhů mírného pásma se častěji setkáváme s Přejídným typem, označovaným jako genikulátně nodózní konidiofor (obr. 1d).

Jizvy po odpadlých konidiích bývají na konidioforu dobře patrné (objektiv 100x zvětšující), většinou prominující.

Přítomnost spirálovitě stočených vzdušných hyf je pomocný morfologický znak, sloužící při odlišení druhu *Cl. variable*. Tento znak může být dobře patrný na přirozeném substrátu (*Spinacea oleracea*), při kultivaci na agarových půdách však mizí.

Ze znaků, pozorovatelných na konidiích patří mezi nejdůležitější velikost, tvar, počet buněk a struktura povrchu konidií. Povrch konidií může být hladký, jemně bradavčitý (objektiv 100x zvětšující) nebo výrazně bradavčitý. Bradavičnatost konidií je lépe patrna ve vzduchových bublinách nebo ve vodním preparátu než v médiu na bázi laktofenolu.

Klíč k orientačnímu určování 9 běžných druhů r. *Cladospodium*:

- | | | |
|----|--|--------------------|
| 1a | konidiofory hladké či s terminální hlavicí | 2 |
| 1b | konidiofory kolénkaté nebo nepravidelně genikulátně nodózní, často s terminální hlavicí | 5 |
| 2a | celý konidiofor hladký | 3 |
| 2b | konidiofor \pm hladký, ale s terminální hlavicí s prominujícími jizvami, konidie 2-2,5x3-6 μ m | |
| | <i>Cl. tenuissimum</i> | |
| 3a | konidiofor bez prominujících jizev, konidie hladké, oválné 3-6x2-3,5 μ m | <i>Cl. resinae</i> |
| 3b | konidiofor s výrazně prominujícími jizvami | 4 |

- 4a konidie bradavčité, kulovité \varnothing 3-6 μm Cl. sphaerospermum
..... Cl. sphaerospermum
- 4b konidie hladké, citrónkovitého tvaru, 3-7x2-4 μm Cl. cladosporioides
..... Cl. cladosporioides
- 5a vzdušné mycelium na přirozeném substrátu bez spirálovitě stočených hyf 6
- 5b ve vzdušném myceliu na přirozeném substrátu jsou přítomny spirálovitě stočené hyfy, konidie bradavčité, 15-25x7-10 μm Cl. variabile
- 6a konidie jemně bradavčité, 4-7 μm široké, 1-2 buněčné, na nejrůznějším organickém materiálu ... Cl. herbarum
- 6b konidie výrazně bradavčité, více než 7 μm široké..... 7
- 7a konidie 7-10 μm široké, často 2-3 buněčné Cl. macrocarpum
..... Cl. macrocarpum
- 7b konidie válcovité, 10-22 μm široké, na *Allium cepa* Cl. allii-cepae
..... Cl. allii-cepae

Bližší údaje o uvedených druzích (v abecedním pořadí):

- Cl. allii-cepae (Ranojevič) M. B. Ellis (syn. *Heterosporium allii-ceae*) - konidie většinou jednotlivé, výrazně bradavčité, 1-3 buněčné, 30-90x10-22 μm , na listech *Allium cepa*.
- Cl. cladosporioides (Fresen.) de Vries - ramokonidie 1-2 buněčné, až 30 μm dlouhé, hojné, konidie se tvoří v dlouhých větvených řetízcích, jednobuněčné, elipsoidního či citrónkovitého tvaru, hladké, vzácně i jemně bradavčité, 3-7x2-4 μm . Snad nejrozšířenější, kosmopolitní druh, běžný na všech typech organického materiálu.
- Cl. herbarum (Pers.: Fr.) Link - konidiofory kolénkaté nebo genikulátně nodózní, bez tvorby ramokonidií. Konidie ve větvených řetízcích, bradavčité, 1-2 buněčné, (5) 8-15x4-7 μm , s drobnými, ale zřetelnými jizvami. Hojný polyfágní kosmopolitní druh na všech typech organického materiálu.

- Cl. macrocarpum* Preuss - konidiofory genikulátně nodózní, bez ramokonidií, konidie v krátkých řetízcích, 1-4 buněčné, bradavčité, 15-25x7-10 μm . Kosmopolitní druh, běžný na všech typech organického materiálu.
- Cl. resinae* (Lindau) de Vries - konidie elipsoidní, bez jizev, jednobuněčné, hladké, 3-6 (12) x 2-4 μm . Původně izolováno z leteckého benzínu a z půdy, později nalezeno na různých organických materiálech, obsahujících ropné produkty.
- Cl. sphaerospermum* Penz. - konidiofory vytvářející četné ramokonidie charakteristického tvaru, konidie kulovité nebo téměř kulovité, bradavčité, drsnost konidií je patrna především na vzduchu. Velmi rozšířený kosmopolitní druh, běžný na všech typech organického materiálu.
- Cl. tenuissimum* Cooke - velmi dlouhé (800 μm a více) konidiofory, hladké, někdy s terminální hlavicí a s dobře patrnými jizvami po odpadlých konidiích i ramokonidiích. Konidie v řetízkách, variabilního tvaru (elipsoidní, citrónkovité až téměř kulovité), hladké nebo jemně bradavčité, 3-25x3-6 μm . Poloparazitický druh, izolovaný z mnoha (převážně tropických) rostlin, ale i z půdy, porostlin a jiného organického materiálu.
- Cl. variabile* (Cooke) de Vries - konidiofory mírně kolénkaté, konidie v krátkých řetízcích, elipsoidní až válcovité se zaoblenými konci, výrazně bradavčité, 1-4 buněčné, 15-25x7-10 μm . Morfologicky velmi podobný druhu *Cl. macrocarpum*, stočené vzdušné hyfy a patogenicita pro špenát se považují za dostatečné odlišení na druhové úrovni.

V závěru chci krátce upozornit na některé další druhy, o kterých lze předpokládat, že se mohou vyskytovat také na území ČSSR.

- Cl. allii* (Ell. et G. W. Martin) P. M. Kirk et Crompton, syn.: *Heterosporium allii* - parazitický druh na listech *Allium porrum* a *A. sativum*.

- Cl. brassicae* (Ellis et Barth.) M. B. Ellis - tento druh patří do blízkosti druhu *Cl. macrocarpum*, zjištěn byl v USA na listech *Brassica oleracea*.
- Cl. britannicum* M. B. Ellis - na mrtvém dřevě listnáčů.
- Cl. carpophilum* (Thüm.) Oudem. - na plodech a listech *Prunus*, *Armeniaca*, *Persica*. Druh zjištěn v Austrálii a v jižní Africe, předpokládá se kosmopolitní rozšíření.
- Cl. chlorocephalum* (Fresen.) Mason et M. B. Ellis - na mrtvých listech *Paeonia*.
- Cl. cucumerinum* Ellis et Arth. - na listech a plodech *Cucumis sativa*, předpokládá se kosmopolitní rozšíření.
- Cl. echinulatum* (Berk.) de Vries, syn.: *Heterosporium echinulatum* - na listech a květech *Dianthus*, včetně pěstovaného hvozdíku karafiátu.
- Cl. elatum* (Harz) Nannf. - druh náleží do okruhu *Cl. cladosporioides*, nalezen na dřevě jehličnanů.
- Cl. humile* J. J. Davis - druh nalezen na přezimujících listech *Acer* v Severní Americe, lze předpokládat větší rozšíření.
- Cl. iridis* (Fautrey et Roum.) de Vries: poloparazit na nadzemních částech *Iris*, *Narcissus*, *Freesia* (listové skvrny).
- Cl. lacroixii* Desm. - náleží do okruhu druhu *Cl. macrocarpum*, poloparazit na listech *Narcissus*.
- Cl. ornithogali* (Klotzch) de Vries: na listech *Ornithogalum*.
- Cl. phlei* (C. T. Gregory) de Vries - na listech *Phleum pratense*.
- Cl. polygonati* M. B. Ellis - na listech *Polygonatum*.
- Cl. staurophorum* (Kendrick) M. B. Ellis: izolováno z mrtvých jehlic *Pinus sylvestris* a z lesní půdy. Pro tento druh je charakteristická tvorba tmavých, několikabuněčných chlamydospor.

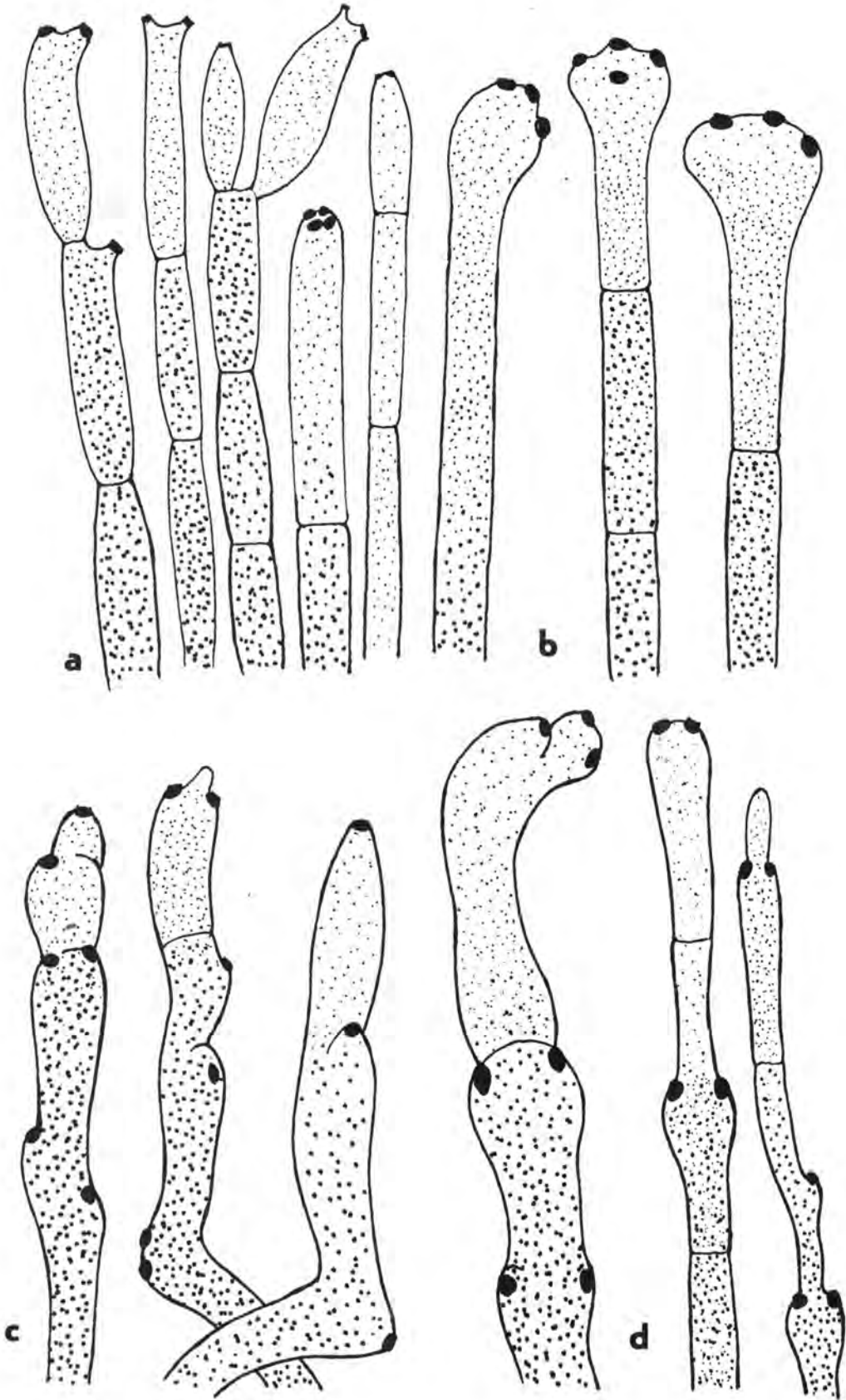
Literatura:

- Arx J.A. von (1983): *Mycosphaerella* and its anamorphs. - Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch., ser. C, Amsterdam, 86: 15-54
- Ellis M.B. (1971): *Dematiaceous Hyphomycetes*. - Kew, 608 pp.
- Ellis M.B. (1976): *More Dematiaceous Hyphomycetes*. - Kew, 507 pp.
- Ellis M.B. et Ellis J.P. (1985): *Microfungi on land plants. An identification handbook*. - London et Sydney, 818 pp.
- Vries G.A. de (1952): *Contribution to the knowledge of the genus Cladosporium Link ex Fr.* - Baarn, 121 pp.

Obrazová příloha

- Obr. 1 Typy konidioforů u druhů rodu *Cladosporium*
- a) hladký konidiofor
 - b) konidiofor s terminální hlavicí
 - c) kolénkatý (genikulátní) konidiofor
 - d) genikulátně nodózní konidiofor

OBR. 1



Metodika izolace a determinace půdních hyfomycetů

Alena Řepová, Ústav půdní biologie ČSAV, Na sádkách 7,
370 05 České Budějovice

Půdní mikroskopické houby zahrnují celou řadu taxonomických a ekologických skupin mikromycetů vyskytujících se v půdě. V půdě se nacházejí zástupci nematofágních, entomofágních a ovicidních hub, dále zástupci fakultativních parazitů rostlin a živočichů - tyto houby v půdě přežívají ve formě spór, sklerocií, chlamydospór apod. nebo v půdním prostředí probíhá část jejich životního cyklu - a dále zástupci vlastních půdních mikromycetů, mezi které jsou řazeny saprofytické houby rhizosféry, rhizoplánu a tzv. volné půdy. Z taxonomického hlediska se v půdě vyskytují zástupci buněčných hlenek, zygomycetů, kvasinek, askomycetů a imperfektních hub.

Spektrum izolovaných druhů mikromycetů z půdního prostředí je závislé jak na použité metodě izolace, tak na použitém izolačním médiu. Nejběžněji používanou metodou pro izolaci hub z půdy je zředovací metoda (izolace z půdní suspenzce pipetované na povrch živné půdy), která se používá nejen pro izolaci mikromycetů, ale také pro stanovení celkového počtu kolonií v 1 g suché půdy. Jako izolační médium se často používá vodní a Czapek-Doxův agar a hlavně půdní agar s bengálskou červení. Toto živné médium má oproti jiným médiím značné výhody. Přítomnost bengálské červeně umožňuje lepší izolaci narostlých kolonií, protože jednak omezuje růst kolonií mikromycetů a zabraňuje vzájemnému prorůstání kolonií na Petriho miskách, a současně vzhledem k bakteriostatickému účelu bengálské červeně je značně omezen nebo úplně potlačen výskyt bakterií na Petriho miskách. Určitou nevýhodou tohoto izolačního média je nižší zastoupení mukorovitých hub a poměrně špatná rozlišitelnost kolonií různých druhů hub, hlavně zástupců řádu Mucorales.

Pro lepší zachycení některých zástupců řádu Mucorales (inhibice růstu přítomností bengálské červeně), ale i např. zástupců čeledi Dematiaceae, je vhodné používat půdní agar bez bengálské červeně. Nevýhodou tohoto živného média však je vyšší výskyt kvasinek, které často omezují možnost izolace ostatních kolonií mikromycetů.

Holandskými mykology je pro izolaci mikromycetů z půdy používán třešňový agar (cherry decoction agar). Toto poměrně chudé izolační médium s pH 3,8-4,6 má poměrně dobrou záchytnost mikromycetů; nevýhodou je poněkud pomalý růst kolonií, jejich nevýraznost a tím i obtížnější rozlišitelnost. Pro zlepšení růstu kolonií na plotnách je možné využívat modifikované médium s přidáním glukózy nebo sacharózy. Obě živná média - původní i modifikovaná - neumožňují vzhledem k nízkému pH růst bakterií, ale opět se u nich projevuje dobrý růst kvasinek, které mohou znemožňovat izolaci ostatních mikromycetů. Modifikované médium poskytuje dobrou záchytnost mikromycetů při izolaci hub z ovzduší.

Pro doplnění druhového spektra mikromycetů z půdy je možné také používat sladinový agar s bengálskou červení. Přítomnost této látky v médiu opět poněkud omezuje růst kolonií a spolu s antibiotiky zamezuje výskyt bakterií na plotnách, přičemž rozlišitelnost na základě morfologie a zbarvení kolonií je mnohem lepší než u předcházejících agarů. Nevýhodou je pouze rychlejší růst kolonií, a to zvláště některých zástupců řádu Mucorales a rodu *Trichoderma*.

Cílem každé izolace z půdního prostředí je získat čisté kultury mikromycetů a jejich identifikace. Před vlastní determinací získaných kmenů mikromycetů je účelné rozdělit mikromycety do několika skupin. Do první skupiny je možné zařadit zástupce rodu *Penicillium* a *Aspergillus*, jejichž determinace se provádí na speciálních půdách

(Czapek-Doxův agar, malt extract agar, Czapek yeast autolyzate agar). Do druhé skupiny je možné zařadit značnou část izolovaných mikromycetů. Tyto kmeny je možné determinovat na sladinovém agru. V rámci této skupiny je ještě možné rozlišit několik dílčích skupin. Zástupce rodu *Trichoderma* je třeba pro determinaci nechat nejprve 8 dnů růst v termostatu, potom asi 1-2 dny na světle (dobrá sporulace a vybarvení kolonií). Mukorovité houby rostou na sladinovém agaru velice dobře a většinou i dobře sporulují, ale velice rychle na tomto agaru "stárnou" a proto je někdy potřeba kultivovat tyto kmeny souběžně ještě na nějakém chudším médiu (např. půdní agar bez přidání glukózy). Do třetí skupiny patří druhy, které na sladinovém agaru nejen dobře rostou, ale dobře a včas také sporulují. Poslední skupinu tvoří druhy mikromycetů dobře rostoucí na sladinovém agaru, ale na tomto agaru neurčitelné, protože zůstávají sterilní. Pro tyto kmeny je třeba použít jiná živná média, zpravidla chudší, na kterých dochází k omezení růstu vegetativního mycelia a ke sporulaci. V tomto případě jsou používány např. zeleninový, mrkvový nebo senný agar, případně speciálně doporučený agar pro určitý rod hyfomycetů nebo speciální způsob kultivace (např. u rodu *Fusarium* pro dosažení tvorby makrokonidií).

Přesto je třeba při determinaci některých skupin mikromycetů používat ještě sklíčkové kultury, protože při přípravě mikroskopických preparátů často dochází k rozlámání konidiofórů a ke znehodnocení důležitých determinačních znaků.

Systematika, morfologie a určovací klíče řádu Mucorales

Marie Váňová, Katedra botaniky Př. f. UK, Benátská 2, 128 01 Praha

1. Vymezení a charakteristika řádu Mucorales

Podstatné změny v systematice řádu provedl Kreisel (1969). Čeledi Dimargaritaceae a Kickxellaceae vyčlenil do nově ustanoveného řádu Kickxellales, platně popsaného až Benjaminem (Benjamin 1979). Čeleď Piptocephalidaceae přiřadil k řádu Zoopagales a čeleď Pilobolaceae (na základě vystřelovaných sporangií) do řádu Entomophthorales.

Nejšířeji pojali řád Mucorales Hesseltine et Ellis (1973), kteří členění podle Kreisela nepřijali a umístili do řádu Mucorales 14 čeledí a 64 rodů. Ve srovnání s prací Hesseltina (Hesseltine 1955) obohatili řád o později popsané čeledi Dimargaritaceae, Helicocephalidaceae a Syncephalastraceae a o nové čeledi Radiomycetaceae a Saksenaeeaceae (platně popsané až v práci Ellis et Hesseltine (1974)).

Pidopličko et Miřko (1971) publikovali zdařilý fotografický atlas zástupců řádu. Miřko (1974) vydává nejobsáhlejší souborné zpracování řádu od doby Zychy (1935) a Naumova (1935, 1936). V této práci Miřko navrhl vyčlenit čeleď Helicocephalidaceae do řádu Zoopagales.

Rozsáhlé je zpracování řádu ve Floře Polska (Skirgieřlo et Zadara, 1979), nezabývá se však taxonomickými problémy.

Benjamin (1979) přijal (s výjimkou zařazení čeledi Pilobolaceae) členění řádu podle Kreisela (1969). Zde platně (tj. s latinskou diagnózou) popsal řády Endogonales Moreau ex Benj., Zoopagales Bessey ex Benj. a Kickxellales Kreisel ex Benj., nově popsal řád Dimargaritales Benj.

Stejně třídění podle Benjamin (1979) zachovává i O'Donnell (1979) a v. Arx (1983). Von Arx se zaměřuje především na čeleď Mucoraceae, z níž vyčleňuje nové čeledi Absidiaceae a Phycomycetaceae; o čeledi Saksenaeaceae se nezmiňuje. Benny et al. (1985) popisují novou čeleď Mycotyphaceae.

Přidrží se pojetí řádu Mucorales podle Benjamin (Benjamin 1979), rozšířeného však o později popsání čeledi Absidiaceae, Phycomycetaceae a Mycotyphaceae.

Benjamin (1979) člení Zygomycetes do sedmi řádů: Mucorales, Zoopagales (zahrnující i Piptocephalidaceae), Endogonales, Entomophthorales, Dimargaritales, Kickxellales a Harpellales. Zařazení řádu Harpellales (dříve Trichomycetes) k Zygomycetes je nejisté, není však předmětem tohoto pojednání.

Zástupci řádu Mucorales mají stélku eukarpickou, tvořenou větvenými hyfami zprvu coenocytickými, později přehrádkovanými. Charakteristická je tvorba nepohyblivých jednobuněčných nepohlavních spor (sporangiospor), tvořených uvnitř vakovitých útvarů (sporangia, sporangioly, merosporangia). Chlamydospory jsou často přítomné. Pohlavní rozmnožování je charakterizováno splynutím dvou tvarově stejných nebo nestejných gametangií (iso- nebo anisogametangiogamie) a vytvořením zralé zygospor. Převážně se jedná o půdní typy, většinou saprofytické; méně často parazitují na jiných houbách nebo na cévnatých rostlinách, někdy způsobují zygomykózy u lidí a zvířat.

Dnešní systematika řádu není uzavřenou záležitostí; je založena především na morfologii nepohlavních rozmnožovacích struktur (anamorf) a na vnějším vzhledu zygospor. Zygosporu nalézáme většinou u homothalických druhů; u většiny převážně heterothalických druhů dosud vůbec známy nejsou. V poslední době je však velká pozornost věnována studiu podmínek vzniku pohlavního stadia (teleomorf),

což jistě přispěje pro vytvoření přirozenější klasifikace řádu na úrovni čeledí i rodů.

Iniciální stádium párování, tj. tvorba zygoforů a progametangií, závisí podle Schipper (1987) pouze na pohlavním typu a může se vyskytovat u partnerů zcela odlišných druhů. Dověšení procesu, tj. vznik zralých zygospor, začíná rozpouštěním dotykové stěny a je považováno za druhově specifické. Obecně platí, že blízkce příbuzné druhy vyžadují podobné podmínky pro tvorbu zygospor. Nepřítomnost zygospor však není dokladem genetického rozdílu, neboť tvorba zygospor může být ovlivněna např. vztahem mezi pohlavně slabými partnery.

K produkci azygospor dochází jednak při párování kmenů stejného druhu, kdy se vytváří též zralé zygospory, jednak při párování kmenů odlišných druhů, kdy se zralé zygospory netvoří.

Zygospory jsou výsledkem interakce mezi různými hyfami nebo částmi hyf, které vylučují svoji specifickou látku - pohlavní hormon. U heterothalických druhů jsou potenciály (+) a (-) uloženy v hyfách různých kmenů, u homothalických druhů jsou kopulující hyfy propojeny buď již v substrátě nebo až ve vzdušném myceliu, ale polohy (+) a (-) potenciálů jsou vždy zcela odděleny.

Azygospory jsou tvořeny pouze na jedné jediné poloze, která proto musí být geneticky (+/-). Schipper (1978) zjistila, že azygospory jsou často menší a světlejší a někdy také slabě znetvořené a ve srovnání s tvorbou zygospor vznikají spíše později. Při sledování azygospor během jejich vývoje bylo zjištěno, že nedochází k rozpouštění dotykové stěny progametangií a vyvíjí se pouze jeden suspensor. Pod SEM připomínají azygospory u mezidruhového párování normální zygospory zastavené v časovém stádiu vývoje (Stalpers et Schipper 1980). Můžeme říci, že ačkoliv vět-

šina heterothalických kmenů reaguje buď jako (+) nebo (-), oba sexuální potenciály jsou pravděpodobně vždy přítomné (Schipper et Stalpers 1980).

Podle Benjamina (1979) s doplněním prací v. Arx (1983) a Benny et al. (1985) je řád Mucorales tříděn na 12 čeledí:

Absidiaceae v. Arx

Choanephoraceae Schroeter in Engler et Prantl

Cunninghamellaceae Naumov ex Benj.

Mortierellaceae Fischer in Rabenh.

Mucoraceae Dumort.

Mycotyphaceae Benny et Benj. in Benny et al.

Phycomycetaceae v. Arx

Pilobolaceae Corda ex Corda

Radiomycetaceae Hess. et Ellis

Saksenaeaceae Hess. et Ellis

Syncephalastraceae Naumov ex Benj.

Thamnidaceae Brefeld

Na území ČSSR nebyli dosud nalezeni zástupci čeledí Choanephoraceae, Radiomycetaceae a Saksenaeaceae.

2. Morfologická terminologie řádu Mucorales

S kompletním životním cyklem (holomorfo) se u heterothalických zástupců řádu setkáváme jen zřídka, neboť v přírodě se kompatibilní pohlavní pár potká vzácně a v laboratoři vytvořené zygospory klíčí velmi obtížně.

Protože není možné morfologicky odlišit jeden kmen jako samčí nebo samičí, používáme pro rozlišení pohlaví označení (+) a (-).

Připomeňme si životní cyklus druhu *Mucor mucedo* (obr.1). Ze sporangiospor (+) i (-) pohlavního typu (obr. 1:A) vyklíčí vegetativní mycelium (obr. 1:B) stejného pohlavní-

ho typu. Mycelium je tvořené typicky z větvených coenocytických, později více nebo méně přehrádkových hyf. Brzy se na něm diferencují sporangiofory (obr. 1:C), nepohlavní hyfy, na jejichž koncích se tvoří sporangia, obsahující ve zralosti sporangiospory. Sporangiospory vyklíčí opět ve vegetativní mycelium, na němž se vytvářejí sporangia. Jestliže se však hyfy vegetativního mycelia setkají s opačným pohlavním typem, neprodukují sporangiofory, ale začnou se tvořit charakteristické pohlavní hyfy, zygofoxy (obr. 1:D). Kompatibilní zygofoxy se k sobě vzájemně přitahují, až se dotknou a vytvoří pohlavní pár (obr. 1:E). Konce zygofoxy se naduřují, vznikají progametangia (obr. 1:F) a po vytvoření přehrádky vzniknou mnohojaderná gametangia nesená suspensory (obr. 1:G). Dotyková stěna gametangií se rozpustí a vzniká zygosporangium uzavírající tlustostěnou tmavou zygosporu (obr. 1:H a obr. 2: 1-4). Zralá zygospora po delším období klidu vyklíčí buď přímo v hyby vegetativního mycelia nebo v klíčící aporangium (obr. 1:J), čímž je cyklus uzavřen.

U zástupců řádu Mucorales rozeznáváme podle Benjamin (1979) čtyři typy spor podle vzniku. Jsou to zygospory -pohlavní spory, nepohlavní spory endogenní - sporangiospory a chlamydospory a nepohlavní spory exogenní - oidie.

Zygospory vznikají jako výsledek pohlavního procesu, gametangiogamie. U některých druhů kopulační větve mohou vyrůstat z normální hyfy, u jiných se tvoří na speciálních zygoforech. Povrch zygospory je hladký nebo různě ornamentovaný. Suspensory mohou být postaveny proti sobě nebo paralelně, často ve zralosti klešťovitě zahnuté; na povrchu jsou většinou hladké nebo drsné, někdy z jednoho či z obou suspensorů vyrůstají vláknité výběžky, obalná vlákna, jednoduchá nebo větvená. U rodu *Mortierella* Coem. jsou tato vlákna spletená s nejbližšími hyfami do pevné

plstě jako náznak plodnice, karposporu. Příležitostně se stane, že z jednoho gametangia se vytvoří bez pohlavního spojení zygospoře podobná azygospora.

Sporangiospory jsou různé velikosti a tvaru, na povrchu většinou hladké, vzácněji drsné nebo rýhované. Tvoří se uvnitř sporangií, aniž by se stěna sporangia podílela přímo na vzniku stěny sporangiospory (obr. 2:B).

Dalším typem nepohlavních endogenních spor jsou chlamydospory (obr. 2:D,E), které vznikají shlukováním a obalením různě velkých úseků mnohojaderné protoplazmy hyf. Vyskytují se poměrně často ve vegetativních hyfách, u některých druhů se vyskytují pravidelně ve sporangioforech. Typicky jsou hladké, tlusto- nebo tenkostěnné, terminální nebo interkalární. Jsou rozmanité velikostí a tvaru, ale většinou ⁺ kulovité, široce nebo úzce elipsoidní a mohou být téměř stejně široké nebo širší než hyfa, ve které se tvoří. Chlamydospory jsou morfologicky identické u taxonů mnoha čeledí a tak mají malý nebo vůbec žádný taxonomický význam. Sem patří i "obří buňky" rodu *Mycosladus*, což jsou chlamydospory vyplňující delší úsek hyfy, často nepravidelně tvarované a dále "stylospory" rodu *Mortierella* (Gams 1977).

Konečně posledním typem jsou exogenní spory, které u řady Mucorales jsou reprezentovány oidiiemi (též nazývané arthrospory, arthrokonidie, méně vhodný je název gemy) (obr. 2:C), které jsou charakterizovány tvorbou řetízků různě dlouhých elipsoidních nebo kulovitých spor, obecně tvořených ponořenými hyfami několika druhů rodu *Mucor*.

Sporangia obsahující sporangiospory mají různou velikost: od velkých mnohosporových, většinou s vyvinutou kolumelou nebo vzácněji bez kolumely, obsahující stovky nebo tisíce sporangiospor až k několika- i jednosporovým, s kolumelou, ale častěji bez kolumely. Tato jedno- až několikasperová sporangia nazýváme sporangioley. Sporangioley

jsou tedy malá sporangia, není žádného ostrého rozdílu mezi nimi a velkými sporangii; jedná se pouze o dohodu, aby se při popisu odlišila velká mnohosporová sporangia a menší jedno- až několikasperová a bylo ihned zřejmé, že se jedná o dva typy sporangií. Stejně tak merosporangia jsou modifikované protáhlé sporangioly, obsahující několik sporangiospor uspořádaných v řadě (obr. 5:F-H). U jednosporových sporangiol je zvláště při klíčení patrná dvouvrstevná stěna. Několikasporové sporangioly se vyskytují u čeledí Radiomycetaceae a Thamniaceae, v kombinaci s mnohosporovými sporangii u čeledí Mortierellaceae a Thamniaceae. Jednosporové sporangioly jsou známy u čeledí Cunninghamellaceae a Mycotyphaceae. Několikasporová merosporangia se vyskytují u čeledi Syncephalastraceae. Sporangia mohou mít stěnu vytrvalou nebo ve vodě rozpustnou a mohou být hladká či pokryta jehlicemi šťavelanu vápenatého.

Sporangia obsahují často, jak již bylo dříve uvedeno, sterilní sloupek, kolumelu (obr. 3:A,C,G), která může být velká nebo naopak silně redukováná (obr. 3:D,E). Tvar kolumel je důležitým taxonomickým znakem kmene. Kolumely se obnaží při uvolňování sporangiospor, bývají hladké nebo na vrcholku s jedním nebo více výběžky; také je často dobře patrný límeček u báze, což je zbytek stěny sporangia (obr. 3:A).

Sporangia se tvoří na specializovaných jednoduchých nebo větvených sporoforech. Ty vyrůstají přímo ze substrátových nebo vzdušných hyf, někdy ze speciálně přizpůsobených buněk substrátového mycelia - z trofocysty. Pro obecný název sporofory se u zástupců s mnohosporovými sporangii užívá termín sporangiofory. Sporofory bývají jednoduché či různým způsobem větvené, mohou vyrůstat jednotlivě, ve svazcích či v přeslenech. Mohou být někdy naduřelé pod sporangiem jako podsporangialní vak u zástupců čeledi

Pilobolaceae nebo jsou rozšířené v apofýzu různého tvaru u některých zástupců čeledi Absidiaceae. Sporofory jsou většinou válcovité, někdy se zužují směrem vzhůru nebo jsou nepravidelně rozšířené. U některých rodů jsou sporofory terminálně rozšířené ve sporogenní hlavice, z nichž vyrůstají na kratších či delších stopkách sporangioly nebo merosporangia; u některých rodů vyrůstají z těchto primárních sporogenních hlavic větve nesoucí sekundární sporogenní hlavice a teprve na nich se tvoří stopkaté sporangioly (obr. 5:A-E).

Vzdušné hyfy vegetativního mycelia vytvářejí někdy stolony, tj. dlouhé hyfy zpočátku vzpřímené, později se obloukovitě ohýbající a při dotyku se substrátem tvořící jednoduché nebo větvené rhizoidy.

Morfologií nepohlavních i pohlavních struktur u řádu Mucorales se podrobněji zabýval zvláště Benjamin (1979), Gooday (1973) a Cole et Samson (1979).

3. Klíč k určení jednotlivých čeledí řádu Mucorales:

- 1a) Zygospory na povrchu hladké nebo téměř hladké, se suspenzory klešťovitě zahnutými, opatřenými větvenými ostnitými výběžky; sporangiofory nevětvené, často velmi dlouhé a s kovovým leskem; zástupci rostoucí na exkrementech nebo na masitých plodnicích hymenomycetů Phycomycetaceae
- b) Zmíněné znaky se nevyskytují současně 2
- 2a) Sporangiofory se typicky zužují směrem k vrcholku; kolumely ve sporangiích a sporangiolách redukovány nebo chybějí; výrazné apofýzy nejsou vytvořeny; především půdní zástupci ... 3
- b) Zmíněné znaky se nevyskytují současně 4

- 3a) Zygospory na povrchu hladké, hyalinní, holé
nebo obalené větvenými vláknitými výběžky;
suspensory paralelní; kolonie bělavé, typicky
s česnekovou vůní ... Mortierellaceae
- b) Zygospory neznámé; kolonie bílé, růžové, béžové
až šedočerné, vždy bez česnekové vůně ...
... Mucoraceae (Micromucor, Umbelopsis)
- 4a) Mnohosporová sporangia vždy vytvořena; sporangioly
chybějí ... 5
- b) Mnohosporová sporangia přítomná nebo chybějí; sporangioly
vždy vytvořeny ... 8
- 5a) Sporangia kulovitá, opakvejčitá nebo hruškovitá ... 6
- b) Sporangia ve tvaru kuželky (obr. 3:F) nebo válcovitá
s ostnatými výběžky ... Saksenaeaceae
- 6a) Zygospory (pokud jsou známy) s paralelně uloženými
suspensory; sporangia se stěnou vytrvalou, nahoře
zesílenou a pigmentovanou... ... Pilobolaceae
- b) Zygospory (pokud jsou známy) se suspensory proti
sobě postavenými; sporangia se stěnou jiných
vlastností ... 7
- 7a) Zygospory vždy holé, na povrchu s různě tvarovanými
výběžky; sporangia kulovitá a bez zřetelné apofýzy ...
... Mucoraceae
- b) Zygospory holé nebo obalené vláknitými výběžky
vyrůstajícími z jednoho, či z obou suspensorů,
na povrchu hladké, bradavičnaté nebo s prstenco-
vitými brázdami; sporangia obvykle s apofýzou ...
... Absidiaceae

- 8a) /4/ Suspenzory proti sobě postavené; několikasperová jednořadá merosporangia pučí současně ve velkém počtu na sporogenních hlavicích Syncephalastraceae
- b) Suspenzory proti sobě postavené nebo paralelní; několikasperová merosporangia nevytvořena 9
- 9a) Zygospory (pokud jsou známy) vznikají mezi proti sobě postavenými suspenzory s přívěsky; sporangiololy vznikají na sekundárních sporogenních hlavicích; mnohosporová sporangia chybějí Radiomycetaceae
- b) Sporangiololy nevznikají nikdy na sekundárních sporogenních hlavicích; mnohosporová sporangia přítomná nebo chybějí, nikdy však v kombinaci s hyalinními zygosporami, tvořenými mezi proti sobě postavenými přívěskatými suspenzory 10
- 10a) Suspenzory paralelní; sporangiospory tmavě zbarvené, na povrchu rýhované a typicky s vláknitými přívěsky na pólech; mnohosporová sporangia se zřetelnou kolumelou a s vytrvalou stěnou, ve zralosti praskající na dvě poloviny Choanephoraceae
- b) Suspenzory proti sobě postavené; sporangiospory jiných vlastností; jsou-li přítomná mnohosporová sporangia, pak stěna nepraská ve zralosti na dvě poloviny 11
- 11a) Mnohosporová sporangia vždy chybějí; přítomné pouze jednosporové sporangiololy vznikající na sporogenních hlavicích 12
- b) Mnohosporová sporangia přítomná nebo chybějí; přítomné jedno- nebo několikasperové sporangiololy nebo oba typy sporangiol současně; jednosporové sporangiololy vznikají na drobných sporogenních hlavicích na nerozšířených hyfách Thamniaceae

- 12a) Sporogenní hlavice vytvářeny na sporoforech terminálně nebo na \pm přeslenitě uspořádaných postranních větvích; sporangioly oddělovány od sporogenních hlavic bez stopky; pučivé buňky nevytvořeny
... Cunninghamellaceae
- b) Sporogenní hlavice netvořeny na \pm přeslenitě uspořádaných větvích; sporangioly oddělovány i s částí stopky; pučivé buňky přítomné Mycotyphaceae

4. Klíč k určení rodů řádu Mucorales zjištěných na území ČSSR

- 1a) Mnohosporová sporangia vždy tvořena; jedno- i několika-sporové sporangioly chybějí 2
- b) Mnohosporová sporangia mohou být tvořena; sporangioly nebo merosporangia vždy přítomny 17
- 2a) Stěna sporangií vytrvalá, většinou v horní části ztlustlá a pigmentovaná 3
- b) Stěna sporangií jiných vlastností 4
- 3a) Podsporangialní zduřeniny i trofocysty přítomné ..
... Pilobolus
- b) Podsporangialní zduřeniny i trofocysty chybějí ...
... Pilaira
- 4a) Druhy rostoucí na masitých plodnicích hymenomycetů.. 5
- b) Druhy rostoucí na jiných substrátech 6
- 5a) Sporangiofory opakovaně dichotomicky větvené... Syzygites
- b) Sporangiofory jednoduché nebo větvené jiným způsobem ...
... Spinellus
- 6a) Sporangia hruškovitá 7
- b) Sporangia kulovitá 8

- 7a) Sporangiofory tvořeny na stolonech většinou ve svazcích, či v přeslenech; přehrádka pod apofýzou ve vzdálenosti 10-15 μm Absidia
- b) Sporangiofory nepravidelně uspořádány na stolonech, svazky a přesleny nejsou obvyklé; přehrádka pod apofýzou, je-li vytvořena, pak ve větší vzdálenosti Mycocladus
- 8a) Kolumely drobné nebo velmi redukované 9
- b) Kolumely poměrně velké 10
- 9a) Apofýzy polokulovité nebo pohárkovité přítomny; zúžení mezi apofýzou a kolumelou zřetelné Gongronella
- b) Apofýzy chybějí Mortierella
- 10a) Sporangiofory tvořeny na stolonech proti rhizoidům Rhizopus
- b) Sporangiofory tvořeny na jiných místech 11
- 11a) Rhizoidy i stolony přítomné, i když někdy slabě vyvinuty 12
- b) Rhizoidy i stolony chybějí 13
- 12a) Termofilní druhy, rhizoidy a stolony slabě vyvinuté Rhizomucor
- b) Mezofilní druhy; rhizoidy a stolony četné... .. Actinomucor
- 13a) Homothalické druhy s jedním suspenzorem silně zduřelým Zygorhynchus
- b) Homothalické nebo heterothalické druhy se suspenzory \pm stejnými 14

- 14a) Všechny sporangiofory circinátní, většinou vyrůstající ve svazku; stěna sporangia vytrvalá ... Circinella
- b) Primární sporangiofory přímé, jednoduché nebo větvené; stěna sporangia obvykle rozpustná 15
- 15a) Sporangiofory s kovovým leskem a delší než 0,5 cm Phycomyces
- b) Sporangiofory bez kovového lesku a většinou kratší ..16
- 16a) Haustoriální parazité na jiných zástupcích řádu Mucorales Parasitella
- b) Neparazitické druhy Mucor
- 17a) /1/ Mnohosporová sporangia i sporangioly přítomné .. 18
- b) Mnohosporová sporangia chybějí, přítomná pouze mero-sporangia nebo sporangioly 22
- 18a) Sporangia i sporangioly s apofýzou; postranní větve nesoucí sporangioly vyrůstají [†] v přeslenech Thamnostylum
- b) Sporangia i sporangioly bez apofýzy 19
- 19a) Postranní větve nesoucí sporangioly dichotomicky větvené Thamnidium
- b) Postranní větve nesoucí sporangioly jednoduché nebo jinak větvené 20
- 20a) Sporangiooly hruškovité Pirella
- b) Sporangiooly kulovité 21
- 21a) Postranní větve nesoucí sporangioly vyrůstají jednotlivě z hlavního sporoforu; primární sporofor bez sterilního ostnu Backusella

- 21b) Postranní větve nesoucí sporangioly vyrůstají na interkalárních zduženinách v přeslenech, ojedinele jednotlivě; primární sporofor alespoň někdy zakončen sterilním ostnem ... Helicostylum
- 22a) /17/ Jednosporové sporangioly nebo několikasperová merosporangia vyrůstají vždy ve velkém množství na sporogenních hlavicích 23
- b) Sporogenní hlavice nevytvořeny 26
- 23a) Sporofory vždy zakončené sterilními ostny Chaetocladium
- b) Sterilní ostny chybějí 24
- 24a) Několikasporová merosporangia vytvořená Syncephalastrum
- b) Několikasporová merosporangia chybějí 25
- 25a) Sporangiooly odpadávají od sporogenní hlavice bez stopky Cunninghamella
- b) Sporangiooly odpadávají i s částí stopky Mycotypha
- 26a) Druhy s výraznou česnekovou vůní Mortierella
- b) Druhy bez česnekové vůně 27
- 27a) Druhy bez zřetelné kolumely; sporangiofory tvoří okolíky Umbelopsis
- b) Druhy se zřetelnou kolumelou; sporangiofory netvoří okolíky Micromucor

Literatura:

- Arx, J. A. (1983): On Mucoraceae s. str. and other families of the Mucorales. - *Sydowia*, Horn, 35: 10-36
- Beckett, A., Heath, I. B. et Mc Laughlin, D. J. (1974): An atlas of fungal ultrastructure. - 221 p., London
- Benjamin, R. K. (1979): Zygomycetes and their spores. - In: Kendrick W. B. (ed.): *The Whole Fungus 2*: 573-621, Ottawa
- Benny, G. L., Kirk, P. M. et Samson, R. A. (1985): Observations on Thamniaceae. III. Mycotyphaceae fam. nov. and a re-evaluation of Mycotypha sensu Benny et Benjamin illustrated by two new species. - *Mycotaxon*, Ithaca, 22: 119-148
- Bracker, C. E. (1968): The ultrastructure and development of sporangia in *Gilbertella persicaria*. - *Mycologia*, Lancaster, 60: 1016-1067
- Cole, G. T. et Samson R. A. (1979): Patterns of development in conidial fungi. - 190 p., London
- Domsch, K. H. et Gams, W. (1972): *Fungi in Agricultural Soils* - Longman, London
- Ellis, J. J. et Hesselstine, C. W. (1974): Two new families of Mucorales. - *Mycologia*, Lancaster, 66: 87-95
- Fischer, A. (1892): Die Pilze. IV. Phycomycetes: Mucorineae. - In: Rabenhorst's *Krypt.-Fl. Deutschl. Oesterr. Schweiz*, 1: 161-310, Leipzig
- Gams, W. (1977): A key to the species of *Mortierella*. - *Persoonia*, Leiden, 9: 381-391
- Gooday, G. W. (1973): Differentiation in the Mucorales. - *Symp. Soc. Gener. Microbiol.*, Cambridge, 23: 269-294

- Hesseltine, C. W. (1955): Genera of Mucorales with notes on their synonymy. - *Mycologia*, Lancaster, 47: 344-363
- Kreisel, H. (1969): Grundzüge eines natürlichen Systems der Pilze. - 245 p., Jena
- Miřko, A. A. (1974): Opređeliteř mukorařnych gribov.- 303 p., Kiev
- Naumov, N. A. (1935): Opređeliteř Mukorov_ych (Mucorales). Ed. 2. - 136 p., Moskva et Leningrad
- Naumov, N. A. (1939): Clés des Mucorinées (Mucorales). - In: Encykl. Mycol. 9: 1-137, Paris
- O'Donnell, K. L. (1979): Zygomycetes in culture. - 257 p., Georgia
- Pidoplićko, N. M. et Miřko, A. A. (1971): Atlas mukorařnych gribov. - 115 p., Kiev
- Saksena, S. B. (1953): A new genus of the Mucorales. - *Mycologia*, Lancaster, 45: 426-436
- Schipper, M. A. A. (1978): On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. - *Stud. Mycol.*, Baarn, 17: 1-52
- Schipper, M. A. A. (1987): Mating ability and the species concept in the Zygomycetes. - In: Rayner, Brasier et Moore (eds.): *Evolutionary biology of the fungi*, 465 p., Cambridge
- Scipper, M. A. A. et Stalpers, J.A. (1980): Various aspects of the mating system in Mucorales.-*Persoonia*, Leiden, 11: 53-63
- Stalpers, J. A. et Schipper M. A. A. (1980): Comparison of zygospore ornamentation in intra- and interspecific matings in some related species of *Mucor* and *Backusella*.-*Persoonia*, Leiden, 11: 39-52

Skirgiełło, A. et Zadara, M. (1979): Glonowce (Phycomycetes) Pleśniakowe (Mucorales). - In: Fl. Polska, Grzyby (Mycota), p 7-271, Warszawa et Kraków

Zycha, H. (1935): Mucorineae. - In: Kryptogamenfl. Mark Brandenburg 6a: 1-264, Leipzig

Obrazová příloha:

Obr. 1

Životní cyklus druhu *Mucor mucedo* (podle Gooday 1973)

- A - sporangiospory
- B - vegetativní mycelium
- C - sporangiofory zakončené sporangii
- D - zygofoxy proti sobě vyrůstající
- E - zygofoxy s progametangii
- F - progametangia
- G - gametangia s téměř rozpuštěnou dotykovou stěnou
- H - mladá zygospora
- I - zralá zygospora
- J - klíčící sporangium vyrůstající z prasklé zralé zygospory

Obr. 2

A: Rhizopus sexualis - vznik zygospory

- 1 - progametangia oddělená neporušenou dotykovou stěnou;
- 2 - naduřená progametangia začínající tvořit přehrádku gametangií;
- 3 - celistvé stěny gametangií, dotyková stěna částečně rozpuštěna;
- 4 - dotyková stěna téměř rozpuštěna, mezi primární stěnou gametangia se začíná vkládat druhotná stěna;
- 5 - zralá zygospora s ornamentovaným povrchem je zřetelně odlišena od hladkostěnných naduřených suspensorů (proti sobě postavených). Podle Beckett et al. 1974

B: Gilbertella persicaria

Diagram znázorňuje postupnou tvorbu sporangiospor uvnitř nezralého sporangia (podle Bracker 1968)

C - E: Mucor bainieri

- C - řetízkovité oidie v substrátovém myceliu
- D - terminální chlamydospora
- E - interkalární chlamydospora ve vzdušném myceliu

F: Cunninghamella elegans

Sporogenní hlavice nesoucí jednosporové sporangioly

Obr. 3

A: Absidia glauca

Sporangiofory zakončené zralými sporangii. Obnažené kolumely nad nálevkovitou apofýzou se zřetelným límečkem a uvolněné sporangiospory (podle Domsch et Gams 1972)

B: Pilobolus crystallinus

Pigmentované terminální sporangium je ve zralosti prudce odmrštěno. Na sporangioforu je patrné zduření - podsporangialní vak (podle Cole et Samson 1979)

C: Mucor circinelloides

Sympodiální větvení sporangioforu. Circinátní větve zakončeny sporangii a kolumelami (podle Cole et Samson 1979)

D, E: Mortierella spp. (podle Domsch et Gams 1972)

Po rozpuštění stěny sporangiol a sporangií se obnažují silně redukované kolumely (viz šipky). D - Mortierella hyalina

E - Mortierella alpina: Sporangiofory jsou při bázi typicky naduřené, směrem k vrcholku se zužují

F: Saksenaea vasiformis

Mladé i zralé sporangium kuželkovitého tvaru (podle Saksena 1953)

G: Mucor bainieri

Kolumely s límečkem (zbytek stěny sporangia) při bázi (podle Cole et Samson 1979)

Obr. 4

A - D: Cokeromyces recurvatus

A - C Vznik stopkatých několikasporových sporangiol na sporogenních hlavicích

D - Po prasknutí silné stěny sporangiole se uvolňují sporangiospory (podle Cole et Samson 1979)

E - I Benjaminiella poitrasii

Vznik jednosporových stopkatých sporangiol vyrůstajících ze sporogenní hlavice. Ve zralosti odpadá stopka sporangioly v místě označeném šipkou a zanechává na sporogenní hlavici typické zoubky (G). Jednosporové sporangioly odpadávají od stopek (E) (podle Cole et Samson 1979)

Obr. 5

A - D: Radiomyces spectabilis

Vznik několikasporových sporangiol. Na primární sporogenní hlavici vyrůstají plodné větve nesoucí druhotné sporogenní hlavice, na nichž se tvoří několikasporové sporangioly na krátkých stopkách (C). Po prasknutí stěny sporangioly se uvolňují sporangiospory (D) (podle Cole et Samson 1979)

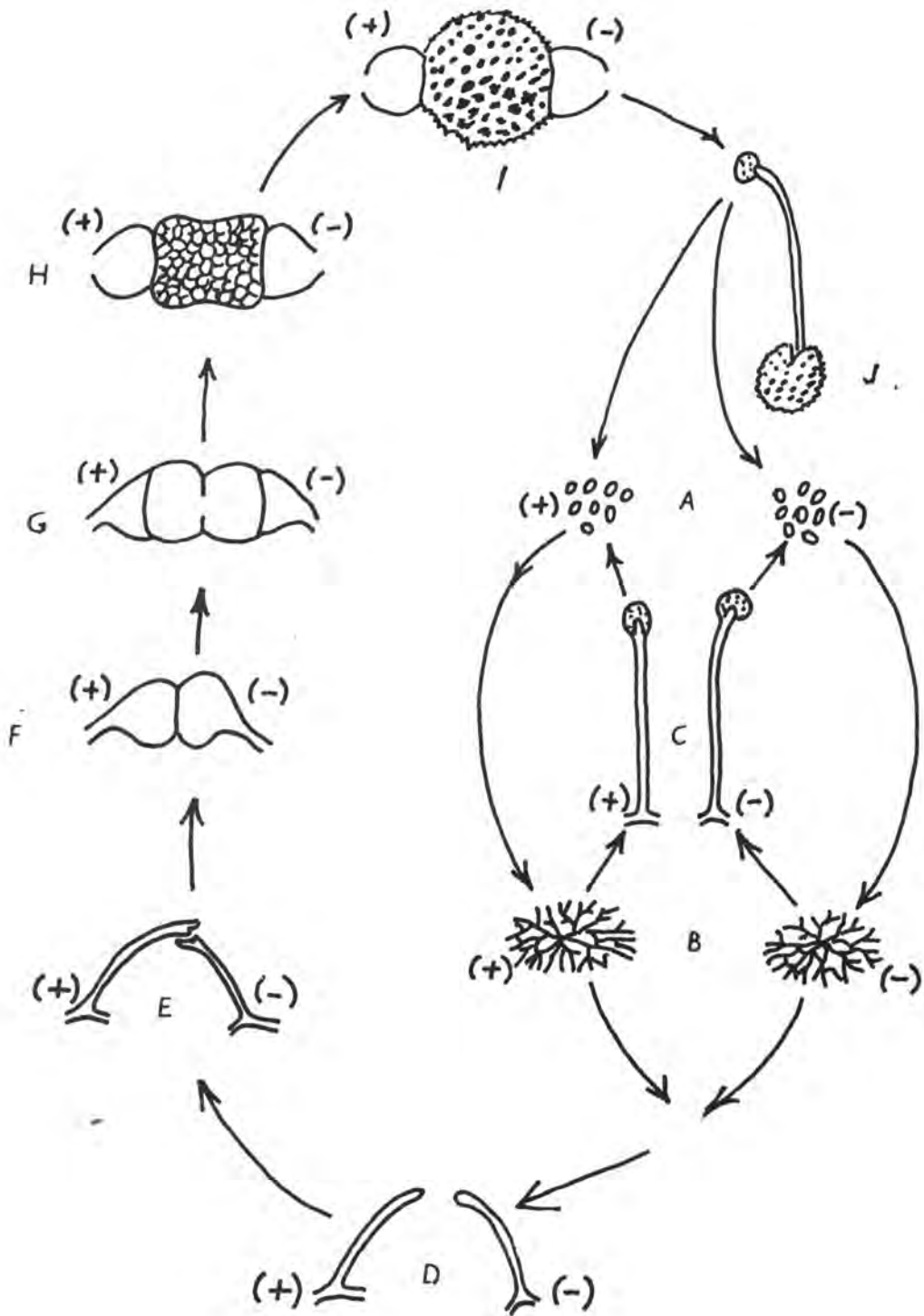
E: Radiomyces embreei

Šipky označují jednosporové ostnité sporangioly, vyrůstající na druhotných sporogenních hlavicích (podle Cole et Samson 1979)

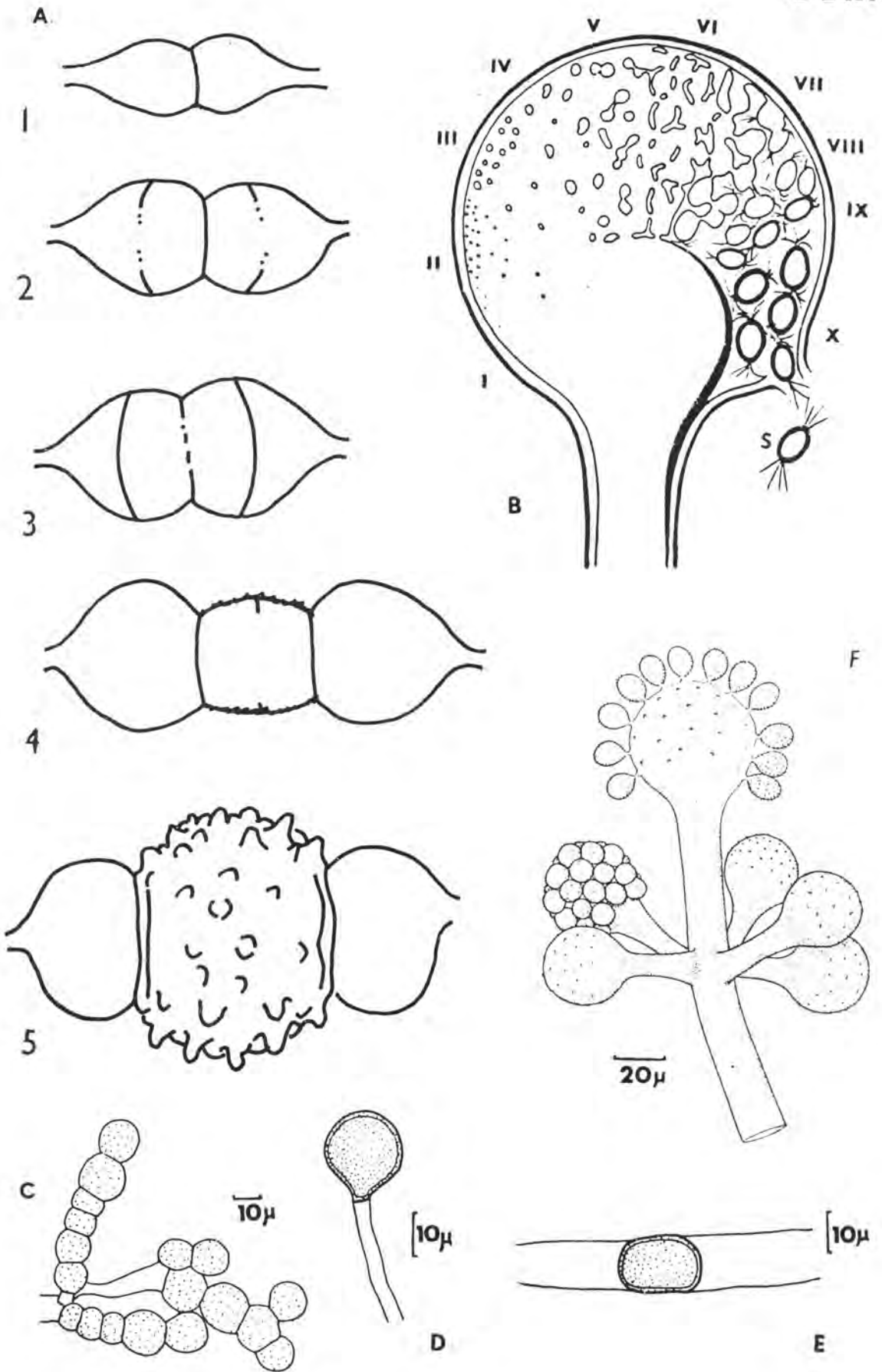
F - H: Syncephalastrum racemosum

Synchronní vznik merosporangií na sporogenních hlavicích. Sporangiospory se tvoří uvnitř merosporangia v řadě. Sporangiospory se uvolňují rozpuštěním stěny merosporangia (podle Cole a Samson 1979).

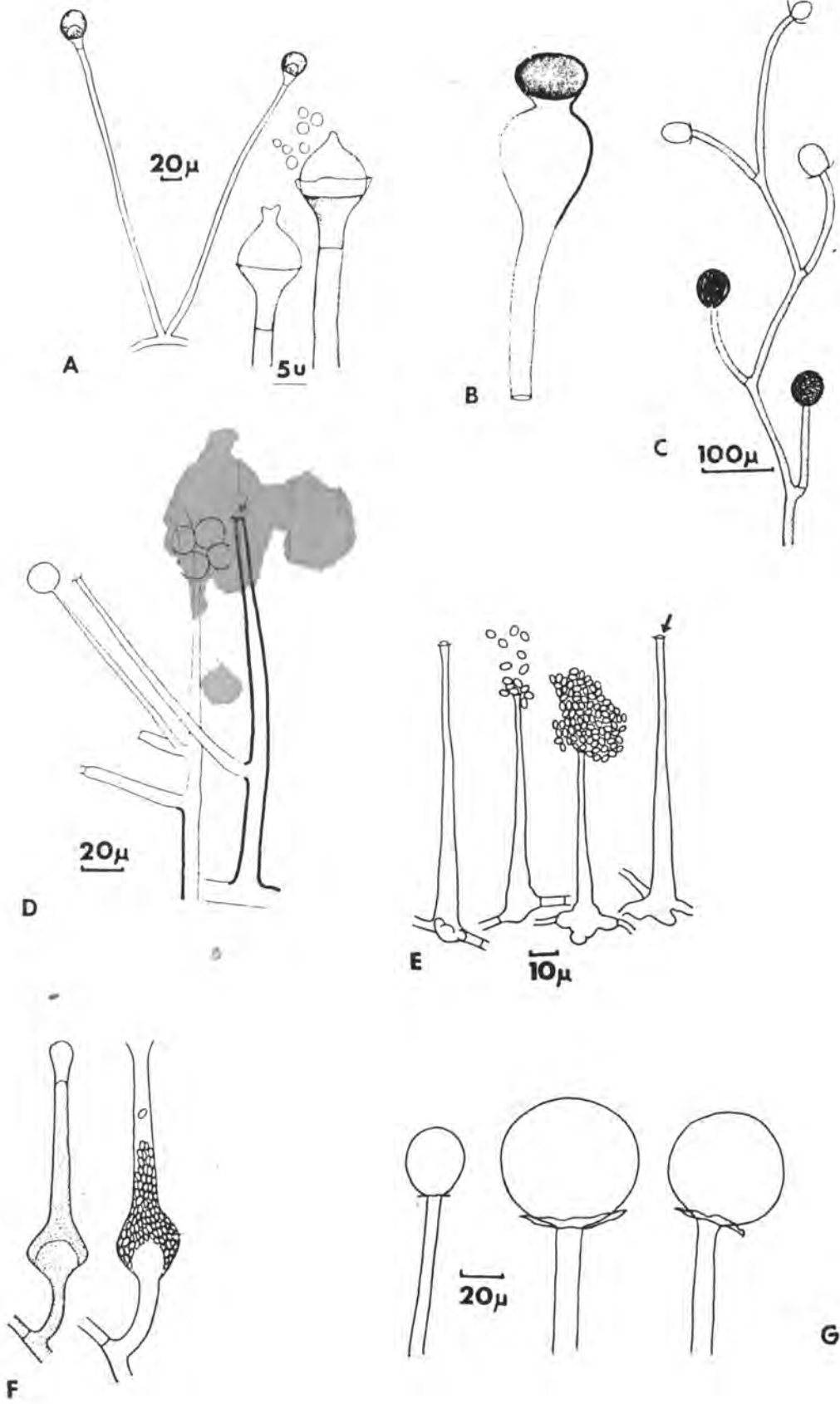
OBR. 1



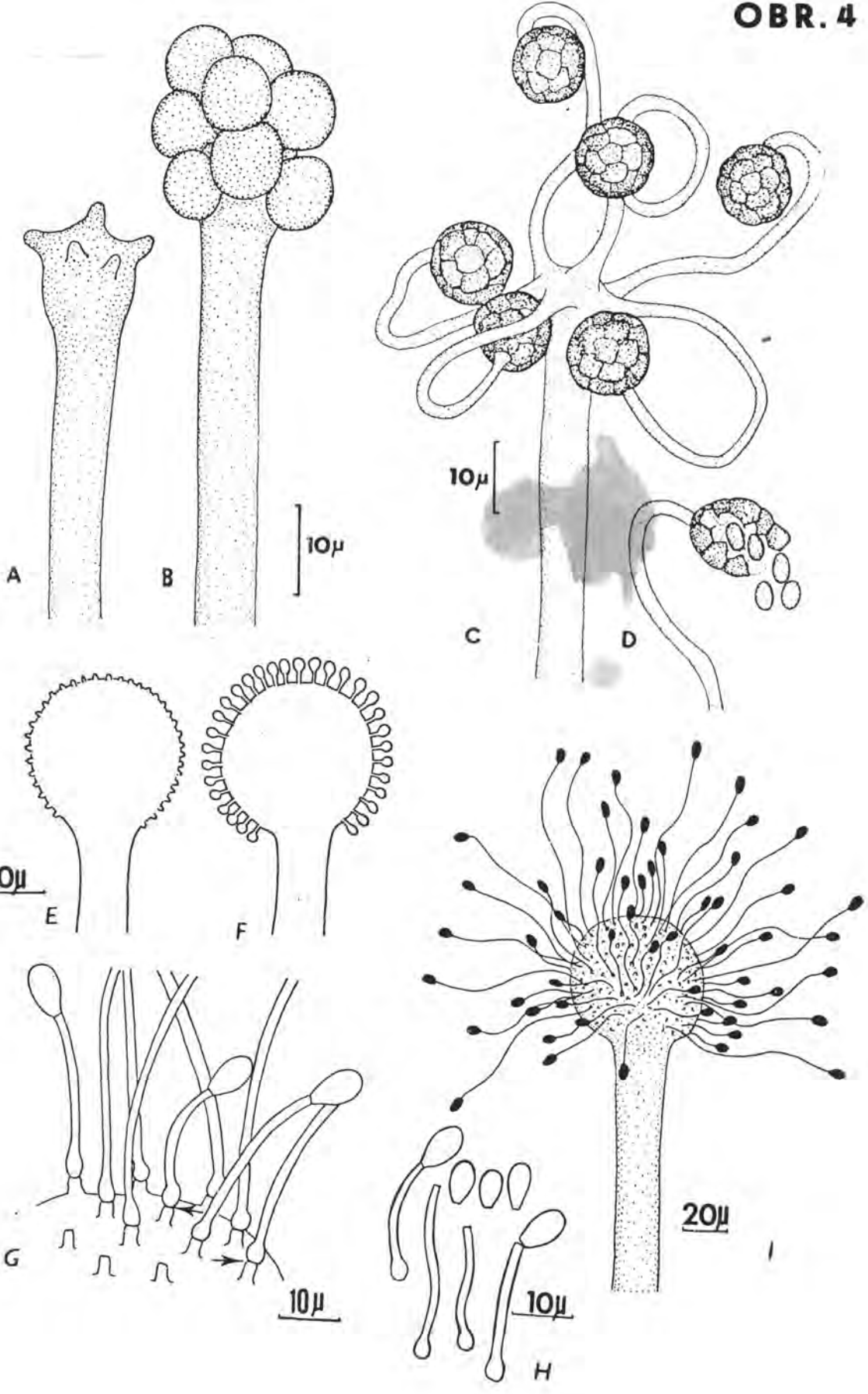
OBR. 2



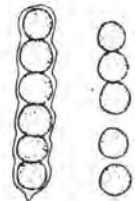
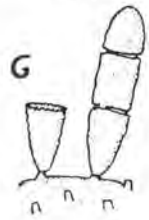
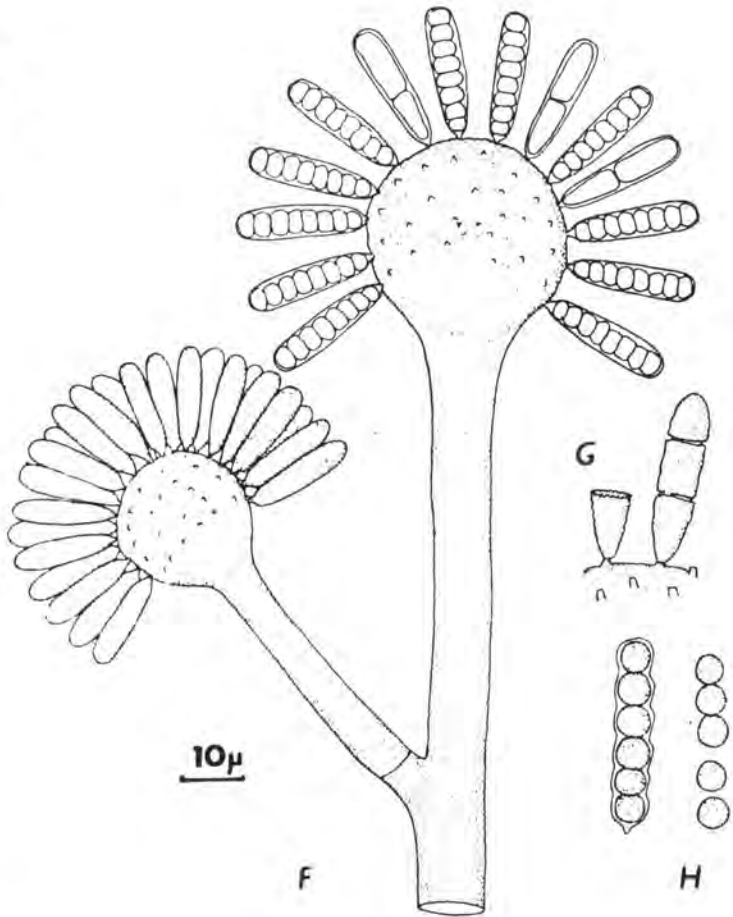
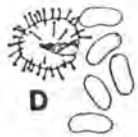
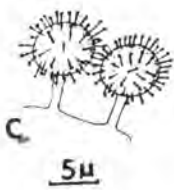
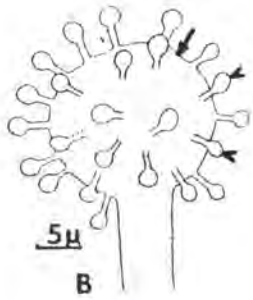
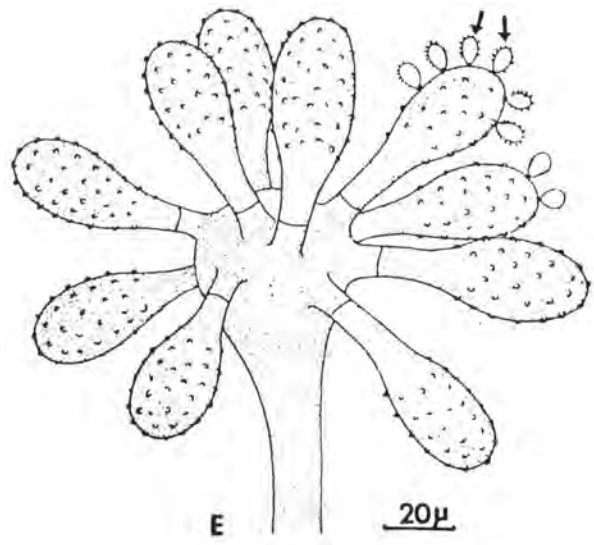
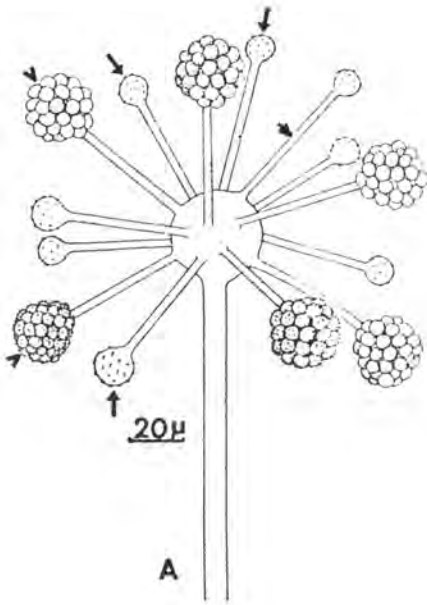
OBR. 3



OBR. 4



OBR. 5



Vytiskl: Agrodat, závod Nové Město nad Cidlinou - 7/90