

Univerzita Karlova

Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Rod holubinka (stopkovýtrusné houby) a jeho současné trendy výzkumu

The genus *Russula* (Basidiomycota) and current research trends

Filip Slunečko

Vedoucí práce: RNDr. Zdeněk Soldán, CSc.

Studijní program: Specializace v pedagogice

Studijní obor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na  
vzdělávání — Výchova ke zdraví se zaměřením na vzdělávání

Odevzdáním této bakalářské práce na téma Rod holubinka (stopkovýtrusné houby) a jeho současné trendy výzkumu potvrzuji, že jsem ji vypracoval pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále potvrzuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Milevsko, 18. 4. 2022

Chtěl bych poděkovat vedoucímu práce RNDr. Zdeňkovi Soldánovi, CSc. za vřelý, ochotný přístup a cennou pomoc. Dále bych rád poděkoval rodině za neutuchající podporu a mému dědovi, který mě k holubinkám přivedl.

## ABSTRAKT

Tato práce pojednává o současných trendech výzkumu stopkovýtrusných hub rodu holubinka (*Russula*). Cílem práce bylo zmapovat a popsat poznání recentního stadia výzkumu holubinek na poli vědy. K tomu bylo použito dílčích podcílů jako popsání makroskopických a mikroskopických znaků, aktuálních genetických a molekulárních poznatků a výčet nově nalezených druhů z let 2020, 2021 a 2022, doprovazený jejich popisem. Rod holubinka (*Russula*) je celosvětově rozšířeným rodem a na světě jich je v současnosti uznaných okolo 2000 druhů. V České republice se nachází přibližně 150 druhů. Jejich celkový počet se však neustále zvyšuje. Díky jejich vlivu na ekosystémy lesních biotopů téměř ve všech podnebných pásmech se jedná o velmi významný taxon hub. V práci byly uvedeny základní informace o rodu *Russula*, jeho taxonomie a morfologie jednotlivých struktur plodnic. Některé morfologické struktury byly doplněny novými vědeckými výzkumy, jež se zabývaly podobnou problematikou. V další části práce byly shrnuty informace o populační genetice holubinek a nově vznikající směry v této i molekulární oblasti, jako jsou použití DNA sekvenování, analýzy vzorků v drobném měřítku (fine-scale) a genetické analýzy ve velkém měřítku (large-scale). V závěrečné kapitole práce je uvedeno 17 nově objevených druhů podle recentně publikovaných studií. Informace byly získávány z vědeckých publikací, jež byly vyhledávány na internetových portálech jako Web of Science, PubMed, ResearchGate, Google Scholar aj.

## KLÍČOVÁ SLOVA

holubinkovité, houby, morfologie plodnic, mykologie, nové druhy, taxonomie

## **ABSTRACT**

This thesis reviews the current research trends on the basidiomycota fungi of the *Russula*. The objective of the thesis was to map and describe the stages of research on *Russula* in this field of science. These included describing macroscopic and microscopic features, recent genetic and molecular discoveries and a list of newly discovered species from 2020, 2021 and 2022, accompanied by their descriptions. The *Russula* is a globally widespread genus, with approximately 2000 species currently recognised worldwide, however their number is constantly increasing. There are approximately 150 species known in the Czech Republic. Due to their influence on forest ecosystems, in almost all climatic zones, they are a very important taxon of fungi. In this thesis, basic information about the genus *Russula*, its taxonomy and morphology of individual fruiting structures were described. Certain morphological structures were complemented by scientific research dealing with similar issues. The next part of the thesis describes the population genetics of *Russula* also discussed population genetics of *Russula* and the emerging directions in this and molecular fields, such as the use of DNA sequencing, fine-scale sample analysis and large-scale genetic analysis. In the final chapter of the thesis, 17 newly discovered species are described according to published studies. Information was obtained from a variety of scientific publications including Web of Science, PubMed, ResearchGate and Google Scholar.

## **KEYWORDS**

*Russulaceae*, fungi, basidiocarp morphology, mycology, new species, taxonomy

## Obsah

1	Úvod .....	8
1.1	Taxonomie .....	10
2	Cíle práce .....	11
3	Metodologie.....	12
4	Makroskopické znaky.....	13
4.1	Klobouk .....	13
4.1.1	Problémy s barvami klobouků a druhovými koncepty rodu <i>Russula</i> .....	15
4.2	Pigmenty .....	15
4.3	Lupeny .....	16
4.3.1	Holubinka (Basidiomycota, Russulales) s nebývalou konfigurací hymenoforu ze Severozápadního Himálaje (Indie).....	17
4.4	Třeň.....	20
4.5	Dužina .....	21
4.6	Pach.....	22
4.6.1	<i>Russula pyriodora</i> , nový vonící druh popsáný z Finska .....	22
4.7	Chuť .....	24
4.8	Barva výtrusného prachu .....	25
5	Mikroskopické znaky .....	26
5.1	Výtrusy.....	26
5.2	Hymenium .....	27
5.3	Pokožka klobouku.....	28
5.3.1	Brvy .....	28
5.3.2	Dermatocystidy.....	28
5.3.3	Primordiální hyfy.....	29

5.4	Pokožka třeně.....	30
5.5	Makrochemické reakce .....	30
6	Genetické a molekulární poznatky .....	32
6.1	Nejnovější pokroky v populační genetice ektomykorhizních hub rodu <i>Russula</i> ..	32
6.1.1	Analýzy polních vzorků v drobném měřítku (fine-scale).....	33
6.1.2	Genetické analýzy ve velkém měřítku (large-scale).....	34
6.1.3	Strategie odběru vzorků a molekulární markery .....	35
6.2	Další vznikající směry v populační genetice .....	37
6.2.1	Sekvenování příští generace (high-throughput sequencing) .....	38
6.2.2	Fylogenetické analýzy .....	38
6.2.3	Holubinky v tropických zónách.....	39
6.2.4	Perspektivy výzkumu podzemních životních cyklů .....	39
7	Nově nalezené druhy ve světě .....	41
7.1	<i>Russula ayubiana</i> z Pákistánu.....	42
7.1.1	<i>R. ayubiana</i> Kiran & Khalid sp. nov. ....	42
7.2	<i>Russula luofuensis</i> a <i>Russula subbubalina</i> z Číny.....	43
7.2.1	<i>R. luofuensis</i> B. Chen & J. F. Liang sp. nov.....	44
7.2.2	<i>R. subbubalina</i> B. Chen & J. F. Liang sp. nov. ....	45
7.3	<i>Russula cornicolor</i> , <i>Russula cynorhodon</i> , <i>Russula oreomunneae</i> a <i>Russula zephyrovelutipes</i> ze západní Panamy. ....	45
7.3.1	<i>R. cornicolor</i> Manz & F. Hampe, sp. nov. ....	46
7.3.2	<i>R. cynorhodon</i> Manz & F. Hampe, sp. nov. ....	46
7.3.3	<i>R. oreomunneae</i> Manz, F. Hampe & Corrales, sp. nov.....	47
7.3.4	<i>R. zephyrovelutipes</i> Manz & F. Hampe, sp. nov. ....	48
7.4	<i>Russula straminella</i> , <i>Russula subpectinatoides</i> a <i>Russula succinea</i> z jižní Číny. ....	48

7.4.1	<i>R. straminella</i> G. J. Li & C. Y. Deng sp. nov.....	49
7.4.2	<i>R. subpectinatoides</i> G. J. Li & Q. B. Sun sp. nov. ....	50
7.4.3	<i>R. succinea</i> G. J. Li & C. Y. Deng sp. nov.....	50
7.5	<i>Russula bellissima</i> a <i>Russula luteonana</i> z Thajska.....	51
7.5.1	<i>R. bellissima</i> Manz & F. Hampe sp. nov.....	52
7.5.2	<i>R. luteonana</i> M. Pobkwamsuk & K. Wisitrassameewong sp. nov.....	52
8	Diskuse a závěr.....	54
	Seznam použitých informačních zdrojů .....	55



## 1 Úvod

Rod holubinka (*Russula* Pers.) je taxonomicky řazen do čeledi holubinkovité (*Russulaceae*), řádu holubinkotvaré (*Russulales*), třídy Agaricomycetes a oddělení stopkovýtrusné (*Basidiomycota*). Poprvé byl popsán německým mykologem Christiaanem Hendrikem Persoonem (Persoon, 1796). Holubinky jsou celosvětově rozšířený rod ektomykorhizních hub (*Fungi*), vázaných především na lesní biotopy. Společně s rodem *Cortinarius* (pavučinec) představují pravděpodobně dva druhově nejrozmanitější rody všech stopkovýtrusných hub. V minulých letech se udával počet druhů holubinek přes 750. Adamčík et al. (2019) uvádějí, že v současnosti rod čítá kolem 2000 druhů. S výjimkou Evropy, kde se tomuto rodu dostalo i dostává velké pozornosti jak od profesionálů, tak od amatérských mykologů a houbařů, zbývá celosvětově studovat a následně popsat ještě mnoho méně známých, či dosud vůbec neobjevených druhů. To by pravděpodobně mohlo v budoucnu zvýšit světovou rozmanitost druhů až k několika tisícům (Buyck & Adamčík, 2010). V České republice se nachází okolo 150 druhů, ale toto číslo nebude konečné (Socha et al., 2011). Dle Buycka (Buyck, 2018) je rod *Russula* jedním z nejobtížnějších rodů pro systematiku a taxonomii hub.

Vědecké jméno rodu *Russula* je odvozeno od latinského adjektiva „*russus*“, tedy červený. České jméno je odvozeno od slova *holub* pro šedavou barvu některých druhů holubinek, tedy podobnou barvě holubího peří. Slovenský název pro tento druh je plávka. V angličtině se někdy vyskytuje kromě vědeckého *Russula* obecné jméno *brittlegills* („křehké lupeny“) (Socha et al., 2011; Svrček et al., 1984).

Na červeném seznamu ohrožených druhů makromycetů v České republice (Holec et al., 2006) je uvedeno 15 druhů holubinek. Téměř ohrožené druhy (NT – nearly threatened) jsou: holubinka citlivá (*Russula luteotacta*), h. habrová (*R. carpini*), h. lepkavá (*R. viscida*) a h. olšinná (*R. alentorum*). Zranitelné druhy (VU – vulnerable) jsou: h. broskvová (*R. persicina*), h. rašeliníková (*R. sphagnophila*), h. skvrnitá (*R. maculata*), h. sluneční (*R. solaris*) a h. smutná (*R. consobrina*). Ohrožené druhy (EN – endangered) jsou: h. černobílá (*R. albonigra*), h. hájová (*R. decipiens*), h. hnědofialová (*R. brunneoviolacea*), h. Raoultova (*R. raoultii*), h. rašelinná (*R. helodes*) a h. růžovonohá

(*R. roseipes*). Dalšíh 10 druhů holubinek je v seznamu vedeno jako druh, o němž jsou nedostatečné údaje z hlediska jeho ohrožení (DD – data deficient).

Holubinky mají plodnice zprvu pevné a tvrdé, později měknou a křehnou. Vyznačují se obrovskou rozmanitostí zbarvení klobouků různých velikostí. Třeň mívá variabilní tloušťku, délku i tvar; typickým znakem je pro něj charakter příčného zlomu. Jde o víceméně rovný zlom, s okraji, které se netřepí. Kromě nezanedbatelných ekologických rolí v ekosystému je pro člověka také velká část druhů holubinek jedlá. V některých částech světa jsou považovány za vynikající zdroj potravy a živin a významně přispívají k místní ekonomice v oblasti gastronomie (Li et al., 2021).

Několik dalších významných čeledí stopkovýtrusných hub (kromě *Russulaceae*) má rovněž vysoký podíl druhů s prokázanou ektomykorhizou, např. č. *Thelephoraceae* (plesňákovité), *Boletaceae* (hřibovité) a *Amanitaceae* (muchomůrkovité). Avšak rod *Russula* je jedním z celosvětově nejrozšířenějších. Ektomykorhizní houby jsou partneři v symbiotickém mutualismu s hostitelskými cévnatými rostlinami. Houby pomáhají rostlinám získávat minerální látky a vodu, a také zvyšují odolnost rostlin vůči infekcím a jiným stresovým faktorům. Hostitelské rostliny na oplátku houbám poskytují sacharidy a jedinečné ekologické niky. V celosvětovém měřítku tvoří tento typ rostlinně-houbového mutualismu velké procento suchozemských rostlin. V přírodních ekologických systémech je proto ektomykorhizní symbióza jedním z nejrozšířenějších jevů, které hrají důležitou roli v urychlování koloběhu živin a minerálů při udržování stability ekosystémů (Gryndler, 2004).

Některé druhy se nacházejí napříč několika kontinenty, např. *Russula nigricans* (holubinka černající) a *R. pectinatoides* (h. hřebínkatá), zatímco jiné vykazují geograficky specifické rozšíření. Příkladem mohou být *R. brevipes* (h. nízká), která je rozšířena především v Severní Americe; *R. ochroleuca* (h. hlínožlutá) a *R. vinosa* (h. tečkovaná, viz Obr. 1), rozšířené především v Evropě anebo *R. discopus*, která dominuje v tropickém pásmu. Průzkumy biodiverzity, s využitím nových molekulárních metod anebo analýzy dříve nedostatečně prozkoumaných území a ekologických nik vedly k objevení mnoha nových druhů rodu holubinka, jako třeba *R. changbaiensis* (severovýchodní Čína), *R. tsokae* (Sikkim, Himálaj), *R. galbana* (Australasie) a *R. caeruleoanulata* (západní

Afrika). Studie rovněž zjistily, že mutualismus holubinek může být tvořen mezi mnoha druhy rostlin ze široké škály čeledí. Zjištění o rozšíření, početnosti a typech stanovišť výskytu holubinek tedy ukazují, že tento rod velmi pravděpodobně hraje významnou roli v celosvětovém ekosystému lesů (Read & Perez-Moreno, 2003).

## 1.1 Taxonomie

Rod *Russula* Pers. (holubinka) je vzhledem k časté konvergenci nebo extrémní plasticitě morfologických znaků velmi obtížné přesně identifikovat, a tak stanovit přesnou taxonomii druhů (Miller & Buyck, 2002). V současnosti je rod *Russula* strukturován do 8 podrodů: podrod *Archaea* Buyck & V. Hofst., podrod *Brevipedum* Buyck & V. Hofst., podrod *Compactae* (Fr.) Bon, podrod *Crassotunicata* Buyck & V. Hofst., podrod *Glutinosae* Buyck & X. H. Wang, podrod *Heterophyllidiae* Romagn., podrod *Malodora* Buyck & V. Hofst. a podrod *Russula* (Buyck et al., 2020). Za druhově nejrozmanitější podr. je považován *Heterophyllidia*, mezi nějž se řadí druhy s rozmanitým zbarvením bazidiokarpů i rozmanitými mikroskopickými znaky. Nedávné multilokusové fylogenetické analýzy rozlišily v rámci tohoto podrodu několik dobře definovaných linií řazených do sekcí, jako je sekce *Aureotactae* Buyck & V. Hofst., podsekce *Cyanoxanthinae* Singer, sekce *Heterophyllae* Fr., podsekce *Ilicinae* Buyck., podsekce *Oleiferinae* Buyck, podsekce *Subvelatae* Singer, podsekce *Amoeninae* Buyck a sekce *Ingratae* Qué. Nedávné multilokusové fylogenetické studie ukázaly, že do sekce *Ingratae* navíc spadají dřívější podsekce *Foetentinae* a *Pectinatinae* (Buyck et al., 2018). Wisitrassameewong (2020) uvádí, že do podrodu *Heterophyllidiae* patří ještě další podsekce *Virescentinae* a *Substriatinae*. Fylogenetické analýzy také naznačily, že je velmi obtížné přiřadit terénní aspekt k jediné monofyletické linii.

## 2 Cíle práce

Cílem práce bylo zmapovat a popsat poznání recentního stadia výzkumu, respektive co se za uplynulou dekádu objevilo ohledně rodu *Russula* na poli vědy „nového“. Dále jaké je současné vnímání rodu z hlediska morfologie, taxonomie a též i na genetické a molekulární úrovni. V neposlední řadě pak shrnout, jaké jsou současné trendy výzkumu a jaké byly nově nalezené a popsány druhy za roky 2020, 2021 a 2022 ve vědeckých publikacích.

### Obrázek 1

*Russula vinosa* (holubinka tečkovaná)



Foto Filip Slunečko (2021).

### 3 Metodologie

Při sepisování této bakalářské práce jsem se zaměřil z velké části na mapování vědeckých trendů, studií a průzkumů rodu holubinka (*Russula*) z posledních let. Informace byly získávány z vědeckých publikací. Morfologie byla popsána na základě knih o holubinkách (Melzer & Zvára, 1927; Socha et al., 2011; Svrček et al., 1984). Aktuální vědecké studie byly vyhledávány na internetových databázích Academic Search Ultimate, EBSCO, ResearchGate, Web of Science, PubMed, Google Scholar a Oxford University, za použití licenčních podmínek poskytovaných Karlovou Univerzitou. K vyhledávání byla používána klíčová slova v anglickém jazyce, zejména „Russula“, „Russulaceae“, „Basidiomycetes“, dále společně s konkrétními částmi plodnic či jinými specifikujícími informacemi jako „hymenophore“, „cap“, „ecology“, „species“, „taxonomy“, apod. Ostatní a doplňující informace byly vyhledávány na internetových fórech v českém i anglickém jazyce. K pomoci s překladem zdrojů byl používán online překladač DeepL translator a Google překladač. K porozumění významu některých anglických slov byla používána webová stránka Cambridge Dictionary. Práce je členěna i na makroskopické a mikroskopické znaky holubinek, kde jsou zevrubně popsány jednotlivé části těla plodnic a buněčné dispozice těchto hub. Dále byla práce strukturována na popis genetických či molekulárních objevů a populační studie. Poslední kapitola obsahuje výčet nově nalezených druhů holubinek od roku 2020 (poslední 3 roky) s jejich slovně sumarizovaným makroskopickým a mikroskopickým popisem.

## 4 Makroskopické znaky

Jednotlivé druhy holubinek se určují zejména porovnáváním makroskopických znaků, kam se řadí rozdíly mezi velikostí, tvarem, okrajem, barvou a povrchem klobouku, či oddělitelnost pokožky od klobouku. U lupenů je to jejich uspořádání, barva, hustota, tloušťka, výška, tvar, způsob připojení ke třeni, poměr mezi lupeny a kratšími lupénky a vzhled na okraji klobouku. Třeň se porovnává dle délky, tloušťky, tvaru, konzistence a povrchu. Dužina se rozlišuje pomocí konzistence, barvy, vůně a chuti. Určuje se i pomocí barevných změn na porušených pletivech a barvy výtrusného prachu. Mezi makroskopické znaky holubinek lze řadit i některé makrochemické reakce a luminiscenci za pomoci ultrafialového záření (Socha et al., 2011).

### 4.1 Klobouk

Klobouk (pileus) je jeden z nejdůležitějších určovacích znaků hub obecně. Zejména podle velikosti klobouku se určuje velikost celé plodnice. U malých plodnic bývá velikost klobouku v průměru 2-3 cm, u středně velkých to je mezi 4-10 cm a u velkých plodnic je v průměru vždy širší než 10 cm. Masitost klobouku se měří na tloušťce dužiny v místě, kde se uprostřed klobouku připojují lupeny. Tence masitý klobouk je do 5 mm, středně masitý mezi 5-10 mm a tlustě masitý nad 15 mm. Skoro u všech holubinek bývá tvar klobouku podobný. Mladé plodnice jej mívají polokulovitý až kulovitý, někdy téměř přitisklý ke třeni. Středně staré plodnice mají klobouk zprvu mírně vyklenutý, který se později rozloží do plochy. Staré plodnice jej mají mírně vmáčklý, široce miskovitý, či prohloubený. U některých druhů bývá tvar až nálevkovitý se zdviženými okraji (Svrček et al., 1984). Jsou také druhy, které mají klobouk uprostřed vyhrbený nebo zakončený tupou bradavkou, někdy označováno jako umbo (Ruotsalainen & Huhtinen, 2011). Klobouk bývá při okrajích buď naprosto či téměř hladký, např. u *Russula vesca* (holubinka mandlová), nezřídka krátce a jemně rýhovaný u *R. paludosa* (h. jahodová), nebo někdy i výrazně žebernatý a hrbolkatě brázděný. Samotné zakončení okraje pak může být zaobleně otupělé jako u *R. amethystina* (h. ametystová) nebo zúžené až průsvitně ztenčené, třeba u *R. atrorubens* (h. tmavočervená) (Socha et al., 2011). Na obvodu bývá klobouk holubinek pravidelný nebo laločnatý a zvlněně zprohýbaný. Barva klobouku je jedním z nejrozlišnějších a vlastně nejikoničtějších znaků rodu holubinka. Vysoká variace barev

zahrnuje bezmála všechny barvy barevného spektra. Ačkoli u mnoha druhů převládá jedna určitá barva, za jistých klimatických podmínek, či vlivem složení půdy se mohou plodnice zbarvit jinak. Některé druhy jsou barevně stálé, jiné, jež mají vysoký obsah pigmentů v pokožce klobouku jsou naopak proměnlivé. Ve vzácných případech dochází k potlačení tvorby původního barviva, a tím pádem ke vzniku bělavých forem neboli albínů, či žlutě nebo krémově zbarvených plodnic (Svrček et al., 1984). Kvůli tomuto jevu mohly být tyto plodnice v minulosti nesprávně označeny některými mykology za samostatné druhy (viz dále). Klobouk řady druhů holubinek se po vytrvalejších deštích nebo ve stáří znatelně odbarvuje, či skvrnatí do bělavých a žlutavých odstínů, např. u druhu *R. emetica* (h. vrhavka). Pokožka klobouku může být na povrchu sametová a matná, ojíňená až vločkovitě plstnatá, nebo posypaná drobnými zrníčky či tečkami bělavého zbarvení (tzv. pruinózní). V případě dešťů či rosy se povrch pokožky stává lepkavým a lesklým, u některých druhů slizký až rosolovitý. U několika zástupců však povrch zůstává lesklý i po zaschnutí. Samotná struktura pokožky klobouku bývá někdy zdrsňelá a vrásčitá, jindy rozpukaná v drobná či větší políčka na celém povrchu nebo pouze na okraji klobouku, např. u *R. virescens* (h. nazelenalá, viz Obr. 2).

## Obrázek 2

Srovnání klobouků holubinky nazelenalé (*R. virescens*) a h. trávozelené (*R. aeruginea*).



Foto Filip Slunečko (2021).

Vzácně lze u mladých plodnic pozorovat na okraji klobouku zbytky redukováného závoje ve formě brzy pomíjivých, žlutavě až žlutohnědě zbarvených vláken, např. u *R. insignis* (h. pruhovaná). Pokožka klobouku holubinek je většinou dobře slupitelná. Mezi jednotlivými druhy se různí, do jaké vzdálenosti od okraje ke středu klobouku lze pokožku snadno sloupávat. Pouze ve výjimečných případech je pokožka k dužině klobouku pevně přirostlá a lze ji pak oddělit špatně anebo vůbec, např. *R. delica* (h. bílá) či *R. luteotacta* (h. citlivá) (Socha et al., 2011; Svrček et al., 1984).

#### **4.1.1 Problémy s barvami klobouků a druhovými koncepty rodu *Russula***

Bazzicalupo et al. (2017) provedl výzkum, v rámci kterého bylo prozkoumáno 713 vzorků holubinek, které byly nasbírány mykologem Benjaminem Woo v oblasti severozápadního Pacifiku. K nim bylo přidáno dalších 50 zástupců rodu z Evropy a Severní Ameriky. Molekulární data ukázala, že 72 vymezeným fylogenetickým druhům odpovídalo pouze 28 evropských vzorků. Zbylých 44 druhů se tedy ukázalo jako nedostatečně známé nebo dosud nepopsané. Poté bylo provedeno morfologické a molekulární porovnávání 23 druhů, od nichž bylo od každého nasbíráno 10 či více exemplářů. Ukázalo se, že žádný z 23 morfologických znaků nebyl dostatečně průkazný pro určení druhu a pouze 48,5 % vzorků bylo pojmenováno správně. Z toho vyplývá, že pokud je přibližně 50% šance na správné určení od vědců a specialistů, je zřejmé, že běžní houbaři s tím mohou mít značné problémy. Výzkum dále ukazuje, že čím více bylo nasbíráno exemplářů od jednoho druhu, tím více se různila barva klobouků. Kvůli této variabilitě vyjádřil autor obavu, že v databázích holubinek na celém světě se mohou vyskytovat chyby v morfologickém určení jednotlivých druhů. Z toho mohou plynout další problémy jako chybně uváděný regionální výskyt druhu, nesprávně popsána mykorrhizální symbióza s konkrétními dřevinami či míra chráněnosti daného druhu (Trouble over cap colours and species concepts in *Russula*, 2017).

## **4.2 Pigmenty**

Pigmenty, které se nacházejí v pokožce klobouku holubinek, způsobují jejich zbarvení. Tyto pigmenty jsou rozptýleny ve vakuolách v podobě černavě zbarvených zrn, které jsou dobře patrné jen u čerstvých plodnic. V herbářovém materiálu (exsikátech) se pigmenty postupně vytrácí. Pigmentované bývají i hyfy, jejichž stěny mívají žlutavou či žlutohnědou



barvu, např. *Russula ochroleuca* (holubinka hlínožlutá). Často se vyskytuje červený pigment, např. u *R. emetica* (h. vrhavka) či *R. paludosa* (h. jahodová), který bývá lokalizován kromě vakuol i volně v cytoplasmě buněk. Cytoplasmatické pigmenty však bývají velmi nestálé, neboť kvůli působení vody dochází k jejich vyluhování, a tudíž k odbarvování klobouku; dobře patrné u *R. maculata* (h. skvrnitá) a *R. luteotacta* (h. citlivá). Je to způsobeno především tím, že pigmenty většiny zástupců rodu *Russula* bývají velmi hydrofilní. Výjimkou jsou hnědá barviva, která jsou velmi odolná vůči rozpustnosti ve vodě a zároveň i rezistentní vůči působení silných zásad či kyselin. Hnědé pigmenty jsou zejména u sekce *Ingratae* a podsekcce *Foetentinae*. Příkladem může být *R. nigricans* (h. černající) nebo *R. adusta* (h. osmahlá) (Li et al., 2021; Socha et al., 2011).

### 4.3 Lupeny

Hymenofor holubinek je tvořen lupeny, které se nacházejí na spodní straně klobouku. Lupeny nesou výtrusné rouško (hymenium), na němž vznikají výtrusy, které jsou detailně popsány níže (Svrček et al., 1984). U lupenů hraje roli při identifikaci holubinky celkové zbarvení, vzhled a tvar při okraji klobouku, tloušťka ostří, hustota a konzistence a v některých případech poměr mezi lupeny a kratšími lupénky. U holubinek, jež mají bílý či bělavý výtrusný prach, bývají lupeny u mladých plodnic rovněž bělavého zbarvení, které jim zůstává až do plodnic dospělých. V případě ostatních druhů holubinek se zbarvení lupenů mění v průběhu vývoje plodnic. Jejich celková barva se odvozuje od barvy zrajícího výtrusného prachu a posléze se zabarvujících hymeniálních cystid (viz kapitola 5.2) Na základě tohoto barevného vztahu mezi lupeny a výtrusným prachem u dospělých plodnic se rozlišuje šest primárních stupňů zbarvení lupenů – bílé, bělavé, smetanové, máslové, okrové a žluté. Při popisování jednotlivých druhů se neuvádí barva pouze jednoho lupenu, (samostatně bývají světlejší), ale vždy se uvádí souhrnná barva všech lupenů.

Tvar lupenů a způsob jejich připojení ke třeni bývá také značně proměnlivý. V blízkosti třeně bývají lupeny nejužší a směrem k okraji klobouku se postupně rozšiřují. Na samém okraji se pak stávají tupými a zaoblenými nebo zúženými. Lupeny jsou u třeně buď zúžené a přirostlé, např. *Russula virescens* (holubinka nazelenalá), nebo naopak vzdálené a téměř volné jako u *R. roseicolor* (h. narůžovělá). Méně často pak mohou být

různě sbíhavé, např. u *R. sanguinaria* (h. krvavá). V blízkosti třeně mohou být lupeny také vzájemně pospojované a hustě vidličnatě větvené. Hustota lupenů je proměnlivá a odvíjí se od stáří plodnice. Vyjadřuje se v jejich počtu na 1 cm okraje klobouku. Nej hustší bývají zpravidla u mladých plodnic a se stářím se od sebe postupně vzdalují a řídnu. Je však i několik druhů, u nichž se vysoká hustota lupenů zachovává i u dospělých plodnic. Ostří lupenů bývá většinou rovné, mohou však být případy, kdy je ostří vroubkovité či dokonce pilovité. Při okraji klobouku bývá ostří lupenů některých druhů holubinek zbarvené podobně jako jejich klobouk. Lupeny se mohou při poranění, zasychání nebo u stárnoucích plodnic zbarvit buď pouze na ostří, nebo na celé své ploše. Dle druhu mohou zešednout až zčernat, vybarvit se do žlutavého, citronového až zlatavého odstínu nebo hnědavě, hnědofialově, okrově či rezavě skvrnatě. Některé lupeny mohou mít výrazně narůžovělý nebo lehce namodralý nádech. Někdy dochází u některých druhů na ostří lupenů k vylučování bezbarvých kapek, jež se po čase zbarvují do hněda, fialova či rezava. Tento jev se označuje jako slzící lupeny. Výška lupenů se měří na podélném řezu plodnice. Dle jejich tloušťky se rozlišují na lupeny tenké, středně tlusté a velmi tlusté. Lupeny se rozlišují i podle konzistence na čtyři typy: mohou být tenké, křehké a lámavé na dotek, typicky u *R. fragilis* (h. křehká), tlusté a pevné u *R. delica* (h. bílá), tlusté a křehké u *R. nigricans* (h. černající), anebo pružné a ohebné, které se někdy označují pojmem špekovité, třeba u *R. farinipes* (h. pružná) (Socha et al., 2011).

#### **4.3.1 Holubinka (Basidiomycota, Russulales) s nebývalou konfigurací hymenoforu ze Severozápadního Himálaje (Indie)**

Autoři Buyck a Atri (2011) popsali holubinku ze sekce *Cyanoxanthinae* s povrchem třeně, jenž je zcela pokryt výtrusným rouškem ve formě síťovitě žilkovaného prodloužení lupenů, táhnoucího se po celé délce až k bázi třeně (viz Obr. 3). U čeledi *Russulaceae* se jedná o dosud neznámý jev. V průběhu 20. století se rozšířilo původní pojetí lupenaté čeledi *Russulaceae* od E. M. Friese, jež zahrnuje i rod *Lactarius* (ryzec). Do čeledi tak byly přidány některé podzemní, sekotioidní i pleurotoidní houby, jež jsou nyní součástí rodů *Lactarius* nebo *Russula*. Následně přibyl také jeden nový, údajně starobylý rod *Multifurca*. Tento rod byl popsán na základě několika málo tropických až subtropických holubinek a jednoho ryzce, jež všechny sdílely bledé zbarvení, pravidelně rozvětvené lupeny a sytě

oranžový výtrusný prach. Tyto houby byly zaznamenány na různých kontinentech včetně Indie, jak dokazují Wang a Liu (2010). Kvůli rodu *Multifurca*, zahrnujícím zástupce rodů *Lactarius* i *Russula* v tradičním smyslu, se tak rozdělení rodu *Lactarius* stalo nevyhnutelným. Jedinou alternativou by jinak bylo sloučení všech lupenatých holubinkovitých (*Russulaceae*) do jednoho velkého nadrodu (cf. Buyck et al., 2008). Molekulární studie v posledních dekádách ukázaly, že určité resupinatní korovité houby jsou nejbližšími existujícími příbuznými holubinek a ryzců, jak již bylo naznačováno z dřívějších dob, na základě některých podobných morfologických znaků v hymeniu s druhy rodu *Multifurca*. Zdá se, že přinejmenším několik těchto korovitých hub s hladkým hymenoforem má své přirozené místo v čeledi *Russulaceae* (Larsson, 2007). Konfigurace hymenoforu v rámci čeledi *Russulaceae* se tak změnila ze striktně přímého lupenatého uspořádání dle Friesova konceptu na mnohem rozmanitější variabilitu v molekulární definici čeledi. Lupeny v hymenoforu tak mohou být od pravidelně stejných až po pravidelně nestejně nebo pravidelně rozvětvené u běžných lupenatých forem, u sekotioidních forem mohou lupeny být dezorganizované, u gasteroidních, podzemních forem v podobě teřichu (též gleba; jde o výtrusotvorné plativo uvnitř plodnice, jaké má např. pestřec) nebo u některých resupinatních zástupců může být zcela hladké. Koraloidní, hydroidní a poroidní uspořádání hymenoforu, známé z jiných čeledí v rámci řádu holubinkotvaré (*Russulales*), nebyly dosud v čeledi *Russulaceae* prokázány. U všech výše uvedených případů se zdá, že redukce či úplná nepřítomnost třeně, doprovází změna striktně lupenatého hymenoforu.

Výzkum byl proveden na základě sběru holubinkotvaré houby z oblasti Chakrata (Kailana) v Uttrakhandu v severozápadním Himálaji (Indie). V terénu byly zaznamenány makroskopické znaky týkající se různých částí plodnic. Pozorování mikroskopických detailů bylo provedeno na odebraném sušeném materiálu, vylouhovaném v 5% roztoku KOH. Pro barvení vzorků byla použita bavlnová modř, jako montovací médium laktofenol. Melzerovo činidlo bylo použito k jódové reakci a brilantová kresylová modř k metachromatickým reakcím. Mikroskopické detaily pak byly zakresleny pomocí camera lucida. Ornamentika výtrusů (viz kapitola 5.1) byla zkoumána za použití skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Pro zkoumání síťovité žilkatiny na povrchu třeně byl

použit stereomikroskop. Rozměry výtrusů s hodnotou Q (poměr délky a šířky) vykazovaly číslo 1,17.

Ačkoli by se mohlo zdát, že se jednalo o zcela neznámý rod houby kvůli dosud nevídaným znakům plodnic, mikroskopické znaky jej umožnily poměrně snadno zařadit. Autoři uvádějí, že se o sekvenování nepokoušeli z důvodu přímočarých morfologických znaků a silného výskytu plísní u všech pletiv. Mikroskopické vyšetření potvrdilo přítomnost několika houbových kontaminantů na povrchových pletivech i v hlubších vrstvách. Následující výčet zaznamenaných znaků se stal dostatečně průkazným jako charakteristické pro podsekcí *Cyanoxanthinae* v podrodu *Heterophyllidia*: silné metachromatické reakce na brilantovou kresylovou modř ve většině částí plodnice, zvláště snadno pozorovatelné na povrchu klobouku; typicky válcovité až zeslabené dermatocystidy, jež jsou přítomny v pokožce klobouku, konkrétně v subpellis (viz kapitola 5.3) a dále v dužině; spory byly drobné s neamyloidní suprahilární skvrnou a slabou ornamentikou; tvar a velikost bazidií a cystid; a závěrem silně septované zakončení hyf na povrchu klobouku. Tento výčet a zařazení jsou rovněž podporovány několika terénními znaky jako žádná barevná reakce na železité soli; bílý výtrusný prach; neměnicí se dužina; mírná až mírně palčivá chuť; a také silně rozvětvené a nahuštěné lupeny. Bledě žlutá *Cyanoxanthinae* s podobnými znaky byla popsána i na jiných kontinentech. Přestože autoři v článku upustili od přesnější identifikace či popisu zcela nového druhu z důvodu velmi špatného stavu exempláře, dle jejich názoru jde bezpochyby o zástupce podsekcce *Cyanoxanthinae*. Není zřejmé, zda ono unikátní prodloužení lupenů v podobě zřetelné síťovité žilnatiny po celé výšce třeně představuje jednorázový výjimečný nále, či zda se jedná o rys typický pro tento taxon. Bez ohledu na to však nelze popřít, že tento unikátní a dosud neznámý morfologický aspekt překlenuje enormní mezeru, jenž panovala mezi klasickými lupenatými formami v čeledi *Russulaceae* a několika poroidními taxony v jiných čeledích řádu Russulales, např. rod *Bondarzewia*. Argument, který by podpořil tu hypotézu o zcela výjimečném jevu, spočívá v systematickém zařazení. Podsekcce *Cyanoxanthinae* totiž není tou z nejstarších skupin v čeledi *Russulaceae*, ačkoli je jednou ze základních větví fylogenetického kladu *Heterophyllidia*. To vysvětluje přítomnost několika druhů z *Cyanoxanthinae* s hodně větvenými lupeny. Hustě síťovité a téměř poroidní uspořádání hymenia na třeni by však nemělo být mylně považováno za indikaci

blízkého příbuzenství s holubinkotvarou čeledí *Bondarzewiaceae*. Buyck a Atri (2011) závěrem uvádějí, že tyto jevy by měly být vnímány pouze jako důkaz, že potenciální konvergence uspořádání hymenoforu je mezi těmito dvěma čeleděmi možná. Jedná se o další příklad u řádu Russulales, jak snadno se může uspořádání hymenoforu měnit.

### Obrázek 3

*Detail povrchu třeně vzorku z podsekcce Cyanoxanthinae pod stereomikroskopem.*



Foto Buyck a Atri (2007).

## 4.4 Třeň

Třeň se mezi druhy rozlišuje podle tvaru, výšky, tloušťky, barvy, struktury povrchu a konzistence. U druhů, které rostou v mechových porostech, bývá třeň dlouhý a štíhlý, často až vytáhlý, příkladem mohou být *Russula sphagnicola* (holubinka rašeliníková), nebo *R. emetica* (h. vrhavka). U jiných druhů bývá třeň buď krátký a zakrnělý, např. *R. curtipes* (h. krátkonohá) nebo krátký a tlustý, jako má *R. delica* (h. bílá). Tvar třeně se různí, u mnoha druhů je pravidelně válcovitý, u některých se rozšiřuje směrem k bázi, kde nabývá až kyjovitého tvaru, dle názvu u *R. clavipes* (h. kyjonohá), anebo jsou holubinky, u nichž je vespod zúžený u *R. vesca* (h. mandlová). U některých druhů může být třeň různě zploštělý, zahnutý či pokroucený, např. u *R. risigallina* (h. měnlivá). Povrch třeně může být lysý a hladký, z části ojíněný nebo žilkovaný a podélně brázděný. Zbarvením bývá třeň zpravidla bílý či bělavý, avšak u holubinek, které mají klobouk zbarvený do červena, fialova apod. může být třeň zbarven podobným odstínem, např. *R. rhodopoda* (h. rudonohá). Ve stáří nebo při poranění může třeň u některých druhů žloutnout, dobře

patrné u *R. heterophylla* var. *chloridicolor* (h. citronová) nebo skvrnatět do okrových, hnědavých až černých tónů, např. *R. melliolens* (h. medovonná), *R. nigricans* (h. černající). Při přílišném nasáknutí vodou může třeň některých holubinek zešednout. Barevné změny třeně po jeho narušení jsou důležitým určovacím znakem. Konzistence třeně bývá většinou pevně masitá, tvrdá až tuhá, a to i v době zralosti. Vyskytují se i holubinky, jejichž třeň je měkký a křehký. Třeň bývá uprostřed plný, později se však může stát komůrkatým s různě velkými dutinkami nebo zcela dutým, např. *R. cavipes* (h. dutonohá) (Melzer & Zvára, 1927; Socha et al., 2011). Pro holubinky bývá charakteristické, že se třeň při zlomení netřepí, resp. nemá vláknitou konzistenci, ale puká napříč tělem podobně jako při zlomení tabulové křídly (Smith, 2015).

#### 4.5 Dužina

Dužina těchto hub se mění v průběhu zrání plodnic. Z počátku bývá tvrdá a pevná, časem však křehne a měkne. Přesto se holubinky svou konzistencí různí, některé tak zůstávají zvláště tvrdé, např. *Russula lepida* (holubinka sličná), a jiné bývají velmi měkké a křehké, jako *R. betularum* (h. březová). Dužina bývá pod pokožkou většinou bělavá, vyskytují se ovšem fialové, růžové a žluté odstíny. U řady druhů holubinek se barva dužiny mění po poranění, ve stáří či při nasáknutí vodou. Barevné změny bývají většinou do žluta a okrova, např. u *R. carpini* (h. habrová), různě intenzivně šedého zbarvení, jako u *R. alnetorum* (h. olšinná), u starších plodnic často do hněda či rezava, např. *R. mustelina* (h. kolčaví), nebo výrazně černého zbarvení, např. *R. nigricans* (h. černající) (Socha et al., 2011). Dužina holubinek, stejně jako u rodu *Lactarius* (ryzec), obsahuje kulovité buňky zvané sféroocysty (viz Obr. 4), jež vznikly přeměnou koncových částí generativních hyf. Ty způsobují onu lámavost či pukavost, podobnou konzistenci jablka nebo křídly, jak bylo uvedeno výše. Díky přítomnosti sféroocyst se tak dají zástupci čeledi *Russulaceae* dobře rozlišit od ostatních skupin hub (Smith, 2015).

#### Obrázek 4

Kulovité sféroocysty u některých čeledí řádu *Russulales* (vlevo) ve srovnání s hyfami jiných řádů hub (vpravo).

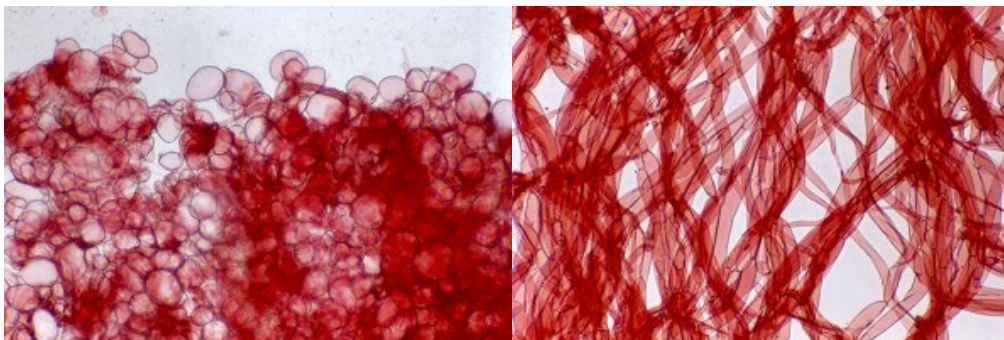


Foto Giancarlo Partacini (2010), (Characteristics of the russuloid fungi, 2010).

### 4.6 Pach

Pach dužiny holubinek je důležitý určovací znak jednotlivých druhů, jelikož u některých bývá zcela specifický. Pach je nejintenzivnější v oblasti lupenů nebo při poranění či poškrábání dužiny třeně. Nejvíce se pach projevuje u zralých plodnic nebo později až při jejich uvádání. Pachy však mohou poměrně rychle vyprchat, zejména při sušení plodnic. Většina holubinek spíše voní, než páchne nebo jsou bez vůně. Mnohé holubinky získaly na základě své vůně i druhové jméno. Mezi intenzivně vonící patří např. holubinka medovonná (*Russula melliolens*), která je cítit po medu a vůně u ní přetrvává i po usušení, dále mohou mít holubinky vůni po hořkých mandlích – h. hořkomandlová (*R. laurocerasi*), po angreštu – h. angreštová (*R. torulosa*), po listech pelargonie – h. pelargoniová (*R. pelargonica*), atd. Vyskytují se i druhy holubinek, které spíše či velmi výrazně zapáchají. Mezi ně se může řadit např. h. smrdutá (*R. foetens*), zapáchající po žluklém oleji, h. hřebenitá (*R. pectinata*) po spáleném peří, či h. nelibá (*R. amoenolens*) mající spermatický zápach (Socha et al. 2011).

#### 4.6.1 *Russula pyriodora*, nový vonící druh popsáný z Finska

Ruotsalainen a Huhtinen (2011) popsali na základě materiálu z Finska nový druh holubinky *Russula pyriodora*. Vyznačuje se vzhledem velmi podobným s *R. betularum* (holubinka březová), ale má výrazný odér po hruškách. V jejich studii jsou rovněž diskutovány další rozlišovací znaky, a to jak makroskopické, tak mikroskopické. Nový druh je také srovnáván s typem *R. alborosea*. Autoři se v článku věnovali problematice

rozlišování druhů holubinek v oblasti Finska a popsali objev nového druhu na základě jeho oděru. Dle této studie se v letech okolo roku 2011 ve Finsku často nacházely každoročně nové druhy, avšak vzorek vždy čítal pouhých několik málo plodnic. Navíc byl častý problém najít a identifikovat stejný druh na jiném místě, navzdory četnosti sběrů obdobných hub. V důsledku toho autoři upustili od popisování takových nálezů, i když byli mnohdy více či méně přesvědčeni, že se o nový druh jedná. Ve Finsku je známo mnoho rozličných druhů, které jsou blízce příbuzné s již existujícími známými druhy. Jejich oficiálnímu popisu však brání nedostatek exemplářů. Autoři zároveň uvedli, že by mělo dojít k ověření a případné reklasifikaci materiálu ze sběrů a výzkumu některých předchozích autorů (např. Sarnari, 1998). Starší sbírky obsahovaly několik různých taxonů, přestože byly označeny za zjevné vzorky od jednoho druhu, např. *R. amoenoides* (h. sametová) a *R. terenopus* (h. zemitá). S vědomím těchto situací je popis nových druhů holubinek, založených pouze na třech sběrech ze dvou různých míst ve Finsku, jen zřídka doporučován. V současnosti, i v případě jistoty nových nálezů, nelze opomínat typové mikroskopické studie. Reumaux et al. (1996; citováno podle Ruotsalainen & Huhtinen, 2011) popsal druh *R. alborosea*, kterou později spojil jako variantu *R. betularum* (h. březová). Barvy druhu *R. betularum* si jsou např. podobné s nově zkoumaným druhem *R. pyriodora* (jž se věnuje tento článek), ale jejich mikroskopické znaky jsou zcela odlišné. Proto mikroskopické znaky, které Reumaux et al. (1996) přiřadil pro *R. betularum* a *R. alborosea*, vyžadovaly podrobnější mikroskopickou typovou studii druhé zmíněné holubinky. V jejíhozápadnější části Finska lze nalézt taxon podobného vzhledu, jako nový druh holubinky *R. pyriodora*, a to *R. minutula* (h. maličká). Od ní se však nově nalezený druh dobře odlišuje právě svým pachem. U veškerého zkoumaného materiálu *R. pyriodora* byla několika mykology ověřena jasná vůně po hruškách.

*R. pyriodora* je malým, poměrně vzácným druhem, podobajícím se *R. betularum*. Rozlišuje se však výraznou vůní po hruškách a lehce ostrou chutí. Klobouk je malý, v mládí má světle růžovou až růžovou barvu s hedvábným leskem a vypouklý tvar. Ve stáří se stává matnější a tvarem postupně zploštělá. Mohou se na něm z důvodu sucha či věku objevit bledé skvrny. Středový hrbolek (umbo) je malý a tmavší, okraje klobouku jsou zpočátku hladké, časem však mírně, ale zřetelně vroubkované. Lupeny jsou rovné, v mládí od sebe mírně rozdělené, ve stáří vzdálenější, a tedy řidší. Za čerstva mají šedobílou barvu,



při zaschnutí se stávají nažloutlými až okrovými. Třeň je dlouhý, tvarem zpočátku válcovitý až mírně klínovitý, později nejširší uprostřed, rozšiřující se mírně i při vrcholu. Třeň má šedobílou barvu s nádechem červených či růžových tónů po celé délce. Povrch není hladký a celý třeň poměrně křehký. Vůně je intenzivní, nasládlá a hrušková. Obdobná vůně byla zaznamenána i u druhu *Inocybe corydalina* (vláknice dymnivková). Chuť je nepříjemná, olejovitá a nasládlá, v lupenech lehce štiplavá, ale nepálí. Barva výtrusného prachu je bělavá (Ib). Výtrusy mají hodnotu  $Q = 1,19$ ; tvarem jsou široce až vejčité elipsoidní, jejich ornamentika je variabilní, a to buď s bradavkami, skupinami bradavek, nebo s krátkými hřebínky bez zřetelných spojovacích článků. Bradavičky jsou většinou zaoblené, velmi vzácně se mohou nacházet zašpičatělé. Ve výtrusném prachu jsou výtrusy větší a bradavice více rozmístěné. Bazidie jsou čtyřvýtrusé, krátké a klínovité. Cheilocystidy (cystidy na ostří lupenů) jsou hojné a mají vřetenovitý tvar se zúženým zakončením. Pokožka klobouku obsahuje hojný počet dermatocystid, jež jsou buď v malých svazečcích úzkého klínovitého tvaru a výjimečně nevariabilní, nebo jsou rozptýlené, delší, téměř cylindrického tvaru a spíše nevariabilní. Hyfy v pokožce jsou úzké, válcovité, nejširší úzce klínovité, septální intervaly (vzdálenost přehrádek) poměrně dlouhé, jejich obsah není granulózní (Ruotsalainen & Huhtinen, 2011).

#### 4.7 Chuť

Chuť holubinek je velmi pestrá a proměnlivá. Rozlišují se druhy sladké, nasládlé, mírné, mírně štiplavé, palčivé (též ostré), nahořklé a značně hořké. Obecně platí pravidlo, že holubinky mírné chuti jsou jedlé a vhodné pro konzumaci, zatímco nahořklé a palčivé nejedlé, a tedy pro využití v kuchyni nevhodné. U všech druhů působí nejpalčivěji lupeny, nejméně pak vnitřek třeň (Melzer & Zvára, 1927). Mírná, někdy až oříšková chuť se objevuje např. u holubinky namodralé (*Russula cyanoxantha*), h. mandlové (*R. vesca*), h. nazelenalé (*R. virescens*) nebo h. kolčaví (*R. mustelina*). Některé druhy rodu *Russula* jsou palčivé třeba pouze v lupenech, zatímco dužina jejich třeň bývá nasládlá, např. h. palčivolupenná (*R. acrifolia*), nebo mají hořkou chuť jen na povrchu třeň a pokožky – h. nahořklá (*R. amara*). Velmi palčivá chuť se vyskytuje u h. brunátné (*R. badia*), h. vrhavky (*R. emetica*) nebo h. jízlivé (*R. sardonica*) (Socha et al., 2011). V případě velmi mladých plodnic ovšem bývají lupeny štiplavé i u holubinek jinak mírné chuti. Během

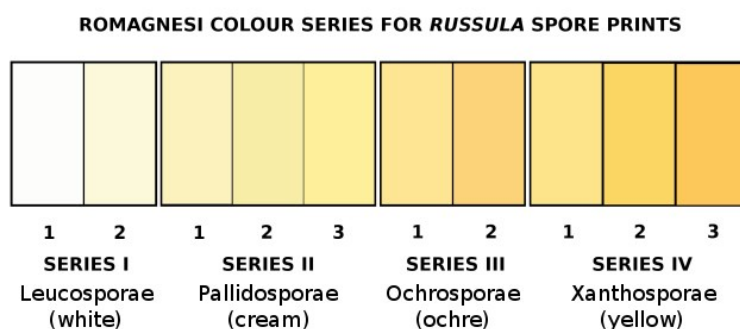
dozrávání tato lehká štiplavost vymizí, příkladem mohou být h. tečkovaná (*R. vinosa*) nebo h. jahodová (*R. paludosa*). Dále jsou také holubinky, u nichž se jejich palčivá chuť vytratí během tepelné úpravy, a stanou se tak chutnými a jedlými (Melzer & Zvára, 1927; Svrček et al., 1984).

#### 4.8 Barva výtrusného prachu

Barva výtrusného prachu hraje klíčovou roli při určování druhů rodu holubinka. U většiny druhů zůstává v průběhu roku prakticky neměnná, tudíž se jedná o spolehlivý rozlišovací znak. Barevné schéma výtrusného prachu holubinek se pohybuje od bílé po sytě žlutou. Během jeho zasychání se však může barva lehce změnit, proto je pro nejpřesnější určení vhodné posuzovat čerstvě vypadaný prach. Výtrusný prach lze získat z čerstvého klobouku dospělé holubinky, položením na bílý papír a přiklopením nádobou. Prach se z lupenů uvolňuje přibližně za 10-12 hodin. Český mykolog Václav Melzer rozlišoval ve své knize o holubinkách pouze 6 barevných stupňů barvy výtrusného prachu (Melzer & Zvára, 1927). Francouzský mykolog Henri Romagnesi klasifikoval barvy spor holubinek do čtyř sekcí, a dalších podsekcí dle intenzity (resp. světlosti či tmavosti barvy), čímž vytvořil systém, který je dodnes stále velmi používaný (viz Obr. 5) (Malloch, 2021). V české terminologii je sekce I bílá až bělavá: Ia – bílá, Ib – bělavá. Sekce II smetanová: IIa světle smetanová, IIb,c – středně sytě smetanová, IIc – tmavě smetanová. Sekce III okrová: IIIa – světle okrová, IIIb,c – středně sytě okrová, IIIc – tmavě okrová. Sekce IV žlutá: IVa – světle žlutá, IVb,c – středně sytě žlutá, IVd,e – tmavě žlutá (Socha et al., 2011). Míra barevných tónů v rámci hlavních 4 skupin se může dle zdrojů různit.

#### Obrázek 5

*Romagnesiho škála barev výtrusného prachu.*



(Malloch, 2021).

## 5 Mikroskopické znaky

Mezi mikroskopické znaky holubinek patří zejména ornamentika a velikost výtrusů, typy hyf jako dermatocystidy, brvy či primordiální hyfy. Dále typy cystid, tedy sterilních buněk v hymeniu. Podle umístění na plodnici se rozlišují následující typy: pileocystidy (na povrchu klobouku), cheilocystidy (na ostří lupenů), pleurocystidy (na ploše lupenů), kaulocystidy (na třeni), podle charakteru obsahu se rozlišují gleocystidy a chrysocystidy, dále se pak rozlišují oleocystidy, pseudocystidy a lycocystidy. Mezi mikroskopické znaky se řadí rovněž vzhled bazidií na lupenech (Socha et al., 2011).

### 5.1 Výtrusy

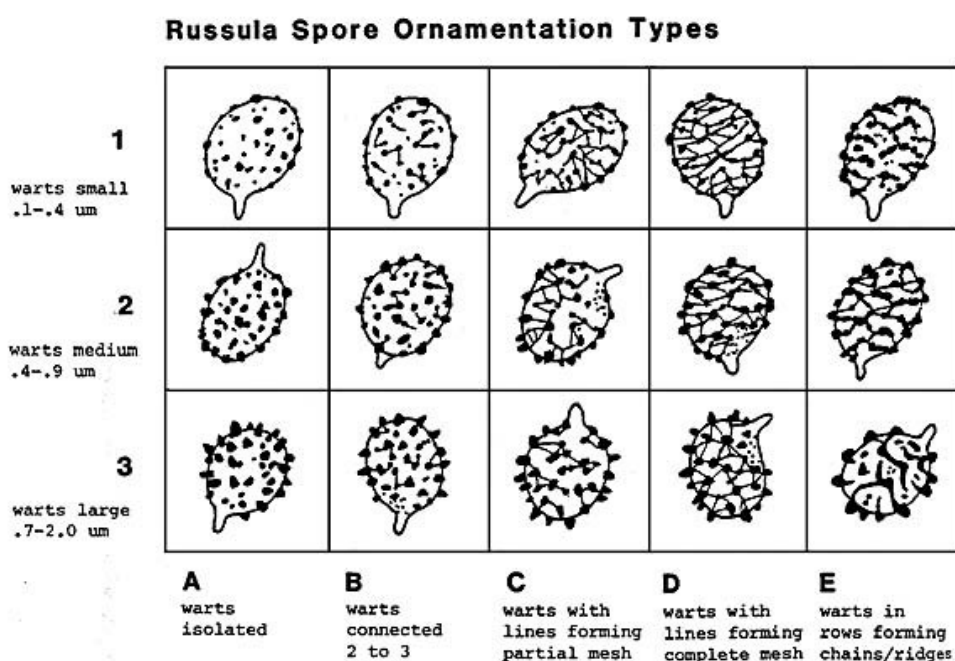
Výtrusy neboli spory se u holubinek různí vzhledem i tvarem. Vzhled bývá vejčitého tvaru, ale vyskytují se i výtrusy kulovité, či různě elipsoidní. V oblasti vrcholu jsou výtrusy široce zaoblené na druhém konci se zužují v krátkou stopku, která se nazývá apikulus, též hilární přívěsek. Poblíž se nachází suprahilární skvrna, jež bývá amyloidní, tedy barvitelná do šedého až šedomodrého odstínu (někdy dokonce téměř do černého) v roztocích obsahujících jód. Díky této skvrně se dají dobře diverzifikovat různé sekce rodu *Russula*. Hilární skvrna může mít podkovovitý, či polokruhovitý tvar, většinou však bývá nepravidelný. Velikostí (délka × šířka) se výtrusy pohybují v rozmezí  $5 \times 4,5$  až  $13,5 \times 11,5 \mu\text{m}$ . Velikost výtrusů se udává i tzv. hodnotou Q, což je poměr délky výtrusu a šířky výtrusu. Velikost bývá měřena bez ornamentiky a apikulu.

Ornamentika výtrusů je velmi proměnlivá a mnohdy mezidruhově charakteristická (viz Obr. 6). Pozoruje se pod imerzním objektivem, nejprve jsou však výtrusy potřeba obarvit Melzerovým činidlem, díky čemuž vynikne jejich povrchová struktura. Podle velikosti a způsobu propojení jednotlivých výrůstků se výtrusy rozlišují na ty s útvary izolovanými nebo s útvary spojenými. Spory s izolovanými útvary mají výrůstky tečkované, zrnité (drobné bradavky), bradavčité (polokulovité, zaoblené), hrotnaté (delší, ale tupé), ostnité (dlouhé a špičaté). Spory s útvary spojenými mají ornamentiku buď zcela pospojovanou různými příčkami a linkami, a vytváří tak úplnou síťku, nebo je ornamentika přerušovaná, a vytváří tak síť neúplnou. V některých případech mohou být na výtrusu spojené např. jen 2-3 výrůstky. U některých spor ostny či bradavky splývají v nepravidelné, různě tlusté a vysoké útvary. Pokud jsou přechody mezi jednotlivými

výrůstky neúplně tak, že jdou jednotlivé bradavky dobře rozpoznat, jedná se o tzv. řetízkovité výtrusy. Pokud jsou jednotlivé spoje plynulé a zarovnané, výtrusy se nazývají hřebínkaté. Existují i tzv. křídlaté spory, kde spoje výrůstků svou délkou přesahují šířku samotného výtrusu (Melzer & Zvára, 1927; Socha et al., 2011; Svrček et al., 1984).

## Obrázek 6

*Některé typy ornamentiky výtrusů holubinek.*



(Woo, 1989).

## 5.2 Hymenium

Hymenium je výtrusné rouško na lupenech. Jde o jednu vrstvu buněk obsahujících výtrusy. U stopkovýtrusných hub se výtrusy nacházejí na povrchu bazidií (odtud název Basidiomycota). Bazidie jsou buňky kyjovitého tvaru a různých délek. Bývají zpravidla čtyřvýtrusé, na jejich vrcholu se nachází 4 sterigmata (stopečky) nesoucí výtrusy. Vzácně se však mohou vyskytnout i bazidie dvou-třívýtrusé (s 2-3 sterigmaty). Bazidie mívají velikost  $25-70 \times 6-15 \mu\text{m}$ . Mezi bazidiemi se na hymeniu nachází také další buňky – cystidy, které představují neplodná hypertrofní zakončení hyf. Tvar mívají stejně jako bazidie kyjovitý nebo větvenovitý. Délkou někdy mohou přesáhnout bazidie. Na konci bývají ztenčené v tzv. násadec či zobánek, který může být špičatý nebo kulovitý. Cystidy

bývají lysé, tenkostěnné většinou bez inkrustace, tvarově však převážně jednotvárné. Z toho důvodu nehrají při určování holubinek významnou roli. Přesto se u nich vyskytují některé mezidruhové rozlišnosti. Podle umístění na hymeniu se cystidy rozlišují na pileocystidy či dermatocystidy (na povrchu klobouku), pleurocystidy (na ploše lupenů), cheilocystidy (na ostří lupenů) a kaulocystidy (na povrchu třeně) (Socha et al., 2011; Svrček et al., 1984).

### **5.3 Pokožka klobouku**

Pokožka klobouku (pilepellis) je tvořena různými typy hyf a buněk. Jsou zde zpravidla tři typy hyf: brvy, dermatocystidy a primordiální hyfy. Jejich diverzita je zásadní znak v systematické taxonomii. V některých případech mohou hyfy mít olejnatý obsah (oleiferní hyfy). Pokožka klobouku je tvořena dvěma vrstvami. Svrchní je označována jako suprapellis v podobě trichodermu, spodní jako subpellis, která je tvořena z horizontálně uspořádaných buněk. Přejít mezi těmito vrstvami není vždy zcela jednoznačně rozdělen. Vrstvy jsou více či méně želatinizované nebo slizké, různě tlusté a ohraničené (Socha et al., 2011).

#### **5.3.1 Brvy**

Brvy jsou též někdy nazývány generativní hyfy. Vytvářejí nejsvrchnější vrstvu pokožky společně s ostatními typy hyf. Brvy mají různě variabilní tvary. Mohou být přehrádkované (septované) řídce nebo četně a někdy mohou být větvené. Koncová buňka neboli terminální článek brv někdy bývá vejčitého, až balónovité nadmutého tvaru, což je určovací znak u některých druhů. Totéž platí u subapikálních buněk brv, které mohou být kratší a širší než terminální buňky, a někdy zase zúžené, řetízkovité nebo rozvětvené (Svrček et al., 1984).

#### **5.3.2 Dermatocystidy**

Dermatocystidy, též nazývané pileocystidy, byly objeveny Victorem Fayodem v roce 1889 a jejich pozdější studium velmi napomohlo ke zformování vnitrodruhové systematiky rodu *Russula*. Jedná se o jednobuněčné či přehrádkované hyfy, jež jsou od ostatních dobře rozeznatelné pomocí barvitelných černých tělísek, která reagují zešednutím na určitá činidla (viz Obr. 7). Tato reakce se objevuje pouze u dermatocystid z čerstvých plodnic.

Tvary jsou rozličné, nejhojněji se vyskytují válcovité, dále vřetenovité a kyjovité (krátce nebo dlouze), zaoblené či zašpičatělé. Někdy se na vrcholu nachází výrůstek (násadec) nebo růžkatý útvar ukončený dvěma klepítkovitými výrůstky. V závislosti na počtu přehrádek neboli sept jsou dermatocystidy rozlišovány na jednobuněčné (např. holubinky z podrodu *Heterophyllidia*), několikrát septované (druhy ze sekce *Tenellae* a podsekcce *Urentes*) a mnohokrát septované (druhy z podsekcce *Melliolentinale* a někteří zástupci sekce *Tenellae*). Pileocystidy se mezi sebou liší nejen tvarem, ale také obsahem. U některých druhů jsou inkrustované, někdy se projevuje slabší nebo naopak bouřlivější reakce na různá chemická činidla (Socha et al., 2011).

### Obrázek 7

*Dermatocystidy a spory u holubinky vrhavky (R. emetica)*

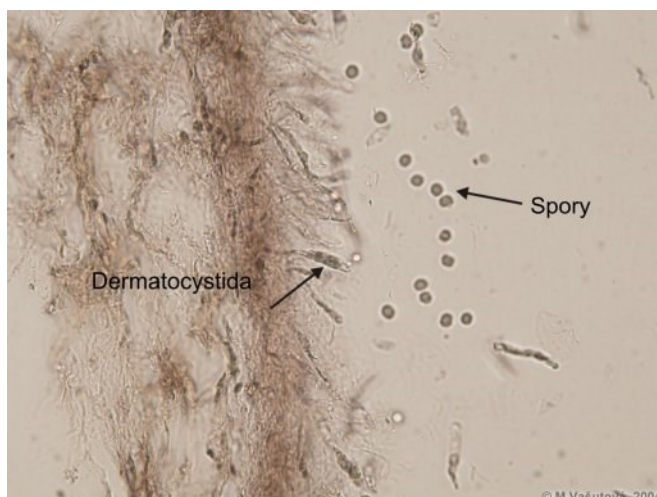


Foto Martina Vašutová (2004), (Vašutová & Sedlářová, 2004).

### 5.3.3 Primordiální hyfy

Primordiální hyfy byly objeveny a pojmenovány Václavem Melzerem (Melzer & Zvára, 1927). Jedná se o dlouhé přehrádkované a mnohdy větvené hyfy pokožky klobouku (viz Obr. 8). Na povrchu mají žlutavou inkrustovanou vrstvu. Tvoří buď svazečky, nebo se vyskytují jednotlivě a většinou jsou robustnější než hyfy v základním pletivu hub. Jsou dobře barvitelné karbolfuchsinem, přestože v něm nemusí být vždy dobře pozorovatelné. Primordiální hyfy se nacházejí zejména u holubinek, jež mají mírně nahořklou chuť a nažloutlý nebo sytě žlutý výtrusný prach (kategorie IV – viz výše) (Socha et al., 2011).

## Obrázek 8

*Primordiální hyfy rodu Russula*

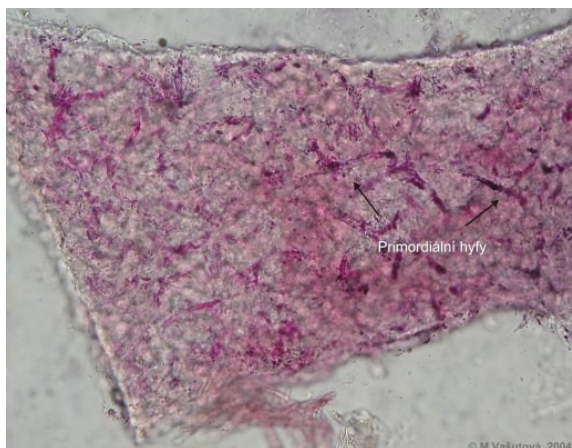


Foto Martina Vašutová (2004), (Vašutová & Sedlářová, 2004).

### 5.4 Pokožka třeně

Pokožka třeně obsahuje základní hyfy (čiré i pigmentované), brvy, obdobně jako u pokožky klobouku dermatocystidy a pro třeně typické kaulocystidy. Ty jsou však štíhlejšího a podlouhlého kyjovitého tvaru, většinou na konci zaoblené, či výjimečně růžkaté. Bývají nepravidelně rozptýleny na povrchu třeně, občasně se mohou shlukovat do svazečků. U několika zástupců se dermatocystidy v pokožce třeně nachází, i když chybějí v pokožce klobouku. Brvy bývají výrazně vyvinuté spíše vzácněji, u některých druhů ovšem mohou chybět společně s dermatocystidy. Primordiální hyfy se v pokožce třeně vyskytují vzácně (Melzer & Zvára, 1927; Socha et al., 2011).

### 5.5 Makrochemické reakce

Melzer a Zvára (1927) byli mezi prvními mykology, kteří použili k systematice holubinek různých chemických činidel. Díky chemickým reakcím lze dobře rozlišit některé příbuzné druhy holubinek, a také vymežit některé podsekce. K hojně používaným chemickým reagensům patří např. vodný roztok zelené skalice ( $\text{FeSO}_4$ ), hydroxidu draselného a sodného (KOH, NaOH), fenolu neboli karbolové vody ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ), formaldehydu, amoniaku neboli čpavku ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) a alkoholický roztok guajakové pryskyřice, tzv. guajaková tinktura (guajak). Dále se běžně užívají alkoholicko-vodný roztok

alfa-naftolu, anilin ( $C_6H_5NH_2$ ), sulfovanilin (zkráceně SV), benzidin ( $C_6H_5NH_2$ )<sub>2</sub> a amydopyrin, N-N diethylanilin s kyselinou benzoovou. Významným reagentem je jódové Melzerovo činidlo, které je pojmenováno podle V. Melzera a dodnes je celosvětově užíváno. Melzerovo činidlo barví amyloidní části plodnic (výtrusy, hyfy, aj.) šedomodře, modře či modročerně. K barvení hub pod mikroskopem jsou využívána barviva a činidla jako kongo červeň, (brilantová) kresylová modř (využívána k metachromatickým reakcím), bavlnová modř, či karbolfuchsin (Buyck & Atri, 2011; Socha et al., 2011).



## 6 Genetické a molekulární poznatky

Současné trendy z oblasti genetiky nabývají na významu zejména v posledních letech. Vědci se věnují studiím DNA kódu, konkrétně mezidruhové a vnitrodruhové odchylky s použitím PCR amplifikace a sekvenování (cf. Li et al., 2018). Kromě populační genetiky se studie soustřeďují i např. na biologické a chemické vlastnosti holubinek. V nedávné době např. bylo analyzováno složení určitých druhů a jejich antioxidační, antibakteriální či cytotoxické aktivity, obsah kyselin, sacharidů nebo kalorická hodnota (cf. Kostić et al., 2020).

### 6.1 Nejnovější pokroky v populační genetice ektomykorhizních hub rodu *Russula*

Pochopení populační biologie a základních životních procesů holubinek je důležité pro ilustraci jejich ekologických rolí a pro vývoj účinných strategií ochrany a využití. Autoři Wang et al. (2015) podali přehled nejnovějších populačně genetických a molekulárně ekologických studií rodu *Russula*. Zaměřili se na otázky týkající se velikosti genetií (skupina geneticky identických organismů, podrobněji viz dále), způsobů rozmnožování, populačních struktur a role geografie na jejich genetické vztahy. Diskutovány byly také strategie odběru vzorků, molekulární markery a analytické přístupy používané v těchto studiích. Z přehledu vyplynulo, že u rodu *Russula* jsou genety obvykle malé, lokální rekombinace je častá a šíření spor na velké vzdálenosti je relativně neobvyklé. V závěru se autoři věnovali několika dlouhodobým problémům i budoucím trendům ohledně životní historie a evoluce této skupiny hub. Ekologické koncepty, jež se v posledních letech rozvinuly nabízejí hypotézu rozdělení ektomykorhizních hub na houby raného stadia a houby pozdního stadia. Houby raného stadia jsou považovány za pionýrské kolonisty v raném sukcesním stadiu lesa. Typické ekologické charakteristiky pro tyto jedince nebo jejich společenstva zahrnují vysoký počet genotypů, malé a krátkověké genety, nízkou úroveň potřebných živin a uvolňování a šíření meiotických spor (Muller et al., 2004). Na druhé straně pozdní stadium mykorhizních hub má velké a dlouhověké genety s vysokou úrovní požadavků na živiny a expanzi mycelia, které se šíří ve vzrostlých a nenarušených lesích. Proto by společenstva pozdní fáze měla mít nízkou úroveň genotypové diverzity

(Amend et al., 2009). Přesto toto dělení není přesné, neboť např. houby raného stadia s genety velkých rozměrů, byly nalezeny ve starých porostech.

### 6.1.1 Analýzy polních vzorků v drobném měřítku (fine-scale)

Při zkoumání plodnic mohou genetické struktury objasnit rozšíření, reprodukční biologii a ekologickou strategii jedince. Základní otázky týkající se genetického jedince (tj. genetu) lze odvodit přímo. Genetický jedinec je běžně definován jako soubor vegetativních mycelií pocházejících z jednoho pohlavního procesu. Mezi základní parametry, které mohou tyto studie posoudit, patří zejména velikost a stálost jednotlivých genetů, vztahy mezi sousedními genety a jejich hustota a prostorové rozložení. Druhy rodu holubinka jsou tradičně považovány za ektomykorhizní houby pozdního stadia, neboť byly obvykle nalézány v dospělých porostech lesů mírného pásma. V těchto lesích představují hlavní podíl rostoucích bazidiokarpů (Bergemann & Miller, 2002). Dalším rysem podporujícím status pozdní fáze je skutečnost, že bazidiospory holubinek v laboratorních podmínkách obtížně klíčí. Několik studií však popřelo názor o pozdním stadiu života holubinek. Například u *Russula vinosa* (h. tečkovaná) byla vzdálenost genetů odhadnuta maximálně na 1 m, protože každý sporokarp představoval jedinečný genet (Liang et al., 2004). Bergemann a Miller (2002) rovněž zjistili, že velikost většiny genetů u *R. brevipes* (h. nízká) byla menší než 3 m, až na několik výjimek dosahujících až 18 m. Následná studie s druhem *R. brevipes* odhalila podobný vzorec, kde bylo mnoho malých genetů a velmi málo velkých, přičemž největší měl vzdálenost kolem 25 m. V jižní Indii se v rámci jednoho výzkumu zkoumala velikost genet holubinkové podsečky *Foetentinae*. Ta ukázala, že sporokarpy stejných genet se soustřeďují v oblasti o průměru menším než 5 m, zatímco některé mohou být velké až 70 m (Riviere et al., 2006). Autoři zdůraznili, že tyto velké genety jsou abnormální, jelikož se na těchto vzdálenostech nevyskytovaly žádné spojovací bazidiokarpy. Souhrnně tyto výzkumy naznačují, že druhy *Russula* mívají většinou malé velikosti genet (méně než 5 m), což zpochybňuje definici pozdního stadia ektomykorhizy holubinek. Vysvětlením velkých vzdáleností mezi stejnými genety by mohlo být, že některé genotypy se mohou nepohlavně rozšiřovat růstem mycelia anebo přetrvávají po dlouhou dobu pod zemí. Přispívají tomu i faktory jako lidská činnost, přenos hub houbaři, půdní procesy a další jevy, jež mohou způsobit inokulaci stejného genotypu

po lese. Současné výsledky rovněž naznačují, že reprodukční biologie holubinek a dalších ektomykorhizních hub se pravděpodobně liší mezi druhy téhož rodu a mezi ekologickými nikami konkrétního druhu. Svou roli také hrají velké ekosystémy jako biomy. Ukázalo se například, že staré tropické deštné lesy mají větší genety vybraných ektomykorhizních hub než lesy mladé, v mírném pásmu. Neexistuje však jednoznačný důkaz, že stáří stromového porostu určuje velikost genet stejného genotypu u kteréhokoli druhu rodu *Russula*. Další studie by se měly zaměřit na konkrétní druhy rodu *Russula* v lesích různého věku, ale s podobnými podmínkami prostředí (Liang et al., 2004).

### **6.1.2 Genetické analýzy ve velkém měřítku (large-scale)**

Na rozdíl od studií v drobném měřítku (fine-scale), se genetické analýzy velkého měřítku zaměřují především na rozdělení populací, izolaci na velké vzdálenosti a tok genů na velké vzdálenosti u cílových druhů. Stejně jako pyly rostlin se i spory hub mohou šířit větrem (tzv. anemofilie). Nicméně úloha větrem zprostředkovaného toku genů v rozsáhlých populačně genetických studiích je stále sporná. Aerodynamiku přenosu spor vzduchem hodnotilo několik studií. Zdá se, že šíření spor vzduchem se v přírodě řídí vzorcem Poissonova rozdělení, přičemž většina spor dopadá poblíž svých rodičovských sporokarpů (Galante et al., 2011). Ačkoli genetické analýzy populací v drobném měřítku naznačují převážně lokální šíření spor, nevylučují možnost příležitostného šíření na velké vzdálenosti. Rozšíření hyfových sítí může být narušeno kvůli určitým geografickým bariérám, jako jsou horské a říční systémy nebo velké vzdálenosti. Proto k jakémukoli pozorovanému toku genů, a sdílení alel mezi odlišnými geografickými populacemi, mohl přispět právě rozptyl výtrusů vzduchem. Cao et al. (2013) použili sekvence u pěti genových fragmentů k odvození struktury a toku genů mezi geografickými populacemi *Russula virescens* (holubinky nazelenalé) v jihozápadní Číně, přičemž největší vzdálenost mezi populacemi byla asi 500 km. Výsledky ukázaly, že každý ze všech pěti lokusů měl alespoň jeden haplotyp rozšířený ve většině populací na dané lokalitě. Dále byla při studii použita analýza molekulární variance (AMOVA), díky níž bylo zjištěno, že přes 90% pozorované genetické variability se nacházelo v rámci jednotlivých místních populací, což odpovídá významnému toku genů mezi populacemi. Avšak zatímco některé dvojice populací vykazovaly významnou genetickou diferenciaci, vztah mezi párovými

genetickými rozdíly populací  $F_{ST}$  (míra rozdělenosti, neboli snížení toku mezi subpopulacemi) a geografickými vzdálenostmi, byl statisticky nevýznamný. Testy alelické asociace mezi lokusy ukázaly, že populace holubinky nazelenalé v jihozápadní Číně se rozmnožují náhodně. Na rozdíl od *R. virescens* ukázaly v jihozápadní Číně fylogeografické analýzy mezi odlišnými populacemi druhu *R. griseocarnosa* významnou genetickou diferenciaci, přičemž ve třech odlišných geografických oblastech byla pokaždé jiná genetická populace (Li et al., 2010). Dále Wang et al. (2015) uvádějí, že šíření výtrusů a tok genů mezi populacemi ovlivnily velké hory, hluboké soutěsky a četné potoky a řeky, jež se v provincii Yunnan hojně nachází. Tam byly prováděny obě výše zmíněné studie. Podobná pozorování provedli také Bergemann a Miller (2002) v Severní Americe a Kleine et al. (2013) v Africe. Autoři (2002) objevili, že mezi dvěma severoamerickými populacemi *R. brevipes* a oddělenými Skalístými horami došlo k malému překryvu frekvencí alel. Kleine s kolektivem (2013) zase identifikovali genetickou divergenci mezi oddělenými populacemi na africkém kontinentu a Madagaskaru u tří druhů *R. discopus*, *R. pseudocarmecina* a *R. ochraceorivulosa*. Tyto studie naznačují, že šíření spor na velké vzdálenosti je u druhů rodu holubinka obecně omezené a velkých vzdáleností bylo pravděpodobně dosaženo prostřednictvím vícero kratších vzdáleností.

### **6.1.3 Strategie odběru vzorků a molekulární markery**

Dle Pagana et al. (2000) se ve statistice při výběru vzorku obvykle využívá podmnožina jedinců z pozorované populace, která reprezentuje a odhaduje charakteristiky celé populace. Pro výzkum populační genetiky v drobném měřítku je tedy pro definice jednotlivých genetů a analýzy prostorového rozložení obvykle vyžadována strategie sběru vzorků, která shromažďuje všechny sporokarpy. Nejobsáhlejší sběr vzorků v takové situaci vyžaduje, aby byla lokalita nepřetržitě sledována po celou dobu jedné nebo více sezón, kdy houby plodí. Produkce plodnic však závisí na mnoha faktorech a může se v jednotlivých letech výrazně lišit. Proto může být pro určení stálosti genet a identifikování změn společenstva v čase na daném stanovišti potřeba důsledný sběr vzorků po několik let (Bergemann et al., 2006). Wang et al. (2015) uvádějí, že vědci by měli být obezřetní při sladění strategie odběru vzorků s konkrétními cíli výzkumu. Při porovnávání dlouhodobých vzorků z určité lokality mezi sezónami či roky by neměly být z terénu

odstraňovány celé plodnice, nýbrž pouze část klobouku. Odstranění celých bazidiokarpů v jednom roce totiž může vážně ovlivnit genotyp vznikajících plodnic (resp. genetů na daném stanovišti) a snížit genotypovou diverzitu v následujících letech. Pokud by tak byly odstraněny všechny plodnice, zvýšila by se pravděpodobnost získání stejných genetů v následujícím roce, a naopak by se mohla snížit pravděpodobnost výskytu rekombinovaných genotypů. To by pak vedlo ke zkresleným závěrům o přirozené populační sukcesi. V praxi je často nemožné nebo nepraktické analyzovat všechny jedince populace. Proto se mnohdy volí selektivní odběr vzorků na základě stanoveného souboru kritérií, aby se snížila pracovní zátěž, ale zároveň se zachovala reprezentativnost vzorku (Riviere et al., 2006). Ačkoli získání a následná analýza všech plodnic z geografické populace může být někdy kvůli velkému množství vyčerpávajícím úkolem, je zde často i opačný problém – vzorků může být nedostatek. Jedlé houby například mohou sbírat místní obyvatelé pro vlastní konzumaci. Proto jsou mnohdy do výzkumu externě zapojeni i místní lidé a různé instituce, jelikož bez jejich pomoci by bylo velmi obtížné nebo nemožné nashromáždit dostatek reprezentativních vzorků pro další výzkum. V poslední době se objevuje alternativní přístup, který zahrnuje získávání vzorků mycelia přímo z půdy namísto spoléhání se na plodnice. V tomto případě jsou k získání molekulárních informací ze vzorků metagenomu zapotřebí druhově specifické primery. Krom toho, jelikož je mnoho holubinek jedlých, plodnice z trhů a obchodů by mohly být potenciálním zdrojem genetického materiálu. Z toho by bylo následně možné posoudit diverzitu a genetické vztahy mezi různými geografickými populacemi. Takovéto získávání vzorků by však mohlo představovat častou chybovost, neboť by to vyžadovalo přesnou znalost prodejců, z jaké lokality každá holubinka pochází a hrozilo by taktéž smíchání vzorků z různých geografických oblastí. To by pak mělo za důsledek nesprávné závěry o populační struktuře konkrétních hub (Li et al., 2018; Wang et al., 2015).

Běžnou analýzou v genetických studiích populací je zkoumání vztahu mezi genetickou a geografickou vzdáleností. Často se předpokládá, že geograficky blízce situované vzorky by si měly být geneticky podobnější vzhledem k jejich blízkým příbuzenským vztahům. Pro efektivní identifikaci genetických vztahů mezi kmeny je však zapotřebí adekvátních genetických markerů. Tyto markery musí mít dostatečné rozlišení, aby bylo možné rozlišit genetické jedince, zejména pro malý kvadrát. Pro populačně genetické analýzy drobného

i velkého měřítka druhů rodu *Russula* bylo použito několik typů molekulárních markerů, např. AFLP (metoda pro populační studie a pro zjištění vztahů na úrovni blízkce příbuzných taxonů), RAPD (metoda k určení variability na populační úrovni, definici klonů), SSR (metoda využívající primery specifické k úsekům DNA bezprostředně přiléhající k mikrosatelitní sekvenci), PCR-RFLP (metoda k určení variability chloroplastové DNA, definice haplotypů) a metoda sekvenování variabilních genetických lokusů (Informace o metodách používaných v laboratoři, 2021; Sunnucks, 2000). Uvedené markery však mají každý své problémy. Např. u SSR markerů mohou nastat potíže u případného výskytu nulové alely. U populačně genetických analýz může mnoho faktorů zvyšovat populační rozdíly a mutace mohou ovlivnit specifičnost SSR primerů (Roy et al., 2008). Nulové alely mohou ovlivnit i markery RAPD, což může být dále komplikováno jejich nízkou stabilitou a opakovatelností. Naproti tomu marker PCR-RFLP je kodominantní, není tudíž ovlivněn nulovými alelami. Jeho rozlišovací schopnost je často omezená, není-li použito mnoho takových markerů. Co se týče sekvenování genů, může se generovat hojný polymorfismus. U diploidních organismů však může být získání čistých sekvencí obtížné, pokud obě alely obsahují inserční nebo deleční polymorfismy. Vzhledem k potenciálně rozdílným úrovním genetické variability mezi populacemi může být nezbytné navrhnout různé molekulární markery pro různé účely. Například pro identifikaci genetických jedinců mezi plodnicemi v genetických analýzách drobného měřítka by mohly být RAPD markery vysoce diskriminační a účinné. Pro populační genetické analýzy velkého měřítka by zase mohly být žádanější PCR-RFLP markery a sekvenování řízené PCR metodou pro několik vysoce polymorfních genů (Wang et al., 2015).

## **6.2 Další vznikající směry v populační genetice**

V následujících podkapitolách jsou popsány nové směry, kterými se v poslední době výzkum v populační genetice hub ubírá. Diskutovány jsou technologie sekvenování a další metody užívané při populačně genetických studiích a v populační genomice. Dále je popsán výzkum populací plodnic v tropech a hypogeální výzkumy z hlediska šíření hub a jejich populací.

### 6.2.1 Sekvenování příští generace (high-throughput sequencing)

Současné technologie sekvenování příští generace (next generation sequencing, přesněji nazýváno high-throughput sequencing) přinášejí revoluci do populačně genetických studií mnoha organismů. Tyto technologie výrazně snížily náklady na sekvenování a umožnily získat tisíce sekvencí relativně levně pro většinu výzkumných laboratoří v relativně krátkém čase. Populační genomika se zaměřuje především na zákonitosti a principy dopadu evolučních procesů na genomy prostřednictvím kontroly diferenciací genomů v rámci populací a mezi populacemi (Papoušek, 2018; Whitaker & Banfield, 2006). Druhy rodu *Russula* jsou vynikajícími kandidáty pro populační genomické studie zaměřené na ekologické otázky. Krom tvorby mykorhizy s okolními dřevinami na různých habitatech hrají významnou roli ve zdraví rostlin. Populační genomické studie holubinek by mohly pomoci vyřešit některé historické biogeografické nejasnosti, např. vliv poslední doby ledové na rostlinná a houbová společenstva, což je v posledních letech diskutované téma (cf. Geml et al., 2010). Díky své „všudypřítomnosti“ v přírodních ekosystémech by měly druhy rodu holubinka být schopny poskytnout spolehlivé informace, na jejichž základě lze těmto otázkám porozumět.

### 6.2.2 Fylogenetické analýzy

Ve výzkumech se dostává pozornosti využití molekulárně fylogenetické analýzy. Populační genetika se zaměřuje na analýzu distribuce a změn frekvencí alel v rámci populací a mezi nimi. Ačkoli rozložení frekvence alel a párové hodnoty  $F_{ST}$  mohou pomoci určit vztahy mezi populacemi, samotná populačně genetická analýza často nestačí k tomu, aby poskytla úplný chronologický popis historie populací a speciace druhů. Mnoho blízkých příbuzných, ale odlišných druhů rodu *Russula* je však obtížné morfologicky rozlišit i pro odborníky (viz Bazzicalupo et al., 2017). Proto druhová identifikace založená na morfologii může poskytovat zavádějící informace o populačních strukturách. Je proto nutné použít jiné typy analýz, jako právě fylogenetiku a stromové sítě, které mohou napomoci s vymezením druhů a odvozením procesů na úrovni populací (Bergemann & Miller, 2002). Jak ukazují Li et al. (2010), analýza multilokusových sekvenčních dat pomohla definovat několik kryptických druhů v rámci *R. griseocarnosa*.

Teprve po identifikaci a rozřídění takových kryptických druhů lze přesně provádět další populačně genetické studie v rámci jednotlivých druhů.

### **6.2.3 Holubinky v tropických zónách**

Nové objevy jsou rovněž z tropických oblastí. Tropické lesy jsou tradičně považovány za ráj saprofágních organismů, ale mělo se za to, že jsou chudé na ektomykorhizní houby (Malloch et al., 1980). Nedávné výzkumy ektomykorhizních druhů hub v tropických zónách ukazují na hojný výskyt společenstev pod zemí (srov. Riviere et al., 2007; Phosri et al., 2012). Druhy čeledi *Russulaceae* jsou dnes skutečně považovány za jednu z nejdominantnějších skupin ektomykorhizních hub v tropech. V poslední době bylo z tropických oblastí zjištěno mnoho nových druhů holubinek, jak dále uvádí Riviere et al. (2007) či Phosri et al. (2012). Historicky bylo mnoho holubinek popsáno zejména z Evropy. Ale jak současné nálezy a výzkumy ukazují, tropické oblasti obsahují vysokou diverzitu druhů rodu *Russula*. Některá kritéria používaná k určování druhů v severní Evropě však nemusí být použitelná pro určování druhů v tropech. K vyřešení tohoto problému je zapotřebí molekulárně systematických studií vzorků nasbíraných z různých zeměpisných oblastí, aby bylo možné získat přesné informace o rozšíření druhů rodu holubinka. Navíc porovnáním populačních struktur nebo struktur společenstev mezi mírnými a tropickými oblastmi je nyní možné zkoumat diferenciaci druhů, adaptivní evoluci a původ druhů (Wang et al., 2015).

### **6.2.4 Perspektivy výzkumu podzemních životních cyklů**

Posledním z nových směrů v oblasti populační genetiky je studium podzemních plodnic. Dahlberg et al. (1997) uvedl, že výskyt plodnic se nepochybně projevuje přítomností hyf příslušného druhu v půdě. Nepřítomnost nadzemních plodnic však neznamená nepřítomnost populace podzemních hub. Během somatogamického pohlavního rozmnožování u bazidiomycetů dochází ke splynutí dvou monokaryotických buněk primárního mycelia a vytvoření dikaryotického sekundárního mycelia. Po vegetativním růstu a za příznivých podmínek prostředí mohou dikaryotická mycelia vytvářet plodnice. V tomto procesu je rozhodujícím faktorem rozmnožování kompatibilita mezi monokaryony (jde o houbové mycelium nebo hyfu, v níž každá buňka obsahuje jediné jádro). V případě monokaryotických buněk, i když patří ke stejnému druhu (taxonu)



a nacházejí se ve stejném společenstvu blízko sebe, může docházet k rozmnožování a vytváření plodných mycelií pouze tehdy, mají-li různé alely v lokusu (Billiard et al., 2011). Z toho důvodu sporokarpy odrážejí pouze ideální stav – úspěšnost v pohlavním splynutí hyf nebo existenci dikaryonů v prostředí. Z toho vyplývá, že výskyt plodnic je oportunistický a struktura populace, kterou odhalují nadzemní plodnice, pravděpodobně neodráží strukturu podzemního mycelia. Ačkoli dosud není známá žádná holubinka, která by tvořila pouze podzemní plodnice, Agerer (1990) prokázal malou podobnost mezi nadzemní a podzemní populací *Russula amoenolens* (holubinka nelibá). Analýzy však byly provedeny ze vzorků z kořenů konkrétních rostlin, nikoliv z půdy. Dnes by při řešení této problematiky mohla napomoci komplexní analýza půdy. Provedení PCR metody v reálném čase nebo metagenomická analýza by mohly porovnat hojnost různých ektomykorhizních hub v rhizosféře půdy a také prostorovou distribuci hyf patřících ke konkrétním skupinám organismů. Současné výzkumy se rovněž zaměřily na dikaryotické mycelium. Bylo objeveno, že dikaryotické hyfy *R. brevipes* (h. nízká) mohou udržovat dlouhodobé spojení s rostlinami (Bergemann & Miller, 2002). Jiné průzkumy provedené Groganem et al. (2000) ukázaly, že druhy rodu *Russula* mohou pomocí přežívajících hyf okamžitě vytvořit ektomykorhizu se semenáčky v požárem vypáleném lese. Tyto studie bohužel neposkytly čistou determinaci ploidie vznikajících ektomykorhiz. Autoři Costa et al. (2010) se domnívají, že monokaryotické hyfy by měly být schopny infikovat kořeny rostlin a vytvářet ektomykorhizy. Několik *in vitro* infekčních testů s použitím monokaryotických kmenů jejich hypotézu potvrdilo. Další výzkumy týkající se klíčení výtrusů, infekčních pokusů s monokaryotickými hyfami, pokusy o syntézu mykorhiz mezi monokaryotickými a dikaryotickými hyfami v přírodě, by do budoucna měly pomoci lépe pochopit detaily životních cyklů hub.

## 7 Nově nalezené druhy ve světě

V současnosti jsou stále popisovány nové druhy holubinek. V posledních letech přibývá nemalé množství druhů rodu *Russula* zejména v oblasti jižní a jihovýchodní Asie. Nové druhy, jež jsou popsány níže, byly vědecky uznány a publikovány v letech 2020, 2021 a 2022, jejich vědecký výzkum a sběr vzorků však trval několik let. Pro potřeby práce zde byly druhy popsány slovně, bez číselných rozměrů jednotlivých částí plodnic, podle makroskopických a vybraných mikroskopických znaků, jak jsou uvedeny v kapitolách 4 a 5.

Ghosh et al. (2020) popsali dva nové druhy *Russula lakhanpalii* sp. nov. a *R. indocatillus* sp. nov., které byly nasbírány v indickém Uttarakhand Himalaya. Kromě morfologického popisu se zabývali také molekulárním odhadem na základě nrITS a porovnáním s příbuznými taxony. První druh patří do podrodu *Heterophyllidia*, podsekke *Cyanoxanthinae*, zatímco druhý druh patří do podrodu *Heterophyllidia*, sekce *Ingratae*.

Zhou et al. (2020) popsali tři nové druhy *Russula* podrodu *Compactae* (Fr.) Bon z jižní Číny, na základě morfologických důkazů a fylogenetických analýz založených na ITS a sekvencích genů. Všechny tři druhy mají řídké a široké lupeny. *R. latolamellata* Y. Song & L. H. Qiu, sp. nov., se vyznačuje praskajícím, černohnědým kloboukem, šarlatově zbarvující se dužinou při poranění a absencí pileocystid a kaulocystid. *R. nigrocarpa* Y. Song & L. H. Qiu, sp. nov., se vyznačuje bělavými lupeny, malými sporami, hymeniálními cystidy a pileocystidy různých forem (často s vidličnatými vrcholy) a želatinózním pokožkou klobouku. *R. ochrobrunnea* S. Y. Zhou, Y. Song & L. H. Qiu, sp. nov., se vyznačuje praskajícím, šedohnědým kloboukem s pruhovaným okrajem, světle hnědými lupeny, jejichž okraje se v době zralosti mění na tmavohnědé, malými sporami a mírně ohnutými ormoniliformními hymeniálními cystidami. Autoři diskutovali jejich detailní morfologické znaky a fylogenetické postavení a porovnávali tak blízce příbuzné druhy.

## 7.1 *Russula ayubiana* z Pákistánu

Popis pátého nového druhu *Russula* podsekcce *Maculatinae* z Pákistánu ukazuje na lokální ohnisko rozmanitosti ektomykorhizních hub v jihozápadním Himálaji. Podsekcce *Maculatinae* je morfologicky a fylogeneticky dobře vymezená linie ektomykorhizních hub vázaných na arktická, boreální, mírná a středomořská stanoviště severní polokoule. Na základě fylogenetických vzdáleností mezi druhy se zdá, že se tato skupina diverzifikovala relativně nedávno. *R. ayubiana*, popsána níže, je pátou holubinkou v této skupině, známou z relativně malého území severního Pákistánu, z oblasti Kuzagali, ležící v jihozápadním Himálaji. Jedná se o nejvyšší známý počet příslušníků linie lupenatých hub z jedné oblasti na světě. Studie, kterou provedl Kiran s kolektivem (2021) využívá dostupné údaje o fylogenezi, ekologii a klimatu ke sledování fylogenetického původu a ekologických preferencí podsekcce *Maculatinae* v jihozápadním Himálaji. Výsledky naznačují, že tato oblast byla nedávno kolonizována těmito holubinkami, jež migrují z různých zeměpisných oblastí a přizpůsobují se místním podmínkám (Kiran et al. 2021).

### 7.1.1 *R. ayubiana* Kiran & Khalid sp. nov.

Etymologie odkazuje na národní park Ayubia, který sousedí s místem Kuzagali, kde byl holotyp sbírán. Klobouk je malý až středně velký, ploše klenutého až vmáčklého tvaru, jenž se ve stáří stává plochým. Okraj klobouku může být ohnutý, hladký nebo rýhovaný. Pokožka klobouku je hladká, vlhká či želatinizovaná (slizká) a lesklá; často na ní mohou být přichyceny částičky nečistot. Pokožka je směrem ke středu pruinózní (z latinského pruinosis = pokryta bílými práškovitými skvrnami či zrníčky, jako drobná jinovatka), na okraji hnědorůžová až červená, ve středu tmavě červená a někdy zbarvena do světle olivové. Lupeny jsou středně vzdálené, rovné nebo výjimečně vidličnaté u třeně; světle žluté barvy. Ke třeni široce připojené nebo emarginátní (z latinského emarginatus = mající zoubek nebo zářez na okraji před připojením ke třeni). Třeň je poněkud kyjovitý až válcovitý, podélně rýhovaný a pruinózní; bílý, s hnědožlutými skvrnami (zejména u báze). Dužina je bílá, kompaktní, při otláčení se zbarvující do žlutohněda. Pach a chuť nebyly pozorovány, stejně tak výtrusný prach. Výtrusy jsou široce elipsoidní, hodnota  $Q = 1,2$ . Jejich ornamentika je tvořena velkými, nápadnými, středně vzdálenými amyloidními bradavičkami nebo ostny. Ty jsou občasné srostlé a radiálně orientované v krátkých nebo

dlouhých řetízkách od suprahilární skvrny. Izolované ostny se objevují ojedinele. Suprahilární skvrna je velká, amyloidní, jemně bradavičnatá a s nepravidelnými radiálními amyloidními výběžky. Bazidie jsou široce klínovité, dvou až čtyřvýtrusé. Na jejich konci se nachází válcovitý až klínovitý výběžek. Hymeniální cystidy jsou tenkostěnné, široce rozptýlené; srostlé, klínovité nebo kopinaté; apikálně většinou ostré či s výběžkem. Pileocystidy při okraji klobouku jsou hojné, v malých svazečcích, vícebuněčné, válcovité nebo cylindrické, na koncích tupé, směrem k bázi nezřetelně zúžené. Primordiální hyfy chybí. Makrochemické reakce se sulfovanilinem na hymeniálních cystidách jsou pomalu červenohnědnoucí, na pileocystidách slabě šednoucí; pileipellis (pokožka klobouku) je metachromatická v kreslyové modři.

## **7.2 *Russula luofuensis* a *Russula subbubalina* z Číny**

Morfologický a fylogenetický důkaz dvou nových druhů *Russula* podrodu *Heterophyllidia* z čínské provincie Guangdong. Region se nachází v jižní pobřežní oblasti Číny, která je jednou z čínských provincií s tropickým a subtropickým podnebím. Průměrná roční teplota v provincii Guangdong je 19-24 °C a průměrný roční úhrn srážek 1500-2000 mm. Dostatek vláhy, mírné až vysoké teploty a pestrá fyziografie podporují bujný a velmi rozmanitý růst rostlin. Většinu území pokrývají širokolisté stálezelené lesy s příměsí jehličnatých a listnatých stromů. Během období dešťů v lesním ekosystému rostou plodnice většiny ektomykorhizních hub, mezi nimiž jsou velmi rozšířené i příslušníci rodu holubinka. V poslední letech bylo z provincie Guangdong hlášeno 16 nových druhů holubinek (Chen et al., 2021). Podle nedávných statistik o zdrojové diverzitě čínských hub se v Číně vyskytuje 78 jedlých druhů holubinek (Wu et al., 2019).

Druhy severní polokoule v rámci podrodu *Heterophyllidia* se vyznačují především středně velkými až velkými bazidiokarpy, rovnými lupeny, mírně až silně palčivou chutí. Charakteristický je bílý nebo smetanový (vzácně okrový) výtrusný prach a výtrusy s neamyloidní nebo částečně amyloidní suprahilární skvrnou. Většinou se u podr. *Heterophyllidia* hojně nacházejí gloeocystidy, které jsou typicky tupě zaoblené, a je pro něj běžná absence primordiálních hyf. Při průzkumu stanovištní diverzity a geografického rozšíření rodu *Russula* v provincii Guangdong byly mimo jiné nalezeny i některé exempláře podrodu *Heterofyllidia*, které se od ostatních známých druhů lišily.

Chen et al. (2021) uvádí, že z hlediska morfologických znaků a molekulárních dat patří první níže popsany druh do podsekcce *Virescentinae*, zatímco druhý druh spadá do podsekcce *Heterophyllinae*.

### 7.2.1 *R. luofuensis* B. Chen & J. F. Liang sp. nov.

Etymologie názvu druhu odkazuje na typ lokality, a to přírodní rezervaci Luofu Mountain Provincial Nature Reserve. Plodnice je středně velká až velká, klobouk je v mládí polokulovitý, v dospělosti pak plochý až klenutý (může být i ve středu prohloubený). Okraj klobouku je vroubkovaný a nepopraskaný, pruhovaný je pouze nenápadně. Pokožka klobouku je suchá, lysá, slupitelná do  $\frac{1}{2}$  poloměru klobouku. Je popraskaná a rozpadající se na malé zlatohnědé skvrny, jež jsou shluklé směrem ke středu, zatímco směrem k okraji jsou menší a rozptýlenější. Barva je uprostřed šedožlutá až hnědooranžová, směrem k okraji purpurově šedá. Lupeny jsou ke třeni široce připojené až odsedlé; bílé až smetanové barvy, příležitostně vidličnaté. Třeň je válcovitý, směrem k bázi mírně nadmutý; bílý, u báze se žlutým nádechem; ve stáří se může stát dutým. Dužina je bílá, při otláčení neměnná. Pach je nevýrazný, chuť jemná. Výtrusný prach světle žlutý (IVa). Výtrusy jsou polokulovité až široce elipsoidní, hodnota  $Q = 1,08$ . Ornamentika je tvořena středně velkými, mírně až hustě vzdálenými amyloidními bradavkami nebo ostny, jež jsou lokálně síťovité, často srostlé v krátké nebo dlouhé řetízky. Suprahilární skvrna je středně velká, amyloidní. Bazidie bývají většinou čtyřvýtrusé, někdy i dvou nebo třívýtrusé; klínovitého tvaru. Hymeniální cystidy jsou na stranách lupenů rozptýlené a středně četné; klínovité nebo úzce klínovité a na konci převážně tupé, výjimečně špičaté; často s dlouhým přívěškem. Bývají granulózní a tenkostěnné. Hymeniální cystidy jsou na ostří lupenů často menší, klínovité nebo cylindrické, někdy srostlé a na konci většinou tupé, ojedinele špičaté. Pileocystidy jsou při okraji i ve středu klobouku vždy jednobuněčné, převážně klínovité, příležitostně cylindrické nebo srostlé, na konci obvykle tupé a příležitostně ostré; často s kulatým nebo elipsoidním dlouhým přívěškem. Vyskytují se i oleiferní hyfy. Primordiální hyfy chybí. Makrochemické reakce hymeniálních cystid i pileocystid se sulfovanilinem jsou červenočernající, pileipellis ortochromní v kresylové modři.

### 7.2.2 *R. subbubalina* B. Chen & J. F. Liang sp. nov.

Etymologie odkazuje na morfológickou podobnost s *Russula bubalina*. Plodnice je středně velká až velká. Klobouk je zprvu polokulovitý, později v dospělosti plochý či klenutý. Okraj klobouku je vmáčklý, ve stáří popraskaný, pruhování krátké a nenápadné; povrch suchý, lysý, slupitelný do ¼ poloměru, v některých částech pruinózní. Pokožka klobouku v mládí tmavě lososová s rezavými skvrnami, po dozrání zbarvená jako oloupané mandle. Lupeny jsou ke třeni široce přirostlé až mírně připojené, bílé až smetanové barvy; někdy nepravidelně dlouhé. Mohou být větvené, zejména u třeně. Třeň je válcovitý, u báze mírně rozšířený; bílý až okrový, směrem k bázi s rezavým nádechem. Ve stáří může být dutý. Dužina je bílá, při otláčení neměnná. Pach je nevýrazný, chuť mírná. Výtrusný prach bílý až smetanový (I – II). Výtrusy jsou kulovité až široce elipsoidní, hodnota  $Q = 1,17$ . Ornametika je tvořena poměrně malými, středně až hustě vzdálenými amyloidními bradavkami nebo ostny. Ty jsou lokálně síťovité, srostlé v krátké nebo dlouhé řetízky. Suprahilární skvrna je středně velká, amyloidní. Bazidie jsou většinou čtyřvýtrusé, mohou však být dvou i třívýtrusé, tvarem jsou klínovité. Hymeniální cystidy jsou klínovité nebo srostlé, na konci převážně tupé, občas ostré, někdy s dlouhým přívěskem. Bývají granulózní a tenkostěnné. Pileocystidy jsou cylindrické nebo klínovité, na konci tupé. Oleiferní hyfy mají žlutavý obsah. Primordiální hyfy chybí. Makrochemické reakce hymeniálních cystid se sulfovanilinem jsou červenočernající, pileocystidy červené; pileipellis ortochromní v kresylové modři.

### 7.3 *Russula cornicolor*, *Russula cynorhodon*, *Russula oreomunneae* a *Russula zephyrovelutipes* ze západní Panamy.

Čtyři nové druhy *Russula* podsekcce *Roseinae* z tropických horských lesů v západní Panamě byly popsány na základě multilokusové fylogeneze, provedené na materiálu z 22 sběrů. Žádný z těchto čtyř druhů není sesterským druhem a jsou příbuzné severoamerickým nebo asijským druhům. Dva z nově popsaných druhů byly vázány na ektomykorhizní dřeviny druhu *Oreomunnea mexicana* (rod *Oreomunnea* je z čeledi *Juglandaceae* – ořešákovité), zatímco zbylé dva druhy byly vázány na druhy rodu *Quercus* (dub). Všechny čtyři druhy jsou dosud známy pouze z hor v západní Panamě (Manz et al., 2021).

### 7.3.1 *R. cornicolor* Manz & F. Hampe, sp. nov.

Etymologie názvu odkazuje na barvu klobouku a třeně, která je podobná barvě plodů dřínu obecného (*Cornus mas* L.). Klobouk je malý až středně velký, v mládí vyklenutý s vroubkovaným okrajem, ve stáří se stává rovným nebo uprostřed prohloubeným, téměř nálevkovitým. Pokožka klobouku je suchá, hladká až slabě drsná, směrem k okraji jemně areolátní (popraskaná, dvůrkatá), ve středu drobně pruinózní, slupitelná do  $\frac{1}{2}$  poloměru klobouku; někdy bývá želatinizovaná. Barevně se vyskytuje velká variace různých odstínů červené. Lupeny jsou tenké, středně vzdálené, přibližně jich připadá 9 na 1 cm u okraje klobouku. Ke třeni jsou lupeny připojené polovolně nebo jsou přirostlé, zbarvené do bíla až světle smetanova. Třeň je válcovitý, někdy ohnutý, směrem k bázi mírně rozšířený. U báze zbarven do červena, směrem ke klobouku od poloviny do běla. Tělo třeně je vatovité, ve stáří duté. Dužina holubinky je bílá, křehká, v mládí pevná a při poranění neměnná. Pach nevýrazný nebo příjemný, chuť je jemná. Výtrusy jsou široce elipsoidní, hodnota  $Q = 1,17$ ; ornamentika je tvořena velkými, středně vzdálenými, amyloidními ostny. Ty jsou převážně izolované, někdy spojené jemnými čarami. Suprahilární skvrna je středně velká a amyloidní. Bazidie jsou široce kyjovité, čtyřvýtrusé. Hymeniální cystidy jsou klínovité, v apikální části mírně zúžené. Primordiální hyfy s hojnými kyselinovzdornými inkrustacemi jsou dlouhé a štíhlé, někdy ohnuté a tenkostěnné. Makrochemické reakce s guajakem jsou po 5 sekundách negativní na třeni i lupenech, s  $\text{FeSO}_4$  téměř negativní (slabě oranžová), se sulfovanilin eosinově červená.

### 7.3.2 *R. cynorhodon* Manz & F. Hampe, sp. nov.

Etymologie odvozena z řeckého slova pro šípky (*Rosa canina* L., řecky kynórodo) a odkazuje na barvu klobouku mladých plodnic. Klobouk je malý až středně velký, v mládí polokulovitý nebo vypouklý, uprostřed prohloubený nebo téměř nálevkovitý. Pokožka klobouku je suchá, hladká, matná a sametová, slupitelná sotva do  $\frac{1}{4}$  poloměru klobouku. Barva je při okrajích narůžovělá, postupně červenající, střed je zbarven od světle po sytě červenou. Mohou se vyskytnout malé žluté skvrnky. Lupeny jsou tenké, středně husté, volně připojené ke třeni, u nějž mohou být občasné vidličnaté. Třeň je kyjovitý, zužující se k vrcholu (vzácně i směrem k bázi). U báze může být zbarven do pastelově červena, jinak je bílý. Dužina je bílá, křehká, při poranění neměnná. Pach je nevýrazný, chuť nejprve

mírná, pak mírně pikantní. Barva výtrusného prachu je bílá (Ia) až světle smetanová (IIb). Výtrusy jsou kulovitého až oválného tvaru, hodnota  $Q = 1,17$ . Ornamentika je tvořena izolovanými nebo sdruženými amyloidními ostny, jež jsou spojeny krátkými hřebínky. Suprahilární skvrna je středně velká, amyloidní a někdy mírně sestupující na apikulus (hilární přívěšek). Bazidie jsou pevné, kyjovité, čtyřvýtrusé. Hymeniální cystidy jsou klínovité, vzácně mohou být srostlé, na konci bývají tupé, výjimečně špičaté. Cystidy na okrajích lupenů jsou četné. Primordiální hyfy jsou hojně kyselinovzdorně inkrustované, válcovité. Olejovité hyfy jsou velmi rozptýlené v dužině. Makrochemické reakce s guajakem jsou po 5 sekundách negativní na třeni, ale pozitivní na lupenech, s  $\text{FeSO}_4$  slabě lososově oranžová, se sulfovanilinem eosinově červená.

### **7.3.3 *R. oreomunneae* Manz, F. Hampe & Corrales, sp. nov.**

Etymologie odkazuje na ektomykorhizní spojení s ořešákovitým stromem *Oreomunnea mexicana*. Klobouk je malý až středně velký, mírně zaoblený s širokou prohlubní uprostřed; okraj klobouku je výrazně rýhovaný. Pokožka klobouku je suchá, hladká, matná, jemně velutinózní (z latinského velutinus = pokryta jemnými chloupky, jako samet) a na okrajích mírně areolátní; sotva slupitelná do  $\frac{1}{4}$  poloměru. Na okrajích světle červená, směrem ke středu jasně červená až červenohnědá. Lupeny jsou široké i tenké, středně vzdálené, volně až úzce přirostlé ke třeni; barvou bílé až světle smetanové, na okraji klobouku mohou být červené. Třeň je válcovitý, suchý, hladký až slabě drsný; většinou pastelově červený nebo matně červený na bílém podkladě, méně často bílý jen s načervenalým nádechem. Dužina je bílá, křehká, při poškození neměnná. Zápach je nevýrazný, chuť mírná. Výtrusy jsou kulovitého až oválného tvaru, hodnota  $Q = 1,18$ . Ornamentika je tvořena středně velkými, hustými až velmi hustými amyloidními ostny. Ty jsou vysoké, seskupené v párech nebo krátkých řetízcích, často tvořící hřebeny nebo křídla. Suprahilární skvrna je středně velká, amyloidní. Bazidie jsou velké, kyjovité nebo hruškovité, čtyřvýtrusé. Hymeniální cystidy bývají válcovité nebo sbíhavé, zřídka klínovité, na vrchu tupé nebo špičaté; mohou vyčnívat nad bazidiami. Cystidy jsou na okraji lupenů četné, menší a užší; někdy mohou být sekundárně přehrádkované. Primordiální hyfy jsou s hojnými kyselinovzdornými inkrustacemi, pokroucené, při okraji klobouku větvené, někdy zúžené; mají olejnatý obsah. Oleiferní hyfy jsou velmi rozptýlené



v dužině. Makrochemické reakce jsou na guajak po 5 sekundách negativní na třeni, ale pozitivní na lupenech, FeSO<sub>4</sub> oranžový, sulfovanilin eosinově červený.

#### **7.3.4 *R. zephyrovelutipes* Manz & F. Hampe, sp. nov.**

Etymologie odkazuje na makromorfologickou podobnost s holubinkou jitřenkovou (*Russula velutipes*), ale se západním rozšířením; zéfyros je západní vítr (z řecké mytologie). Klobouk je malý až středně velký, v mládí polokulovitý nebo vypouklý, uprostřed se stává rovným a prohloubeným; okraj zprvu rovný, ve stáří se stává rýhovaným. Pokožka klobouku je suchá, hladká a matná, slupitelná do ¼-½ poloměru klobouku. Při okraji oranžovobílá až do červena, ve středu červenorůžová. Lupeny jsou široké i tenké, středně vzdálené, volně připojené ke třeni; zejména u něj příležitostně vidličnatě větvené. Jsou bílé až žlutobílé barvy. Třeň je většinou kyjovitý a směrem k vrcholu se zužující, zřídka válcovitý, bílý, někdy se světle pastelově červeným nádechem. Dužina je bílá, křehká. Zápach je nevýrazný, chuť jemná, po chvíli mírně nahořklá. Výtrusy jsou kulovitého až oválného tvaru, hodnota Q = 1,18. Ornamentika je tvořena středně velkými, hustými amyloidními bradavičkami, jež jsou často srostlé do rozvětvených krátkých nebo dlouhých hřebenů. Suprahilární skvrna je středně velká, amyloidní. Bazidie jsou klínovité nebo hruškovité, na konci válcovité nebo úzce kyjovité. Hymeniální cystidy bývají vřetenovité nebo cylindrické, na konci většinou ostré s dlouhým přívěškem, jež vyčnívá nad bazidiemi. Na okrajích lupenů jsou cystidy užší a válcovité, někdy přehrádkované. Primordiální hyfy bývají s hojnými kyselinovzdornými inkrustacemi, někdy mírně sinusoidní a tenkostěnné. Olejovitý obsah hyf je obvykle patrný pouze v terminálních buňkách. Makrochemické reakce s guajakem jsou po 5 sekundách negativní na třeni, ale pozitivní na lupenech, FeSO<sub>4</sub> variabilní, oranžová až lososově oranžová (v jednom sběru však negativní), sulfovanilin eosinově červená.

#### **7.4 *Russula straminella*, *Russula subpectinatoides* a *Russula succinea* z jižní Číny**

Tři nové druhy rodu *Russula* v sekci *Ingratae* (Russulales, Basidiomycota) nalezené v provinciích Guizhou a Jiangsu v jižní Číně. Sekce *Ingratae* se vyznačuje žlutohnědým, okrovým, popelavě šedým až tmavě hnědým zbarvením klobouku s rýhovaným okrajem. Dále ostrými, pravidelnými lupeny a dužinou mající páchnoucí, spermatický, mandlový

nebo voskovitý odér. Výtrusy mívají z části neamyloidní suprahilární skvrnu (v reakci na Melzerovo činidlo). Pileocystidy v klobouku jsou jednobuněčné, konce hyf v pokožce klobouku rozvětvené. Kombinace těchto znaků činí ze sekce *Ingratae* jednu z nejsnáze rozlišitelných skupin v podrodu holubinek *Heterophyllidiae* (Li et al., 2021). V porovnání s Evropou se podrobné analýzy *Russula* sekce *Ingratae* v Asii začaly poměrně pozdě (Romagnesi, 1985; Sarnari, 1998; citováno podle Li et al., 2021). V jižní Číně bylo dříve několik druhů na základě morfologických znaků chybně určováno evropskými nebo severoamerickými jmény. V posledních dvou desetiletích došlo k rychlému pokroku moderních fylogenetických metod, jejichž výsledkem je 15 nových asijských druhů holubinek ve skupině *Ingratae*. Avis (2012) upozorňuje, že fylogenetické analýzy rDNA ITS u *R.* sekce *Ingratae* na severní polokouli ukázaly četné neznámé taxony a neustálé chybné určování druhů této skupiny.

Důležitost přesné identifikace holubinek v sekci *Ingratae* vyplývá také z jejich ekonomické hodnoty, neboť několik druhů se běžně prodává jako jedlé houby na trzích v jižní Číně pod místním názvem „You-la-gu“ (= mastná, štiplavá houba). Několik druhů z *Ingratae* mohou způsobovat gastrointestinální potíže, pokud nejsou řádně předvařeny. V posledních letech bylo provedeno několik terénních výzkumů v areálech a v parcích, přírodních rezervacích a na trzích s lesními houbami v jihozápadní Číně s cílem odhalit druhovou rozmanitost sekce *Ingratae* v tomto regionu. Na základě morfologických a molekulárně fylogenetických důkazů byla objevena řada nových taxonů rodu *Russula*. Mezi nimi byly i následující holubinky (Li et al., 2021).

#### **7.4.1 *R. straminella* G. J. Li & C. Y. Deng sp. nov.**

Etymologie odkazuje na žlutavě zbarvený klobouk. Klobouk je malý až středně velký, plochý až klenutý. Pokožka je želatinizovaná, zbarvena od žluté či žlutohnědé až po tmavě hnědou, slupitelná do  $\frac{1}{5}$ - $\frac{1}{4}$  poloměru klobouku. Lupeny jsou křehké, v mládí bílé, v dospělosti okrové až žlutavé; ke třeni jsou široce přirostlé, u okraje klobouku i třeně občasné vidličnaté. Třeň je středně dlouhý, válcovitý, směrem k bázi mírně zúžený, zprvu hladký, později mírně podélně rýhovaný; běžně bílý, při otláčení se mírně zbarví do žlutohněda; v dospělosti může být dutý. Dužina je bílá, po poranění může být okrová a žlutavá až mírně hnědavá. Zápach je nevýrazný, chuť mírná až mírně palčivá. Výtrusný

prach je sytě smetanové barvy (IIc – II d). Výtrusy jsou kulovitě až široce oválného tvaru, hodnota  $Q = 1,15$ . Ornamentika je tvořena amyloidními bradivčnatými až kuželovitými výběžky, částečně síťovitě spojenými. Suprahilární skvrna je neamyloidní. Bazidie jsou kyjovité až klínovité, čtyřvýtrusé. Hymeniální cystidy jsou vzácné, klínovité až téměř vřetenovité. Pileocystidy bývají jednobuněčné, hojné, ve středu klobouku ve svazečcích; kopinatého až šídlovitého tvaru. U hyfů kyselinovzdorné inkrustace chybí. Makrochemické reakce se sulfovanilinem jsou světle šedé u hymeniálních cystid, černošedá u pileocystid; žlutá u bazidie s KOH.

#### **7.4.2 *R. suspectinatosides* G. J. Li & Q. B. Sun sp. nov.**

Etymologie vychází z morfologické podobnosti s h. hřebínkatou (*R. pectinatosides*). Klobouk je středně velký, zpočátku polokulovitý, uprostřed konkávní, ve stáří často nad třeněm vmáčklý či zvlněný. Pokožka klobouku je želatinizovaná, slupitelná do  $\frac{1}{5}$ - $\frac{1}{3}$  poloměru; v mládí nebo za vlhka šedohnědě či hnědožlutě zbarvená, jinak hnědá až olivově hnědá. Lupeny bývají někdy u třeně a okraje klobouku vidličnaté, v mládí bělavé, později smetanově zbarvené, při otlačení se může objevit červenohnědý nádech; ke třeni široce připojené. Třeň je v mládí hladký, ve stáří drsnější; běžně bílý, při otlačení medově žlutý až olivově okrový, ve stáří kaštanově hnědý. Dužina je v mládí bílá, neměnná nebo při poranění přechází do světle okrového odstínu či skořicově hnědé. Holubinka je bez výrazné vůně, chuť mírně až středně palčivá. Výtrusný prach je sytě smetanové barvy (IIc – II d). Výtrusy bývají většinou kulovité, někdy oválné či široce oválné; hodnota  $Q = 1,19$ . Ornamentika je amyloidní, složena z dlouhých hřebínků, které tvoří neúplnou nebo úplnou síťku, vzácně jsou vmíseny ojedinělé kuželovité bradavky s krátkými hřebínky. Suprahilární skvrna je neamyloidní a nezřetelná. Bazidie jsou cylindrické, vzácněji klínovité, uprostřed nebo na konci rozšířené; čtyřvýtrusé. Hymeniální cystidy bývají řídce rozmístěné, vřetenovité, či polokyjovité, na konci zúžené, výjimečně tupé. Pileocystidy jsou dlouhé, válcovité, neseptované. Kyselinovzdorné inkrustace hyf chybějí. Makrochemické reakce cystid na sulfovanilin jsou šedé.

#### **7.4.3 *R. succinea* G. J. Li & C. Y. Deng sp. nov.**

Etymologie odkazuje na světle hnědě zbarvený klobouk. Klobouk je spíše menší, zprvu polokulovitě, pak ploskovypuklého tvaru, v dospělosti plochý, někdy mírně vmáčklý.

Pokožka je želatinizovaná, slupitelná do  $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{2}$  poloměru klobouku; barva žlutohnědá nebo světle hnědá, někdy je patrná šedožlutá žilnatina. Okraje klobouku bývají ostré, mohou být mírně rozštěpené či rýhované a zbarvené do odstínů žluté. Lupeny jsou křehké, často vidličnatě větvené, ve velikosti střídavé. Barvou jsou světlé, bílé až krémové; ke tření široce připojené. Třeň bývá mírně mimo střed, směrem k bázi často zúžený, vzácně mírně zakřivený; v mládí hladký, ve stáří podélně drsný, suchý; zpočátku pevný, ve stáří dutý. Je krémové barvy, při otlačení se barví do súdánské hnědé až oranžovožluté. Dužina je bílá, křehká, při poranění neměnná. Pach bývá nevýrazný, chuť zprvu mírně palčivá, v dospělosti jemná. Barva výtrusného prachu je sytě až tmavě smetanová (IIc – IIId). Výtrusy jsou kulovité až široce elipsoidní, hodnota  $Q = 1,17$ . Ornamentika je tvořena amyloidními téměř cylindrickými nebo bradavičnatými výběžky, jež jsou spojeny kratšími či delšími hřebeny a hřebínky; vzácně smíšené s izolovanými bradavkami. Suprahilární skvrna je zřetelná, ale neamyloidní. Bazidie bývají většinou čtyřvýtrusé, klínovité až cylindrické, sterigmata na nich mohou být od přímých po klikatá. Hymeniální cystidy bývají středně četné, válcovité, tenkostěnné a podlouhlé, vrchol tupý. Pileocystidy jsou hojné, dlouhé, válcovité, často septované, vrchol tupý. Kyselinovzdorná inkrustace hyf chybí. Makrochemické reakce cystid na sulfovanilin jsou černošedé.

## **7.5 *Russula bellissima* a *Russula luteonana* z Thajska**

Dva nové druhy *Russula* ze suchého dvojkřídláčového lesa v Thajsku, naznačují specializaci houby na tento typ stanoviště. Wisitrassameewong et al. (2022) popsal dva nové druhy holubinek: *R. bellissima* a *R. luteonana* za použití multilokusové fylogenetické analýzy. Cílem této studie bylo identifikovat sběry holubinek podsekcce *Amoeninae* (Buyck) ze suchých dvojkřídláčových lesů v Thajsku. Dvojkřídláče (*Dipterocarpus*) zde tvoří typické habitaty a zástupci čeledi *Russulaceae* jsou známí jako běžní ektomykorhizní symbionti těchto stromů. Na základě nejbližších identifikovaných příbuzných obou druhů se ukázalo, že mohou patřit k liniím adaptovaným na sucho. Analýza veřejně dostupných ITS (vnitřní transkribovaný spacer) sekvencí u podsekcce *Amoeninae* nepotvrdila důkazy o výskytu žádného z nových druhů v jiných asijských oblastech, což naznačuje, že suché dvojkřídláčové lesy mohou být útočištěm nových společenstev ektomykorhizních hub. Makromorfologické znaky jsou variabilní a nejsou zcela spolehlivé pro odlišení nových

druhů od ostatních, dříve popsáných asijských druhů *Amoeninae*. Oba nové druhy jsou definovány kombinací diferencovaných mikromorfologických znaků v oranementice spor, hymeniálních cystid a zakončení hyf v pokožce klobouku. Nové druhy z podsekcce *Amoeninae* mohou odpovídat některým druhům holubinek, jež jsou v Thajsku sbírány ke konzumaci. Podrobný popis nových druhů může být využit pro lepší identifikaci jedlých druhů a bezpečnost potravin v regionu.

Cílem této studie bylo odhadnout diverzitu podsekcce *Amoeninae* v suchých dvoukřídláčových lesích severního a severovýchodního Thajska na základě nedávno nasbíraného materiálu. Tato podsekcce je zařazena do sekce *Heterophyllae* a morfologicky se vyznačuje výtrusy se subretikulární nebo retikulární ornamentikou, absencí určitých cystid v hymeniu a pokožce klobouku, a dále přítomností jehlicovitých hyfových zakončení jak v pokožce klobouku (*pileipellu*), tak na okrajích lupenů. Podsekcce *Amoeninae* je dobře definovaná fylogenetická linie a na základě dostupných dat o sekvencích ITS zahrnuje nejméně 30 druhů na celém světě, z nichž osm je asijských a pět bylo formálně popsáno (Wisitrassameewong et al., 2022).

#### **7.5.1 *R. bellissima* Manz & F. Hampe sp. nov.**

Etymologie názvu: "*bellus*" pochází z latinského krásný, hezký, půvabný; "*bellissima*" tedy znamená nejkrásnější. Podobá se druhu *Russula bella*, který rovněž patří do podsekcce *Amoeninae*. Klobouk je malý až středně velký. Pokožka klobouku je špatně slupitelná, suchá, hladká, matná, pruinózní a červené barvy. Lupeny jsou tenké a středně husté. Třeň je válcovitý; bílý nebo s červeným lemem. Dužina je bílá, křehká. Pach bývá nezatelný a chuť mírná. Výtrusný prach nebyl pozorován. Výtrusy mají hodnotu  $Q = 1,1$ . Jejich ornamentika je tvořena středně vzdálenými až hustými amyloidními ostny nebo bradavkami, často srostlými v krátké hřebeny nebo dokonce dlouhá křídla. Suprahilární skvrna je neamyloidní. Hymeniální cystidy, pileocystidy a primordiální hyfy chybí. Makrochemické reakce s guajakem jsou po 5 sekundách negativní na povrchu třeně i lupenů, reakce na  $FeSO_4$  a sulfovanilin negativní.

#### **7.5.2 *R. luteonana* M. Pobkwamsuk & K. Wisitrassameewong sp. nov.**

Etymologie názvu: "*luteolus*" = žlutá barva, "*nanus*" = malý. Vztahuje se na barvu a velikost klobouku druhu. Klobouk je malý, uprostřed prohloubený. Pokožka je suchá

a slupitelná do  $\frac{1}{2}$  poloměru klobouku; obvykle žluté barvy. Lupeny jsou středně husté, rozvětvené u třeně, bělavé až smetanové barvy. Třeň je válcovitý, u báze zúžený, hnědnoucí při otlačení. Dužina je měkká, pevná a neměnná. Pach silný po rybě, chuť jemná. Výtrusný prach nebyl pozorován. Výtrusy mají hodnotu  $Q = 1,15$ . Mají tupou a mírně rozptýlenou ornamentiku a neamyloidní suprahilární skvrnu. Hymeniální cystidy jsou po stranách lupenů velké, okraje lupenů s kombinací jehlicovitých, kyjovitých a hruškovitých buněk. Makrochemické reakce hymeniálních cystid jsou na sulfovanilin negativní, pileipellis ortochromní v kresylové modři.

## 8 Diskuse a závěr

Rod holubinka (*Russula*) představuje velmi početnou a fylogeneticky významnou skupinu stopkovýtrusných hub. Lze říci, že zástupci tohoto rodu jsou rozšířeny téměř po celém světě. Jejich počet se díky novým poznatkům na poli vědy neustále zvyšuje. Každým rokem jsou nacházeny a následně pro vědu popisovány nové druhy. Tyto recentní objevy jsou situovány z velké části především do oblasti jihovýchodní Asie, a to z Číny, Thajska, Korei, atd. Ilustrací toho faktu je, že jen za poslední 3 roky (2020 – 2022) bylo popsáno nejméně 17 nových druhů z této oblasti. Jako důvod soustředování recentních nálezů na tyto asijské lokality se jeví fakt, že podrobný výzkum holubinek za poslední bezmála čtyři století probíhal téměř výhradně v Evropě. Teprve v posledních dekádách se výzkum rozšířil po celém světě. Cenné údaje o holubinkách přinesl rovněž soustředěný zájem o ekologii houbových ektomykorhiz, a to z hlediska genotypové diverzity ekologických variant holubinek a jejich populačních struktur.

Ke stále novým nálezům významně přispívá také současný intenzivní pokrok na genetické úrovni. Díky genetickému sekvenování DNA mohou být determinovány druhy, které byly vědci dosud považovány za tentýž druh. Ještě v nedávné minulosti byly druhy určovány pouze na základě nepatrných morfologických odlišností, které samotné nestačí k uznání nových taxonů ani na úrovni variet. Molekulárně fylogenetické studie by tak tyto nejasnosti mezi vědci mohly pomoci objasnit. S tímto se rovněž neoddelitelně pojí taxonomie, která byla a je neustále v progresivní fázi. V důsledku genetických výzkumů se mohou podrody, sekce i podsekce s každým dalším uznaným druhem více či méně změnit. Vždyť i v minulosti několikrát docházelo k reklasifikaci v rámci čeledi holubinkovité (*Russulaceae*) a dokonce i řádu holubinkotvaré (*Russulales*).

Někteří vědci toto „tříštění“ druhů rodu *Russula* na nové druhy kritizují. Je však možné, že tento trend časem ustane. Budoucí výzkumy by se mohly zaměřovat na možnou vyšší variabilitu v rámci těchto nově vznikajících taxonů. Některé druhy by se tak zase mohly začít i slučovat, nebo bude odhalována synonymika dosud uznávaných druhů.

## Seznam použitých informačních zdrojů

- Adamčík, S., Looney, B., Caboň, M., Jančovičová, S., Adamčíková, K., Avis, P. G., ... & Buyck, B. (2019). The quest for a globally comprehensible *Russula* language. *Fungal Diversity*, 99(1), 369-449. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00437-2>
- Agerer, R. (1990). Gibt es eine Korrelation zwischen Anzahl der Ektomykorrhizen und Häufigkeit ihrer Fruchtkörper?. *Zeitschrift für Mykologie*, 56, 155-158.
- Amend, A., Keeley, S., & Garbelotto, M. (2009). Forest age correlates with fine-scale spatial structure of Matsutake mycorrhizas. *Mycological research*, 113(5), 541–551. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.01.005>
- Avis P. G. (2012). Ectomycorrhizal iconoclasts: the ITS rDNA diversity and nitrophilic tendencies of fetid *Russula*. *Mycologia*, 104(5), 998–1007. <https://doi.org/10.3852/11-399>
- Bazzicalupo, A. L., Buyck, B., Saar, I., Vauras, J., Carmean, D., & Berbee, M. L. (2017). Troubles with mycorrhizal mushroom identification where morphological differentiation lags behind barcode sequence divergence. *Taxon*, 66(4), 791-810.
- Bergemann, S. E., & Miller, S. L. (2002). Size, distribution, and persistence of genets in local populations of the late-stage ectomycorrhizal basidiomycete, *Russula brevipes*. *New Phytologist*, 156(2), 313-320. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00507.x>
- Bergemann, S. E., Douhan, G. W., Garbelotto, M., & Miller, S. L. (2006). No evidence of population structure across three isolated subpopulations of *Russula brevipes* in an oak/pine woodland. *The New phytologist*, 170(1), 177–184. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01654.x>
- Billiard, S., López-Villavicencio, M., Devier, B., Hood, M. E., Fairhead, C., & Giraud, T. (2011). Having sex, yes, but with whom? Inferences from fungi on the evolution of anisogamy and mating types. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 86(2), 421–442. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00153.x>



- Buyck, B., Hofstetter, V., Eberhardt, U., Verbeken, A., & Kauff, F. (2008). Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. *Ochricompactae*. *Fungal Diversity*, 28, 15-40. Dostupné z: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.473.9958&rep=rep1&type=pdf>
- Buyck, B., & Atri, N. S. (2011). A *Russula* (Basidiomycota, Russulales) with an unprecedented hymenophore configuration from northwest Himalaya (India). *Cryptogamie, Mycologie*, 32(2), 185-190. <https://doi.org/10.7872/crym.v32.iss2.2011.185>
- Buyck, B., Zoller, S., & Hofstetter, V. (2018). Walking the thin line... ten years later: the dilemma of above-versus below-ground features to support phylogenies in the Russulaceae (Basidiomycota). *Fungal Diversity*, 89(1), 267-292. <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0397-5>
- Buyck, B., Wang, X. H., Adamcikova, K., Cabon, M., Jancovicova, S., Hofstetter, V., & Adamcik, S. (2020). One step closer to unravelling the origin of *Russula*: subgenus *Glutinosae* subg. nov. *mycosphere*, 11(1), 285-305. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/6>
- Cao, Y., Zhang, Y., Yu, Z., Mi, F., Liu, C., Tang, X., Long, Y., He, X., Wang, P., & Xu, J. (2013). Structure, gene flow, and recombination among geographic populations of a *Russula virescens* ally from Southwestern China. *PloS one*, 8(9), e73174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073174>
- Characteristics of the russuloid fungi. (2010). *Russulales news*. [online] Dostupné z: [https://www2.muse.it/russulales-news/in\\_characteristics.asp](https://www2.muse.it/russulales-news/in_characteristics.asp) [cit. 2022-02-15]
- Chen, B., Song, J., Chen, Y., Zhang, J., & Liang, J. (2021). Morphological and phylogenetic evidence for two new species of *Russula* subg. *Heterophyllidia* from Guangdong Province of China. *MycKeys*, 82, 139–157. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.82.64913>
- Costa, M. D., Campos, A. N. D. R., Santos, M. L., & Borges, A. C. (2010). In vitro ectomycorrhiza formation by monokaryotic and dikaryotic isolates of *Pisolithus*

- microcarpus in *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvores*, 34(3), 377-387.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-67622010000300001>
- Dahlberg, A., Jonsson, L., & Nylund, J. E. (1997). Species diversity and distribution of biomass above and below ground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Canadian Journal of Botany*, 75(8), 1323-1335.  
<https://doi.org/10.1139/b97-844>
- Galante, T. E., Horton, T. R., & Swaney, D. P. (2011). 95% of basidiospores fall within 1 m of the cap: a field-and modeling-based study. *Mycologia*, 103(6), 1175–1183.  
<https://doi.org/10.3852/10-388>
- Geml, J., Laursen, G. A., Herriott, I. C., McFarland, J. M., Booth, M. G., Lennon, N., Chad Nusbaum, H., & Lee Taylor, D. (2010). Phylogenetic and ecological analyses of soil and sporocarp DNA sequences reveal high diversity and strong habitat partitioning in the boreal ectomycorrhizal genus *Russula* (Russulales; Basidiomycota). *The New phytologist*, 187(2), 494–507. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03283.x>
- Ghosh, A., Das, K., Bhatt, R. P., & Hembrom, M. E. (2020). Two new species of the genus *Russula* from western Himalaya with morphological details and phylogenetic estimations. *Nova Hedwigia*, 115-130.  
[https://doi.org/10.1127/nova\\_hedwigia/2020/0588](https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2020/0588)
- Grogan, P., Baar, J., & Bruns, T. D. (2000). Below-ground ectomycorrhizal community structure in a recently burned bishop pine forest. *Journal of Ecology*, 88(6), 1051-1062.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00511.x>
- Gryndler, M. (2004). *Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin*. Praha: Academia.
- Holec, J., Antonín, V., & Beran, M. (Eds.). (2006). *Červený seznam hub (makromycetů) České republiky: Red list of fungi (macromycetes) of the Czech Republic*. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky.
- Informace o metodách používaných v laboratoři. (2021). *Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy; Katedra botaniky*. [online]. Dostupné z:

<https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/struktura/laborator-dna/metody>  
[cit. 2022-03-14]

- Kiran, M., Caboň, M., Senko, D., Khalid, A. N., & Adamčík, S. (2021). Description of the Fifth New Species of *Russula* subsect. *Maculatinae* from Pakistan Indicates Local Diversity Hotspot of Ectomycorrhizal Fungi in Southwestern Himalayas. *Life (Basel, Switzerland)*, *11*(7), 662. <https://doi.org/10.3390/life11070662>
- Kleine, C. S., McClean, T., & Miller, S. L. (2013). Genetic divergence among disjunct populations of three *Russula* spp. from Africa and Madagascar. *Mycologia*, *105*(1), 80–89. <https://doi.org/10.3852/11-067>
- Kostić, M., Ivanov, M., Fernandes, Â., Pinela, J., Calhella, R. C., Glamočlija, J., Barros, L., Ferreira, I., Soković, M., & Ćirić, A. (2020). Antioxidant Extracts of Three *Russula* Genus Species Express Diverse Biological Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(18), 4336. <https://doi.org/10.3390/molecules25184336>
- Larsson, K. H. (2007). Re-thinking the classification of corticioid fungi. *Mycological research*, *111*(9), 1040-1063. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.08.001>
- Li, M., Liang, J., Li, Y., Feng, B., Yang, Z. L., James, T. Y., & Xu, J. (2010). Genetic diversity of Dahongjun, the commercially important "Big Red Mushroom" from southern China. *PLoS one*, *5*(5), e10684. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010684>
- Li, G. J., Zhao, R. L., Zhang, C. L., & Lin, F. C. (2018). A preliminary DNA barcode selection for the genus *Russula* (Russulales, Basidiomycota). *Mycology*, *10*(2), 61–74. <https://doi.org/10.1080/21501203.2018.1500400>
- Li, G. J., Li, S. M., Buyck, B., Zhao, S. Y., Xie, X. J., Shi, L. Y., Deng, C. Y., Meng, Q. F., Sun, Q. B., Yan, J. Q., Wang, J., & Li, M. (2021). Three new *Russula* species in sect. *Ingratae* (Russulales, Basidiomycota) from southern China. *MycKeys*, *84*, 103–139. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.84.68750>
- Liang, Y., Guo, L. D., & Ma, K. P. (2004). Genetic structure of a population of the ectomycorrhizal fungus *Russula vinosa* in subtropical woodlands in southwest China. *Mycorrhiza*, *14*(4), 235–240. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0260-7>

- Malloch, D. W., Pirozynski, K. A., & Raven, P. H. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A Review). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(4), 2113–2118. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.4.2113>
- Malloch, D. (2021). *Spore prints*. [online] Dostupné z: [http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/EssaysOnFungi/Collecting\\_mushrooms\\_for\\_scientific\\_study/Spore\\_print.html](http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/EssaysOnFungi/Collecting_mushrooms_for_scientific_study/Spore_print.html) [cit. 2021-12-17]
- Manz, C., Adamčík, S., Looney, B. P., Corrales, A., Ovrebo, C., Adamčíková, K., Hofmann, T. A., Hampe, F., & Piepenbring, M. (2021). Four new species of *Russula* subsection *Roseinae* from tropical montane forests in western Panama. *PloS one*, 16(10), e0257616. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257616>
- Melzer, V., & Zvára, J. (1927). *České holubinky. (Russula Bohmiae.)*. Praha: v komisi Fr. Řivnáče. - tiskem B. Stýbla
- Miller, S., & Buyck, B. (2002). Molecular phylogeny of the genus *Russula* in Europe with a comparison of modern infrageneric classifications. *Mycological Research*, 106(3), 259-276. <https://10.1017/S0953756202005610>
- Muller, L. A. H., Lambaerts, M., Vangronsveld, J., & Colpaert, J. V. (2004). AFLP-based assessment of the effects of environmental heavy metal pollution on the genetic structure of pioneer populations of *Suillus luteus*. *New Phytologist*, 297-303. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01190.x>
- Pagano M, Gauvreau K, Pagano M. (2000). Principles of biostatistics. Pacific Grove (CA): *Duxbury Resource Center*. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=7tJMDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT20&ots=Zct7NdL1-M&sig=YpXxFFfFtXpR6h8a7nU4gkeyAeQ&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=7tJMDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT20&ots=Zct7NdL1-M&sig=YpXxFFfFtXpR6h8a7nU4gkeyAeQ&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Papoušek, I. (2018). *Sekvenování příští generace (Next Generation Sequencing, NGS)* [online]. Dostupné z: [https://fvhe.vfu.cz/files/mbhp\\_2018\\_07.pdf](https://fvhe.vfu.cz/files/mbhp_2018_07.pdf) [cit. 2022-03-16]
- Phosri, C., Polme, S., Taylor, A. F., Koljalg, U., Suwannasai, N., & Tedersoo, L. (2012). Diversity and community composition of ectomycorrhizal fungi in a dry deciduous

- dipterocarp forest in Thailand. *Biodiversity and Conservation*, 21(9), 2287-2298.  
<https://doi.org/10.1007/s10531-012-0250-1>
- Persoon, Ch. H. (1796). *Observationes mycologicae. Lipsiae: Petrum Phillippum Wolf*
- Read, D. J., & Perez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance?. *New phytologist*, 157(3), 475-492.  
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00704.x>
- Reumaux, P., Bidaud, A., & Moëgne-Loccoz, P. (1996). Russules rares ou méconnues. *Editions de la Fédération Mycologique Dauphiné-Savoie. Marlioz.*
- Riviere, T., Natarajan, K., & Dreyfus, B. (2006). Spatial distribution of ectomycorrhizal Basidiomycete Russula subsect. Foetentinae populations in a primary dipterocarp rainforest. *Mycorrhiza*, 16(2), 143–148. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0019-4>
- Riviere, T., Diedhiou, A. G., Diabate, M., Senthilarasu, G., Natarajan, K., Verbeken, A., Buyck, B., Dreyfus, B., Bena, G., & Ba, A. M. (2007). Genetic diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes from African and Indian tropical rain forests. *Mycorrhiza*, 17(5), 415–428. <https://doi.org/10.1007/s00572-007-0117-6>
- Romagnesi H, (1985). Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord. Dotisk s přílohou. *J.Cramer, Lehre*, 1–1030.
- Roy, M., Dubois, M. P., Proffit, M., Vincenot, L., Desmarais, E., & Selosse, M. A. (2008). Evidence from population genetics that the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* is an actual multihost symbiont. *Molecular ecology*, 17(12), 2825–2838.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03790.x>
- Smith, D. (2015). *RUSSULA by Diana Smith*. [online] Fungikingdom.net. Dostupné z: <https://www.fungikingdom.net/mycology-education/russula/index.html> [cit. 2021-12-09].
- Socha, R., Hálek, V., Baier, J., & Hák, J. (2011). *Holubinky: (Russula) (2011 ed.)*. Praha: Academia.
- Sunnucks P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in ecology & evolution*, 15(5), 199–203. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(00\)01825-5](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(00)01825-5)

- Svrček, M., Erhart, J., & Erhartová, M. (1984). *Holubinky*. Praha: Academia.
- Ruotsalainen, J., & Huhtinen, S. (2011). *Russula pyriodora*, a new fragrant species described from Finland. *Karstenia*, 51(1), 23-30. Dostupné z: [https://web.archive.org/web/20190429084740id\\_/http://www.funga.fi/Karstenia/Karstenia\\_51-1\\_2011-3.pdf](https://web.archive.org/web/20190429084740id_/http://www.funga.fi/Karstenia/Karstenia_51-1_2011-3.pdf)
- Sarnari M. (1998) Monografia illustrate de genere *Russula* in Europa. *Tomo Primo. AMB, Centro Studi Micologici*. Trento, 1–800.
- Trouble over cap colours and species concepts in *Russula*. (2017). *IMA Fungus*, 8(2), 61–62. Dostupné z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=127788939&site=ehost-live>
- Vašutová, M. & Sedlářová, M. (2004). *Atlas houbových organismů. Dermatocystidy*. [online] Dostupné z: <http://old.botany.upol.cz/atlas/system/gallery.php?entry=dermatocystidy> [cit. 2022-03-17]
- Vašutová, M. & Sedlářová, M. (2004). *Atlas houbových organismů. Primordiální hyfy*. [online] Dostupné z: <http://old.botany.upol.cz/atlas/system/gallery.php?entry=primordi%ED%20hyfy> [cit. 2022-03-17]
- Wang, X. H., & Liu, P. G. (2010). *Multifurca* (Russulales), a genus new to China. *Cryptogamie*, 31(1), 9. Dostupné z: <https://sciencepress.mnhn.fr/sites/default/files/articles/pdf/cryptogamie-mycologie2010v31f1a2.pdf>
- Wang, P., Zhang, Y., Mi, F., Tang, X., He, X., Cao, Y., Liu, C., Yang, D., Dong, J., Zhang, K., & Xu, J. (2015). Recent advances in population genetics of ectomycorrhizal mushrooms *Russula* spp. *Mycology*, 6(2), 110–120. <https://doi.org/10.1080/21501203.2015.1062810>

- Whitaker, R. J., & Banfield, J. F. (2006). Population genomics in natural microbial communities. *Trends in ecology & evolution*, *21*(9), 508–516.  
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.001>
- Wisitrassameewong, K., Park, M. S., Lee, H., Ghosh, A., Das, K., Buyck, B., Looney, B. P., Caboň, M., Adamčík, S., Kim, C., Kim, C. S., & Lim, Y. W. (2020). Taxonomic revision of *Russula* subsection *Amoeninae* from South Korea. *MycoKeys*, *75*, 1–29.  
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.75.53673>
- Wisitrassameewong, K., Manz, C., Hampe, F., Looney, B. P., Boonpratuang, T., Verbeken, A., Thummarukcharoen, T., Apichitnaranon, T., Pobkwamsuk, M., Caboň, M., & Adamčík, S. (2022). Two new *Russula* species (fungi) from dry dipterocarp forest in Thailand suggest niche specialization to this habitat type. *Scientific reports*, *12*(1), 2826.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-06836-x>
- Woo, B. (1989). *Trial field key to the species of RUSSULA in the Pacific Northwest*. [online] Dostupné z: <https://www.svims.ca/council/Russul.htm> [cit. 2021-11-09]
- Wu, F., Zhou, L. W., Yang, Z. L., Bau, T., Li, T. H., & Dai, Y. C. (2019). Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, *98*(1), 1-76. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00432-7>
- Zhou, S., Song, Y., Chen, K., Li, J., Buyck, B., & Qiu, L. (2020). Three Novel Species of *Russula* Pers. Subg. *Compactae* (Fr.) Bon from Dinghushan Biosphere Reserve in Southern China. *Cryptogamie, Mycologie*, *41*(14), 219-234.  
<https://doi.org/10.5252/cryptogamie-mycologie2020v41a14>