

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Biologie



**Petra Seifertová**

**Diverzita, výskyt a fylogeneze zástupců anamorfního rodu *Chalara***

Diversity, distribution and phylogeny of members of the anamorphic genus *Chalara*

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

Praha, 2014

**Prohlášení:**

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

V Praze, 21. 8. 2014

Podpis: .....

**Poděkování:**

Můj největší dík patří školiteli Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D. za všechny jeho odborné rady a za trpělivost, kterou se mnou měl. Dále bych ráda poděkovala rodičům a sestře Klárce, kteří mě tak vytrvale podporují. A samozřejmě mému příteli Vaškovi za jeho neúnavné dávky energie a pochopení.

## **Abstrakt:**

Rod *Chalara* shrnuje anamorfní, mikroskopické zástupce hub s typickou morfologickou stavbou konidiogenní buňky – fialidy s bříškem a dlouhým trubicovitým límečkem, z něhož vychází nejčastěji hyalinní, cylindrické konidie. Je evolučně jednoduchým znakem a vyvinula se zjevně opakovaně, zástupci rodu *Chalara* souvisí s několika teleomorfními druhy v rámci podkmenu Pezizomycotina, z nichž největší počet spadá pod řád Helotiales. Rod se vyskytuje kosmopolitně, jeho druhy jsou nalézány na různých substrátech s rozdílnými ekologickými nároky (od saprotrofů po parazity).

Tato bakalářská práce podává přehled o diverzitě, substrátové preferenci druhů a jejich pozici v systému. Dalším úkolem je poukázat na posun od počátečních fylogenetických pohledů založených pouze na morfologických znacích až po moderní názory podpořené molekulárními metodami.

**Klíčová slova:** fylogeneze, *Chaetochalara*, *Infundichalara*, *Xenochalara*, teleomorfa

## **Abstract:**

The genus *Chalara* includes anamorphic, microscopic species of fungi with a typical morphological structure of conidiogenous cell – a phialide with basal venter, long tubular collarette which is producing hyaline, cylindrical conidia. This feature is simple and in the evolution was developed several times. Species of the genus *Chalara* are associated with some teleomorphic species in subphylum Pezizomycotina, most of them in order Helotiales. The genus is dispersed all over the world and not prefer some special substrate or ecological requirements (from saprobes to parasites).

The aim of this bachelor's thesis is to give an overview of diversity, substrate preferences of species, their position in a system and a recapitulation from the first phylogenetic opinions which were based on morphological features to nowadays perceptions with molecular data.

**Key words:** phylogeny, *Chaetochalara*, *Infundichalara*, *Xenochalara*, teleomorph

## Obsah:

1. Úvod.....	1
2. Literární rešerše .....	3
2.1. CHARAKTERISTIKA RODU <i>CHALARA</i> .....	3
2.2. MORFOLOGICKÁ STAVBA .....	3
2.2.1. Konidiogenní buňky.....	3
2.2.2. Konidie.....	4
2.2.3. Chlamydospory .....	5
2.3. MORFOLOGICKY PODOBNÉ RODY .....	6
2.3.1. <i>Brachyalara</i> .....	6
2.3.2. <i>Exochalara</i> .....	7
2.3.3. <i>Infundichalara</i> .....	8
2.3.4. <i>Xenopolyscytalum</i> .....	9
2.3.5. <i>Thielaviopsis</i> .....	10
2.3.6. <i>Xenochalara</i> .....	12
2.3.7. <i>Chaetochalara</i> .....	14
2.4. EKOLOGIE RODU <i>CHALARA</i> .....	15
2.4.1. <i>Chalara fraxinea</i> .....	15
2.4.2. <i>Chalara angustata</i> .....	17
2.4.3. <i>Chalara longipes</i> .....	17
2.4.4. <i>Chalara vaccini</i> .....	18
3. Závěr a výhledy diplomové práce .....	20
4. Použitá literatura: .....	21

## 1. Úvod

Rod *Chalara* je zajímavou skupinou mikroskopických hub, sdružující anamorfní druhy s typickou fialidickou konidiogenní buňkou tvořenou bříškem a dlouhým límečkem z něhož jsou vytlačovány konidie.

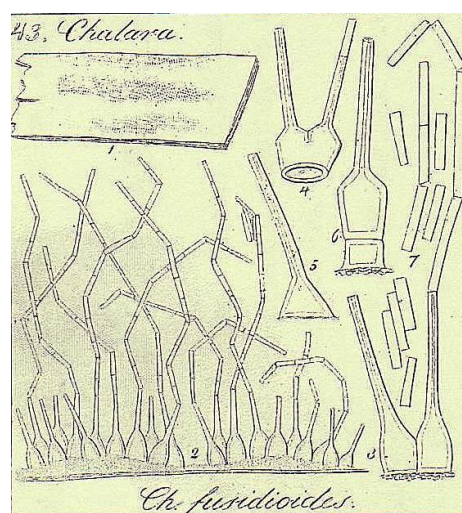
Český mykolog August Carl Joseph Corda (1838) poprvé použil název *Chalara* pro pojmenování podrodu nového druhu rodu *Torula*. Jméno *Chalara* pochází z latinského slova „*chalaros*“, což v češtině znamená schlíplý, ochablý (Lindau 1907). Corda (1838) nazval nově nalezený druh mikroskopické houby z kůry jehličnanu *Torula Chalara fusidioides*. Druh popsal jako „zrnité, rozlité stroma tvořící vláknité jednoduché hyfy s lahvicovitým ústím, které produkuje cylindrické, neseptované konidie“ (Obr. 1). Corda předpokládal, že tento druh tvoří konidie fragmentací fertlních hyf (jak je patrné na Obr.1) (Corda 1838).

Rabenhorst (1844) povýšil tento podrod na rod, ale stále ještě neodhalil přesný typ konidiogeneze.

Jejich hypotézy popřel až Saccardo (1880), který u rodu *Chalara* správně popsal vznik konidií jako „konidie v řetízcích, z vnitřku hyfy vznikající“.

Höhnel (1902) navrhl rozdělení rodu *Chalara* do tří podrodů podle způsobu tvorby konidií. První podrod s exogenní tvorbou konidií nazval *Euchalara*, druhému podrodu s produkcí řetízkovitých endogenních konidií na vrcholu fertlních hyf dal jméno *Endochalara* a poslední podrod *Synchalara* oddělil na základě produkce endokonidií z krátkých fertlních hyf, které byly hustě přirostlé na tenkém subikulu. Höhnelův systém rodu *Chalara* neměl dlouhého trvání. Lindau (1907) podrod *Euchalara* pro exogenní vznik konidií vyloučil a celé Höhnelovo členění zamítl. Jako hlavní determinační znak rodu *Chalara* označil endogenní vznik řetízkovitých konidií vrcholovou septací z duté konidiogenní buňky.

Velký pokrok v poznání rodu učinili Nag Raj a Kendrick (1975) sepsáním rozsáhlé monografie rodu *Chalara* a příbuzných druhů. Do monografie zahrnuli 58 do té doby známých i nově popsaných druhů.



Obr. 1: *Chalara fusidioides*, konidie na substrátu. Převzato z Corda (1838).

Na našem území se tomuto rodu věnovala Holubová-Jechová (1984). Na základě materiálu z vlastních rozsáhlých sběrů z České republiky zaznamenala 30 druhů z rodů *Chalara*, *Exochalara*, *Fusichalara* a *Dictyochaeta* a popsala dva nové druhy (*C. neglecta* a *C. picea-abietis*).

První molekulární studii rodu *Chalara* provedli Paulin a Harrington (2000). Pomocí 18S a 28S rDNA analyzovali 23 druhů rodu *Chalara*, které neměly do té doby známé pohlavní stádium a snažili se prokázat jejich propojení s teleomorfním rodem *Ceratocystis*. Šestnáct zástupců připadlo do řádu *Helotiales*, šest druhů pod rod *Ceratocystis* a *Chalara hyalina* nebyla jako jediná do žádného řádu prokazatelně zařazena. Šest druhů z rodu *Chalara*, které jsou rostlinnými patogeny a byly přiřazeny k teleomorfnímu rodu *Ceratocystis*, navrhli vyloučit a přejmenovat na rod *Thielaviopsis* (*T. australis*, *T. neocaledoniae*, *T. populi*, *T. ovoidea*, *T. thielavioides* a *T. basicola*, viz kapitola 2.4.5.).

V navazující práci Paulin-Mahady et al. (2002) objasnili propojení dalších anamorfních druhů rodů *Chalara*, *Chalaropsis* a *Thielaviopsis* s teleomorfou *Ceratocystis*. Označili jména *Chalaropsis* a *Hughesiella* za synonyma ke jménu *Thielaviopsis*. A všechny anamorfy patřící k teleomorfnímu rodu *Ceratocystis* převedli do rodu *Thielaviopsis*.

Další molekulární studie byla zaměřena na srovnání fylogeneze rodu *Chalara* na základě sekvencí SSU a LSU a morfologických znaků (Cai et al. 2009). Za fylogeneticky významné morfologické znaky stanovili šířku konidií, jejich septaci a míru pigmentace konidioforu. Naopak za fylogeneticky méně významné vlastnosti označili délku konidií, jejich ornamentiku a tvar límečku i bříška.

Studie, jež se věnovala zástupcům rodu *Chalara* z jehličnatého opadu pocházejícího z České republiky a Švédska (Koukol 2011) přinesla čtyři nové druhy: *C. holubovae*, *C. hyalocuspica*, *C. pseudoaffinis* a *C. recta*. Na základě morfologického studia kmenů z veřejných sbírek a zároveň srovnáním s molekulárními fylogenetickými analýzami (ITS, 28S rDNA, EF-1 $\alpha$ ), tato studie upozornila na kontaminované a chybně určené položky.

Cílem této bakalářské práce je podat přehled o diverzitě, substrátové preferenci druhů rodu *Chalara* a jejich pozici v systému vřecovýtrusých hub. Dalším úkolem je poukázat na historický vývoj poznání konkrétních druhů rodu *Chalara*, druhů, které byly historicky, byť ne natrvalo, řazeny do rodu *Chalara* a dalších morfologicky podobných druhů. A v neposlední řadě poskytnout souhrn počátečních fylogenetických pohledů založených pouze na morfologických znacích až po moderní názory podpořené molekulárními metodami.

## 2. Literární rešerše

### 2.1. CHARAKTERISTIKA RODU *CHALARA*

Polyfyletický, anamorfní rod *Chalara* sdružuje zástupce na základě jejich jednoduché morfologické stavby (kapitola 2.3.), která se v evoluci vyvinula několikrát nezávisle. Do systému jsou druhy rodu *Chalara* zařazovány na základě příslušnosti k teleomorfě. Dnes je známo propojení s minimálně šesti řády podkmenu Pezizomycotina: Helotiales, Microascales, Sordariales, Xylariales, Chaetosphaeriales, Laboulbeniales a Dothideales (Nag Raj a Kendrick 1993, Réblová 1999, Paulin a Harrington 2000, Cai et al. 2009). Dosud ale není u všech zástupců stádium teleomorfy určeno. Do roku 2008 se k rodu *Chalara* řadilo 103 druhů (Kirk et al. 2008) a po roce 2008 bylo popsáno dalších pět druhů (*C. pseudocyphellariae*, *C. hyalocuspica*, *C. holubovae*, *C. pseudoaffinis*, *C. recta*). (Etayo a García Sancho 2008, Koukol 2011).

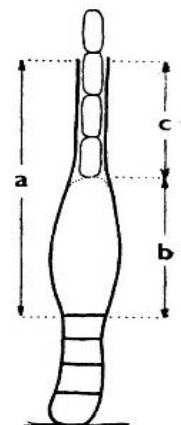
Zástupci rodu *Chalara* se vyskytují jako saprotrofové, často v opadu jehličnatých a listnatých dřevin (*C. longipes*, *C. recta*), jako významní rostlinní patogeni dřevin (*C. fraxinea*, *C. angustata*) nebo jako endofyté rostlin (*C. longipes*, *C. hyalocuspica*, *C. holubovae*) (Kowalski a Halmschlager 1996, Kowalski 2006, Koukol 2011).

### 2.2. MORFOLOGICKÁ STAVBA

#### 2.2.1. Konidiogenní buňky

Konidiogenní buňky typu fialidy (Obr. 2) vyrůstají u některých druhů přímo z vegetativních hyf, u jiných se vytváří konidiofor. Konidiofory mohou být septované, nebo jednobuněčné, jen výjimečně větvené (Holubová-Jechová 1984). Povrch konidioforu je většinou hladký, u některých druhů hrubý až ostnité (*C. cylindrica*, *C. bohemica*). Fialida sestává z bříska, které ústí v trubicovitý límeček. Konidiogenní buňky mají různé tvary: lahvicovitý, vázovitý, obklínovitý, subcylindrický a urnovitý (Obr. 3).

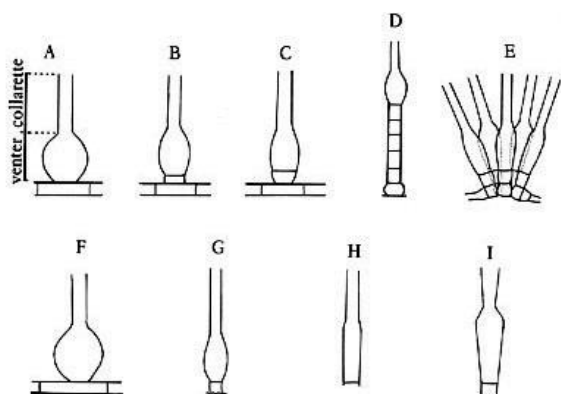
Lahvicovitý nebo vázovitý typ se vyznačuje kulovitým, obvejčítým či oválným břískem.



Obr. 2: **Morfologie konidiogenní buňky:** a) fialida, b) bříska, c) rovný trubicovitý límeček. Převzato z Holubová-Jechová (1984).



U obklínovitého a subcylindrického je břicho méně výrazné, cylindrické, stejně dlouhé jak široké. Bříško u urnovitého typu je obkónické, šířka báze konidioforu koresponduje s šířkou límečku. Přechod mezi břískem a límečkem může být náhlý (*C. fusidioides*), pozvolný (*C. affinis*) až neznatelný (*C. quercina*).



Obr. 3: **Typy fialid:**  
 B) cylindrický; C) obkónický; D) cylindrický na více buněčném stonku; E) sdružené; F) lahvicovitý; G) obklínovitý; H) subcylindrický; I) urnovitý.  
 Převzato z Nag Raj a Kendrick (1975).

Tvary i velikosti límečku (Obr. 4) jsou různé. U většiny druhů je límeček nejsvětlejší částí, ale druhy *C. nigricollis*, *C. inflatipes* a *C. insignis* mají límeček tmavší než břicho a zbytek konidioforu. Pro určení do druhu je zásadní nejen tvar a velikost fialidy, břicha a límečku, ale i poměr jejich délek (Nag Raj a Kendrick 1975).

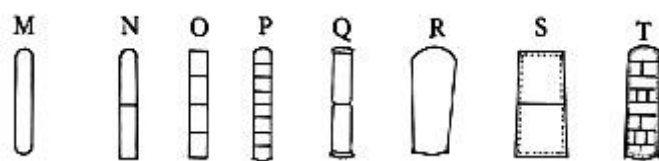


Obr. 4: **Typy límečků:** J) cylindrický; K) kónický; L) obkónický. Převzato z Nag Raj a Kendrick (1975).

### 2.2.2. Konidie

Konidie druhů rodu *Chalara* vznikají enteroblastickou konidiogenezí v zanořených (angl. *deep-seated*) konidiogenních lokusech (angl. *conidiogenous locus*) a vyrůstají v řetízcích (Nag Raj a Kendrick 1975). Primární konidie se tvoří v uzavřeném límečku a po protrhnutí jeho apikální stěny se aktivuje proliferace dalších buněk (Nag Raj a Kendrick 1993). Konidie jsou buď jednobuněčné, dvoubuněčné nebo podélně a příčně septované. Tvar konidií bývá cylindrický, elipsoidní nebo obklínovitý s oblými, tupými nebo useknutými konci. U zástupců s tupým zakončením konidií se vyskytuje malý, ale zřetelný volánek (angl. *frill*) (*C. acuaria*, *C. brachyspora*, *C. breviclavata*) (Obr. 5). Konidie bývají nejčastěji hyalinní, subhyalinní nebo v odstínech světle hnědé. Jako určovací znak slouží nejen jejich velikost, ale i poměr šířky a délky (Nag Raj a Kendrick 1975).

Konidie obecně slouží k nepohlavnímu rozmnožování a rozšiřování. Jak ukázala studie Hosoya a Otani (1997), která se pokusila potvrdit hypotézu o propojení teleomorfy *Mollisia uncinata* s anamorfoou *Chalara sp.* (Arendholz a Sharma 1984), dokázala, že ani po týdnu kultivace na PDA (potato dextrose agar) nebyly konidie schopny klíčení. Jejich možnou funkci odhalili ve své studii Gross et al. (2012) věnované životnímu cyklu vřekovýtrusé houby jménem *Hymenoscyphus (pseudoalbidus) fraxineus*. Švýcarským vědcům se podařila objasnit funkce konidií anamorfy *C. fraxinea*, mohou sloužit jako spermácie – pro oplodnění samičího askogonu (Gross et al. 2012), (viz kapitola 2.5.1.).

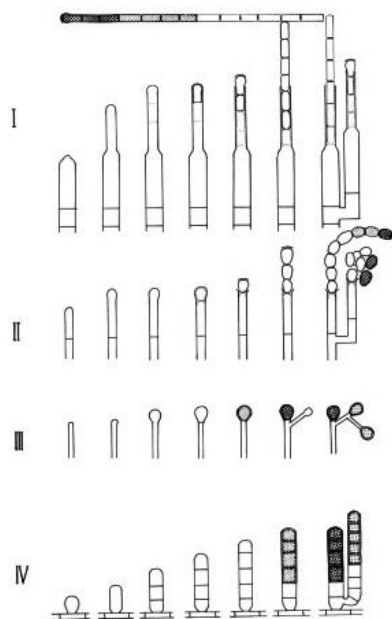


Obr. 5: **Typy konidií:**

M) oba konce zaoblené; N) oblý vrchol; O) konce useknuté nebo tupé; P) s okrajovým volánkem; Q) dvoubuněčná; R) klínovitý s volánkem u báze; S) subcylindrický; T) příčně a podélně septovaná. Převzato z Nag Raj a Kendrick (1975).

### 2.2.3. Chlamydospory

Chlamydospory (spory pro přežití nepříznivých podmínek) nejsou přítomné u všech druhů, ale pokud se vyskytují, jsou nápadné. Tlustostěnné, jednobuněčné i septované spory se na hyfách formují jednotlivě terminálně (např. *C. ovoidea*), vmezeřeně i ve shlucích nebo v řetízcích (např. *Thielaviopsis basicola* tvoří 3-8 spor, *Thielaviopsis elegans* 5-7 spor). Při dozrávání se řetízek rozpadá na jednotlivé spory. Jejich zbarvení bývá subhyalinní až tmavě hnědé, tvary mají různorodé od kulovitého přes vejčitý, elipsoidní až nepravidelný (Nag Raj a Kendrick 1975, Holubová-Jechová 1984, Carris 1988, Riggs a Mims 2000). Vznikají thalickou (tzn. předchozí část hyfy ukončí prodlužující růst a jednoduchou přeměnou a oddělením vznikají konidie, které jsou odděleny příčnými septy), holoblastickou (tzn. stěna konidiogenní buňky nepraská, ale sama se stává stěnou konidie, která je od zbytku konidiogenní buňky oddělena bazálním septem) nebo enteroblastickou konidiogenezí (tzn. po prasknutí apikální stěny hyfy se aktivuje tvorba spor s nově vytvořenými stěnami) (Obr. 6) (Cole 1975, Holubová-Jechová 1984, Riggs a Mims 2000).



Obr. 6: Schéma vzniku konidií a chlamydospor: I) enteroblastický-fialidický vznik konidií; II) enteroblastický vznik chlamydospor; III) holoblastický vznik chlamydospor; IV) thalický vznik chlamydospor. Převzato z Nag Raj a Kendrick (1975).

## 2.3. MORFOLOGICKY PODOBNÉ RODY

### 2.3.1. *Brachyalaria*

Monotypický rod *Brachyalaria*, s rodem *Brachyalaria straminea*, byl popsán Réblovou et al. (2011) z tlejících plodnic klišatky černé (*Bulgaria inquinans*) nalezené v Belgii a Německu. Morfologické znaky odlišující rod *Brachyalaria* od rodu *Chalara* jsou patrné především na pozici konidiogenních lokusů, které se tvoří u báze nálevkovitého límečku. Jednobuněčné, hyalinní, hladké konidie jsou elipsoidního nebo obvejčitého tvaru. Konidiofory jsou poléhavé a fialidy lahvicovité (Obr. 7). Na základě molekulárních analýz 18S, 5,8S a 28S rDNA byl tento rod odlišen i od rodu *Exochalara*. Teleomorfa k druhu *B. straminea* není známa (Réblová et al. 2011).



Obr. 7: *Brachyalaria straminea*, fialidy produkující konidie. Převzato z Réblová et al. (2011).

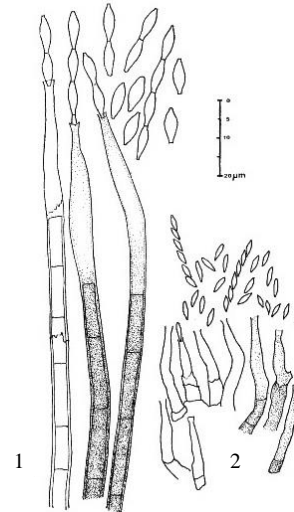
### 2.3.2. *Exochalara*

Poznání rodu *Exochalara* (Helotiales) je spojeno s druhem *Chalara longissima*, který popsal Grove (1885). Na sběru z tlejícího dřeva pozoroval houbu s morfologickými znaky podobnými *C. longipes*. *Exochalara* (*Chalara*) *longissima* má cylindrické, septované konidiofory, které jsou na bázi rozšířené a tmavě hnědé (Obr. 8, 9). Fialida je cylindrického až subcylindrického tvaru a její dlouhé bříško je zakončeno obkónickým límečkem, jehož stěna bývá jemně bradavčitá. Jednobuněčné, hyalinní, větvenité konidie s useknutými konci mají hladký povrch a jsou produkovány v řetězcích.

Podobný nález učinil Hughes (1949) z hasivky orličí (*Pteridium aquilinum*) v Anglii. Jeho naměřené hodnoty měly velmi podobná rozmezí, jako hodnoty, které udával Grove (1885). Hughesův nález se významně lišil pouze v hodnotách délky konidioforů, ty byly významně vyšší.

Ani po více než 20 letech se nepodařilo objasnit pozici *C. longissima* v systému. Nag Raj a Kendrick (1975) zařadili *C. longissima* do kapitoly s názvem „Málo známé, nejisté nebo vyčleněné druhy“, kde ale jednoznačně vyřadili *C. longissima* z rodu *Chalara* na základě délky subcylindrického bříška s relativně krátkým obkónickým límečkem a absence zanořených konidiogenních lokusů. Zároveň zavrhlí možnost, že by *C. longissima* spadala pod rod *Chloridium* nebo *Phialophora* (Nag Raj a Kendrick 1975).

Samostatný rod *Exochalara* zavedli až Gams a Holubová-Jechová (1976) a zahrnuli do něj kromě *Exochalara* (*Chalara*) *longissima* i druh *Exochalara* (*Catenularia*) *guadalcanalensis* popsáný z listu banánovníku (*Musa sp.*). Další druh *Exochalara imbricata* (Obr. 8) popsala Holubová-Jechová (1984) z České



Obr. 8: 1. *Exochalara longissima*, 2. *E. imbricata*. Převzato z Holubová-Jechová (1984).



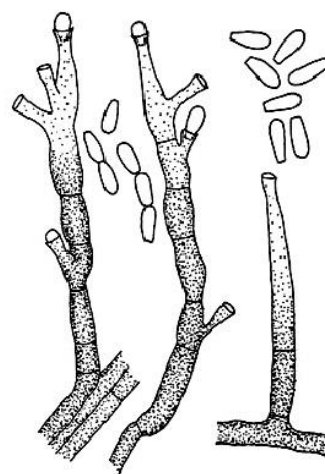
Obr. 9: *Exochalara longissima*. Převzato z Réblová et al. (2011).

republiky. I když je celkový habitus *E. imbricata* menší než u dalších dvou zástupců rodu, jeho morfologické znaky a typ konidiogeneze jej jednoznačně propojují s rodem *Exochalara*. *E. imbricata* je typická drobnými, větvenovitými konidii se zašpičatělými konci, které se tvoří v řetězcích (Holubová-Jechová 1984). V následné studii, kterou provedli Rong a Gams (2000), byly morfologicky odděleny podobné rody *Exochalara* a *Monilochaetes*, který tvoří silné svazčité konidiofory. Příbuzností rodu *Exochalara* k ostatním rodům se zabývala studie Réblová et al. (2011). Na základě genové fylogenetické analýzy 18S, 28S a ITS rDNA určili za blízce příbuzné rody *Hyphodiscus* (anamorfa *Catenulifera*) a *Chlorociboria* (anamorfa *Dothiorina*). Rod *Exochalara* se vyskytuje saprotrofně na tlejícím dřevě a opadu jehličnatých dřevin (Réblová et al. 2011).

### 2.3.3. *Infundichalara*

Rod *Infundichalara* (Helotiales) byl od rodu *Chalara* odlišen na základě morfologie fialidy – tvaru límečku a pozice konidiogenního lokusu. Límečky zástupců rodu *Infundichalara* mají nálevkovitý tvar a konidiogenní lokusy jsou zanořeny jen mělce (Réblová et al. 2011). V dnešní době jsou k tomuto rodu řazeny pouze dva druhy, jejich teleomorfa není známá.

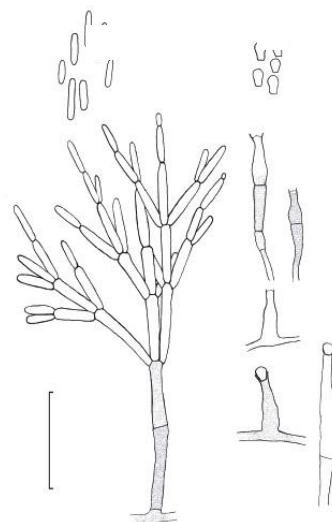
Prvním druhem je *Infundichalara (Chalara) microchona* (Obr. 10), jež byla zaznamenána na rozkládajícím se dřevě, kořenech a kůře různých druhů jehličnanů a plodnic troudatce kopytovitého (*Fomitopsis pinicola*). Již Gams a Holubová-Jechová (1976), kteří tento druh popsali jako *C. microchona*, komentovali atypický tvar límečku, ale přiklonili se spíše k zařazení druhu k rodu *Chalara* než k rodu *Phialophora*, který má výrazně nálevkovité límečky. Konidiofory *I. microchona* mají hnědou barvu a jsou septované. Fialidy jsou jednoduché, vzácně



Obr. 10: *Infundichalara microchona*, konidiofory a konidie. Převzato z Gams a Holubová-Jechová (1976).

vícebuněčné, u báze pigmentované a směrem k vrcholu subhyalinní, často sympodiálně větvené a pod límečkem zúžené. Produkují hyalinní, hladké, klínovité konidie s uťatými konci. Réblová et al. (2011) se následně rozhodli popsat nový rod *Infundichalara* na základě již zmíněné atypické morfologie podpořené analýzou 18S a 28S rDNA, ve které tři kmeny *I. microchona* tvořily silně podpořenou větev sesterskou se zástupci rodu *Chalara*.

Druhým zástupcem je *I. minuta*, kterou Koukol (2012) izoloval a popsal z borovicového opadu. *I. minuta* je schopná tvořit dva typy konidioforů. Častější jsou rovné penicilátní (štetcovité) konidiofory tvořící řetízky neseptovaných, hyalinních konidií (Obr. 11), které jsou rozeznatelné jako bílé chomáčky na jehlicích i v kultuře a obvykle ústí třemi ramokonidiemi. Druhým typem jsou *Chalara*-like konidiofory s charakteristickými nálevkovitými límečky, ze kterých vychází klínovité konidie. Morfologií se více podobá rodu *Xenopolyscytalum*, který tvoří rovněž převážně penicilátní konidiofory a *Chalara*-like synanamorfu a je znám z borovicového opadu (Crous a Groenewald 2010). Nicméně molekulární analýzy ITS a 28S rDNA a EF-1 $\alpha$  zařadily tento druh jako sesterský k *I. microchona*. Na rozdíl od *I. microchona* má ale menší fialidy a odlišný tvar konidií.



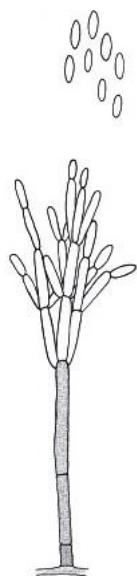
Obr. 11: *Infundichalara minuta*, penicilátní a *Chalara*-like konidiofory. Převzato z Koukol (2012).

#### 2.3.4. *Xenopolyscytalum*

Rod *Xenopolyscytalum* (Helotiales) popsal Crous a Groenewald (2010) z borové jehlice (*Pinus sp.*) pocházející z Holandska s jediným druhem *Xenopolyscytalum pinea*. Mycelium druhu *X. pinea* je hladké, ve stáří bradavčité, septované, větvené a zbarvené do hněda. Konidiofory tohoto druhu jsou dvojího typu. Prvním jsou bílé vzpřímené, penicilátní (štetcovité) konidiofory (Obr. 12), které se tvoří ve shlucích a produkují hladké, neseptované, hyalinní až hnědé konidiogenní buňky, jež svým sympodiálním větvením dávají vzniknout ramokonidiím i jednoduchým konidiím v řetízcích. Druhým typem konidioforů jsou *Chalara*-like mikrokonidiofory (Obr. 13). Ty jsou hnědé, vzpřímené, septované, nevětvené s hladkým až bradavčitým povrchem. Terminální konidiogenní buňky mají lahvicovitý límeček, který se u vrcholu nápadně rozšiřuje, ale na bázi je zřetelně trubicovitý. Tyto mikrokonidiofory produkují hyalinní, hladké, cylindrické konidie uťatými konci.

Rod byl pojmenován díky podobnosti s rodem *Polyscytalum* (anamorfní Sordariomycetes), který je ale geneticky vzdálený, a na rozdíl od rodu *Xenopolyscytalum* tvoří

pouze makrokonidiofory, které produkují neseptované konidie v řetízcích. Na druhou stranu mikrokonidiofory (*Chalara*-like) tvoří ve srovnání s rodem *Chalara* límeček, který se na apexu výrazně rozšiřuje (Crous a Groenewald 2010).



Obr. 12: *Xenopolyscytalum pinea*, penicilátní konidiofory. Převzato z Koukol (2012).



Obr. 13: *Xenopolyscytalum pinea*, *Chalara*-like konidiofory, konidie v řetízcích. Převzato z Crous a Groenewald (2010).

### 2.3.5. *Thielaviopsis*

Went (1898) stanovil rod *Thielaviopsis* díky nálezu nového druhu *Thielaviopsis ethacetica*, který izoloval z cukrové třtiny na Jávě. Höhnelt (1904) na základě nálezů mikroskopické houby z endospermu kokosového ořechu zjistil, že *Thielaviopsis ethacetica* a druh *Sporoschisma paradoxum* (který popsal De Seynes (1886) z parenchymatického pletiva ananasu) jsou totožné druhy a stanovil nové jméno druhu *Thielaviopsis paradoxum*. Riedl (1962) popsal nový druh *Ceratocystis musarum* (Microascales) z uskladněných banánů ve Vídni a jeho anamorfní stádium pojmenoval *T. paradoxa* var. *musarum*.

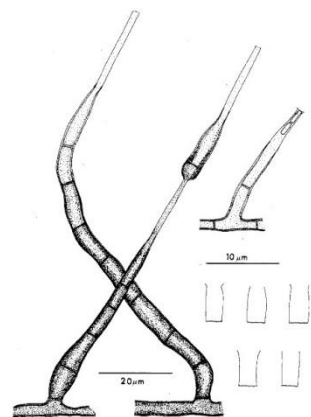
Vegetativní hyfy rodu *Thielaviopsis* jsou subhyalinní, septované a nepravidelně větvené. Ojedinele se na nich vyskytují tmavé chlamydospory. Fialidy mají nejčastěji subcylindrický, oblínovitý nebo lahvicovitý tvar. Přejechod mezi bříškem a dlouhým límečkem je pozvolný až nezatelný, povrch stěn fialid hladký až jemně bradavčitý. Konidiogenní lokus se tvoří v nebo nad střední částí fialidy. U rodu *Thielaviopsis* se tvoří konidie dvou typů, většina se tvoří v dlouhých řetízcích, je cylindrického tvaru s oblými,

uťatými nebo tupými konci, jednobuněčné, hyalinní, subhyalinní nebo světle hnědé. Méně časté tlustostěnné konidie – chlamydospory jsou v odstínech hnědé, mají vejčité, elipsoidní nebo hruškovité tvary. Tyto jednobuněčné konidie se formují v krátkých řetězcích či jednotlivě (Nag Raj a Kendrick 1975).

Nag Raj a Kendrick (1975) považovali jméno *Thielaviopsis* za synonymum ke jménu *Chalara*. Paulin a Harrington (2000) na základě sekvencí 18S a 28S rDNA, tvorby chlamydospor a ekologické strategie (půdní saprotrofové, patogeni) vyloučili čtyři druhy (*C. ovoidea*, *C. thielavioides*, *C. populi* a *C. elegans*) z rodu *Chalara* a přiřadili je k rodu *Thielaviopsis*. Tvorba chlamydospor je jedním z charakteristických znaků. Například *Thielaviopsis (Chalara) australis* a *T. (Chalara) neocaledoniae* chlamydospory netvoří, ale do rodu *Thielaviopsis* byly zařazeny na základě morfologie fialidy a zřejmé příbuznosti k *Ceratocystis eucalypti*. Anamorfy druhů *Ceratocystis coeruleus*, *Ce. fagacearum*, *Ce. eucalypti* (tzn. *T. ungeri*, *T. quercina*, *T. eucalypti*) byly i přes absenci chlamydospory přiřazeny také do rodu *Thielaviopsis*. *Thielaviopsis punctulata* vytváří jen samostatné chlamydospory a ukázalo se, že je anamorfním stádiem k *Ce. radicola* (Paulin a Harrington 2000).

Z hlediska ekologie jsou druhy rodu *Thielaviopsis* významnými parazity. *Thielaviopsis paradoxa* (teleomorfa *Ce. paradoxa*) parazituje na nadzemních částech datlové palmy (*Phoenix dactylifera*). Její tlustostěnné chlamydospory se nacházejí i v půdě, kde mohou infikovat nové odnože palem (Abdullah et al. 2009). Dále způsobuje infekční černé hniloby na tropickém ovoci (ananasech, banánech, liči) a cukrové třtině. Vyskytuje se jak na polích, tak při skladování. V boji s tímto patogenem se ve velké míře využívaly fungicidy, s rostoucí rezistencí houby se ovšem přešlo na technologii tepelného zpracování, neboť *T. paradoxa* nepřežívá teplotu 52,5-53°C (Wilson Wijeratnam et al. 2005).

*Thielaviopsis australis* (Obr. 14) parazituje na pabucích (*Nothofagus cunninghamii*) rostoucích v tasránských pralesích. Symptomy napadení se projevují chlorózami a nekrotizací listů, jejich opadem a náhlým vadnutím výhonů, ztrátou pigmentace dřeva, tvorbou shluků mycelia na kůře i na průřezu kmenů a větví. Doba od nakažení po odumření jedince bývá jeden až dva a půl roku. Teleomorfa příslušná k *T. australis* zatím není známá,



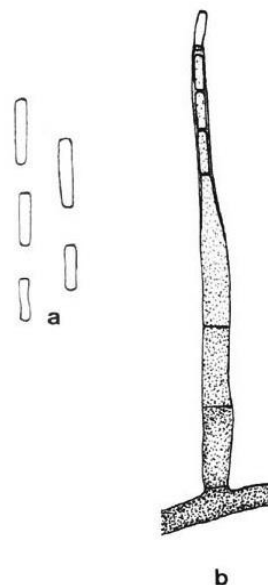
Obr. 14 : *Thielaviopsis australis*,  
Převzato z Kile a Walker (1987).



ale je možné propojení s *Ce. virescens*, patogenem javoru cukrového (*Acer saccharum*). Potencionálním vektorem infekce byl označen jádrohlod hrbolkatý (*Platypus subgranosus*), který navrtává do kůry a dřeva dutinky, v nichž se v nízkém procentu vyskytuje *T. australis* (Kile a Walker 1987). Kile a Hall (1988) provedli výzkum, jenž prokázal, že k infekci stromu došlo ještě před napadením jádrohlozem. Umělou inokulací *T. australis* do zdravých sazenic i do starších stromů *N. cunninghamii*, byl tento druh potvrzen jako agresivní primární patogen (Kile a Walker 1987, Kile a Hall 1988).

*Thielaviopsis punctulata* (teleomorfa *Ce. radiculicola*) byla také izolována z nadzemních částí i z půdy v blízkosti datlové palmy (*Phoenix dactylifera*), ovšem na rozdíl od *T. paradoxa* se její chlamydospory netvoří v řetízcích, ale jednotlivě. *T. basicola* a *T. thielavioides* jsou často izolovány jako patogeny kořenových systémů (Abdullah et al. 2009).

*T. neocaledoniae* (Obr. 15) parazituje na kávovníku (*Coffea robusta*) a na kvajávě (*Psidium guajava*) v Nové Kaledonii. Symptomy nákazy se projevují skvrnitostí a odbarvením svrchního dřeva v kořenech i spodních větvích, a nákaza prorůstá i do řezných ploch pařezů (Kiffer a Delon 1983, Kile a Walker 1987).



Obr. 15: *Thielaviopsis neocaledoniae*, a) konidie b) konidiofor zakončený fialidou. Převzato z Kiffer a Delon (1983).

### 2.3.6. *Xenochalara*

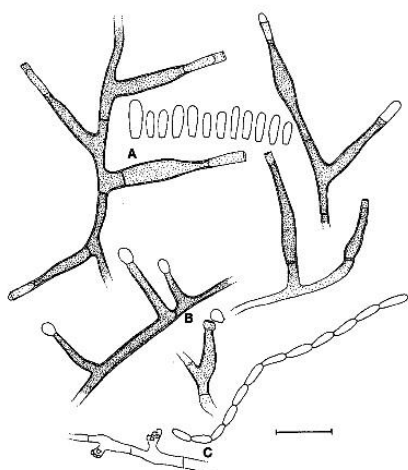
Rod *Xenochalara* zavedli Coetsee et al. (2000) na základě rozdílných znaků dvou anamorfních stádií druhu *Ceratocystis autographa*, kterou poprvé izoloval a popsal Bakshi (1951) z chodbiček brouků (*Dryocoetes autographus* a *Hylurgops palliatus*) žijících v kůře modřínu japonského (*Larix leptolepis*) v Anglii a ve Skotsku.

U častější *Chalara*-like anamorfy (Obr. 16) Bakshi pozoroval lahvicovité konidiofory s endogenními, řetízkovitými jednobuněčnými konidii, které byly hyalinní a měly soudkovitý tvar. Vzácněji se vyskytující *Sporothrix*-like anamorfa (Obr. 17) produkovala exogenní, hyalinní, kulaté až oválné konidie, které se tvořily jednotlivě nebo ve shlucích (Bakshi 1951, Coetsee et al. 2000). Tuto odlišnou morfologii ve svém pozorování potvrdili Hunt (1956), Nag Raj a Kendrick (1975) i Gams a Holubová-Jechová (1976).

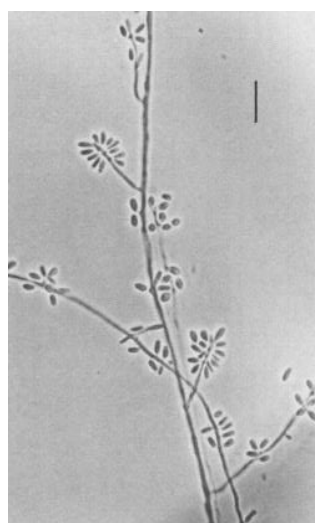
Gams a Holubová-Jechová (1976) získali izolát anamorfy *Ce. autographa* z jalovce (*Juniperus sp.*) pocházejícího z Holandska.

Téměř po dvaceti letech se Wingfield et al. (1995) znovu věnoval tomuto izolátu z jalovce a našel významné odchylky od typických znaků rodu *Chalara*. Rozdíly byly patrné na konidiích, a i když se tvořily v řetězcích, tak jako u rodu *Chalara*, měly odlišné propojení. U *Ce. autographa* bylo napojení v jednom místě, což ukazovalo na tvorbu konidií přes apikální stěnu (angl. *apical wall building*), na rozdíl od rodu *Chalara*, kde je napojení typicky dvojité, což poukazuje na vznik konidií skrz trubicovitý límeček fialidy (angl. *ring wall-building*) (Minter et al. 1983, Wingfield et al. 1995, Coetsee et al. 2000). Dalším rozlišujícím znakem je tolerance vůči cykloheximidu a obsah rhamnózy v buněčných stěnách (Rosinski a Campana 1964, Spencer a Gorin 1971, Harrington 1981).

Až Coetsee et al. (2000) stanovili nový monotypický rod *Xenochalara* s druhem *Xenochalara juniperi*. Mycelium rodu *Xenochalara* je typicky větvené a septované, hyfy bývají hladké i drsné, hyalinní až hnědé. Jednotlivé rovné konidiofory se formují ze vzdušného mycelia nebo zanořených hyf. Fialidická konidiogenní buňka má kuželovité až elipsoidní břicho, úzký obkónický až cylindrický límeček a vytváří řetězky hladkých, neseptovaných konidií. Druh *X. juniperi* netvoří chlamydostry (Coetsee et al. 2000). *Xenochalara juniperi* byla potvrzena jako saprotrof na tlejících jehlicích jalovce obecného (*Juniperus communis*) (Coetsee et al. 2000) i jako mykorhizní symbiont střevíčníku (*Cypripedium spp.*) (Shefferson et al. 2005).



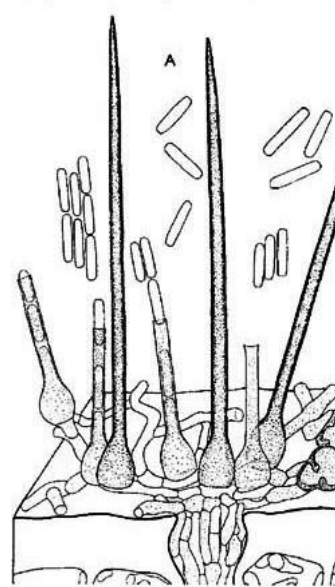
Obr. 16: *Xenochalara juniperi*, *Chalara*-like větvené, septované hyfy se soudkovitými konidiemi. Převzato z Coetsee et al. (2000).



Obr. 17: *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix*-like shluky oválných konidií na bočních konidioforech. Převzato z Dixon et al. (1991).

### 2.3.7. *Chaetochalara*

Rod *Chaetochalara* stanovili Sutton a Pirozynski (1965). Izolovali mikroskopickou houbu z rozkládajícího se listu cesmíny ostrolisté (*Ilex aquifolium*), kterou pojmenovali *Chaetochalara bulbosa* (Obr. 18). Od rodu *Chalara* jej odlišili jen na základě přítomnosti sterilních a podpůrných sětů, jinak byly jeho morfologické znaky totožné. Nag Raj a Kendrick (1975) v odlišení dvou rodů pokračovali a do rodu *Chaetochalara* řadili celkem šest druhů (*Ch. africana*, *Ch. bulbosa*, *Ch. aspera*, *Ch. setosa*, *Ch. cladii* a *Ch. ramosa*). Nicméně, pro druhy *Ch. aspera* a *Ch. cladii* popsali teleomorfy *Calycellina carolinensis*, respektive *Hyaloscypha cladii*. Až Kendrick (1980) doporučil přiřadit rod *Chaetochalara* k rodu *Chalara* a navrhl rozšířit determinační znaky rodu *Chalara* o nový morfologický rys – sěty.



Obr. 18: *Chaetochalara (Chalara) bulbosa*, fialidy a sěty prorůstající na povrch listu. Převzato z Sutton a Pirozynski (1965).

K jeho návrhu se ve své studii přiklonili i Kirk a Spooner (1984), kteří potvrdili totožnost druhů *C. cladii* a *Ch. cladii*. Oba druhy produkovaly sěty (ikdyž *C. cladii* značně méně) a spojovala je společná teleomorfa *Phaeocypha (=Hyaloscypha) cladii*. Označili rody *Chaetochalara* a *Chalara* za synonyma a všech šest známých druhů převedli do rodu *Chalara* (Kirk a Spooner 1984).

Cai et al. (2009) do své fylogenetické studie založené na sekvencích 18S a 28S rDNA zahrnuli i tři druhy rodu *Chaetochalara* (ačkoliv zmiňovali studii Kirk a Spooner (1984), stále se drželi původního pojmenování). Na základě molekulárních dat potvrdili, že všechny tři druhy rodu *Chaetochalara* byly příbuzné k různým druhům rodu *Chalara* a netvořily monofyletickou skupinu. Nicméně, autoři studie nevyklučují samostatné postavení ostatních druhů rodu *Chaetochalara*, protože do studie nezahrnuli typový druh *Ch. bulbosa*.

V rámci studie Johnston et al. (2014) byla doporučena a zavedena nová kombinace jmen pro druh *Calycellina carolinensis*. Vzhledem k tomu, že rod *Calycellina* je starší a má více druhů, jeho rodové jméno je zachováno a k němu je přiřazeno druhové jméno *aspera* vycházející z jména anamorfy (*Ch. aspera*), které je starší oproti epiteton *carolinensis*.

V dnešní době tak rod *Chaetochalara* není platným rodem a všichni jeho zástupci byli zařazeni do rodů *Chalara* a *Calycelina*.

## 2.4. EKOLOGIE RODU CHALARA

Rod *Chalara* je rozšířen kosmopolitně (Nag Raj a Kendrick 1975). Najdeme zde zástupce s různými ekologickými nároky od saprotrofů a endofytů až po parazity. Většina zástupců se živí saprotrofně na různých substrátech v temperátních oblastech (Holubová-Jechová 1984) i v tropech (Pinnoi et al. 2006). Saprotrofní druhy často osidlují rostlinný opad, některé jsou vázané pouze na konkrétní typ substrátu. Hojně se vyskytují na jehlicích, borce, šiškách i dřevě jehličnatých stromů (Nag Raj a Kendrick 1975, Holubová-Jechová 1984). Endofytičtí zástupci rodu *Chalara*, tj. druhy, které žijí uvnitř pletiv hostitelské rostliny, ale na povrchu nevykazují žádné symptomy (Petrini et al. 1993), byli nalezeni v listech a stoncích (*C. vaccini*) (Carris 1988), kořenech (*C. angustata*) (Kowalski a Halmschlager 1996) a jehlicích jehličnatých dřevin (*C. longipes*, *C. holubovae*) (Koukol 2011). Mezi druhy rodu *Chalara* patří i několik parazitických zástupců napadající stromy (*C. fraxinea*, *C. australis*) (Kile a Walker 1987, Kowalski 2006), lišejníky (*C. pseudocyphellariae*) (Etayo a García Sancho 2008) i živočichy (*Chalara hyalina*) (Morgan-Jones et al. 1984).

V této části práce zmiňuji zástupce rodu *Chalara* se zajímavými ekologickými nároky.

### 2.4.1. *Chalara fraxinea*

Druh *Chalara fraxinea* byl popsán v Polsku (Kowalski 2006) ve spojení s odumíráním jasanu ztepilého (*Fraxinus excelsior*) všech věkových kategorií. Počátkem 90. let 20. století bylo v severozápadní části Polska zpozorováno značné množství odumřelých jasanů a nákaza se rychle šířila po celé zemi, do okolních států a na další evropské druhy jasanů. Dnes se toto onemocnění vyskytuje téměř v celé Evropě a nese název nekróza jasanu (angl. *ash dieback*). Zpočátku se napadení projevuje jako malé nekrotické léze na kůře, řapících, větvích i v xylému. V pozdějších stádiích skvrny rostou, což vede k vadnutí listů, prosychání koruny (Obr. 19) a postupnému odumírání celého stromu (Kowalski



Obr. 19: Prosychající koruna jasanu způsobená rodem *Hymenoscyphus fraxineus*. Převzato z Koukol a Havrdová (2014).

a Lukomska 2005, Kowalski 2006). Nákaza se šíří pomocí askospor nesených vzduchem. Askospory jsou vytvářeny v apotheciích teleomorfy druhu *Hymenoscyphus* (= *H. pseudoalbidus*) *fraxineus* (Helotiales), jenž byl do roku 2010 nesprávně zaměňován s jeho příbuzným, morfologicky velmi podobným druhem s názvem *H. albidus*, který je jen neškodným saprotrofem. Od druhu *H. fraxineus* se morfologicky liší menšími rozměry askospor (Queloz et al. 2011). Patogenní druh *H. fraxineus* tvoří v opadu plodnice na řapících listů z předchozí vegetační sezóny, další cesty šíření jsou možné přes hmyzí vektory, dřevo a pravděpodobně i semena, jež pomáhají šíření nákazy na velké vzdálenosti (Jankovský et al. 2008, Cleary et al. 2013). Zřejmě je dobře adaptován na nižší teploty a dokonce dobře prospívá a roste jak na podzim, tak i v zimě (Cech 2008).

Morfologická stavba *C. fraxinea* (Obr. 20) je typická subcylindrickou, obklíknovitou, někdy lahvicovitou fialidou, krátkým, cylindrickým až elipsoidním bříškem a cylindrickým límečkem. Přechod mezi bříškem a límečkem bývá pozvolný, někdy náhlý. Od ostatních druhů rodu *Chalara* se morfologicky liší zejména malými, krátkými cylindrickými konidii, které se tvoří nejčastěji ve shlucích se slizovým obalem (Kowalski 2006).

Velmi zajímavá je samotná funkce konidií *C. fraxinea*. Byly provedeny izolace askospor teleomorfního druhu *H. fraxineus*, askospory sice klíčily, ale nebyly fertlní. Z molekulárních analýz DNA vyšlo najevo, že druh *H. fraxineus* je druhem heterothalickým, tzn. že pro pohlavní proces je třeba dvou mycelií s odlišným párovacím typem. Pokud se setkají mycelia s odlišným párovacím typem, může dojít k oplození samičího askogonu samčí hyfou nebo spermácií (nepohyblivá gameta). A právě jako spermácie mohou sloužit konidie vytvořené konidiogenní buňkou anamorfy (*C. fraxinea*). Tudíž samostatné konidie u tohoto druhu neslouží k šíření, ale k pohlavnímu procesu. Díky rovnoměrnému a hojnému zastoupení obou párovacích typů je druh *H. fraxineus* poměrně úspěšný v šíření (Gross et al. 2012, Koukol a Havrdová 2014).

Prognózy na přežití jasanů v Evropě nejsou nejčernější. Odhaduje se, že sice utrpí poměrně velkou redukci populace, ale pravděpodobně nevymřou úplně (Jankovský a Holdenrieder 2009).

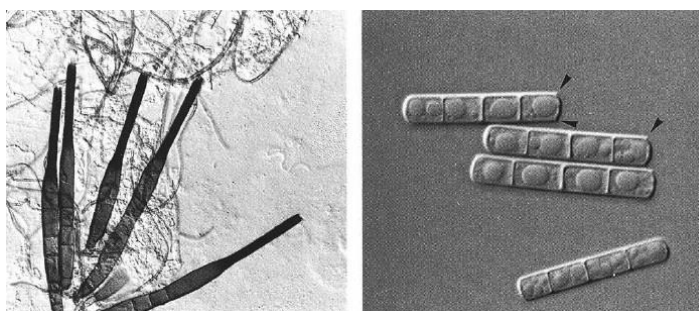


Obr. 20: *Chalara fraxinea* fialidy produkující konidie. Převzato z Koukol a Havrdová (2014).

### 2.4.2. *Chalara angustata*

*Chalara angustata* se vyskytuje jako endofyt tenkých kořenů (max. 10 mm) zdravých i odumírajících dubů (*Q. petraea* a *Q. robur*). Od ostatních druhů rodu *Chalara* se odlišuje zejména hyalinnými, více septovanými konidii (3-6 sept), jež se tvoří v rozpadavých řetězcích, mají tupý apex s uťatou bází nesoucí volánek (Obr.21), morfologií fialid a pomalu rostoucími koloniemi. Právě delší doba růstu kolonií na médiu je pravděpodobně důvodem pozdějšího prvotního nálezu (Kowalski a Halmschlager 1996).

Vegetativní hyfy jsou hyalinní až subhyalinní, místy se ztlustlinami, které jsou tenkostěnné a hladké. Chlamydospory tento druh netvoří. Subcylindrické nebo lahvicovité fialidy mají subcylindrické až elipsoidní bříško, náhle ústící v cylindrický límeček, který je tmavší než bříško. (Kowalski a Halmschlager 1996).



Obr. 21: *Chalara angustata*, tmavě zbarvené konidiofory a septované konidie (některé s volánkem). Převzato z Kowalski a Halmschlager (1996).

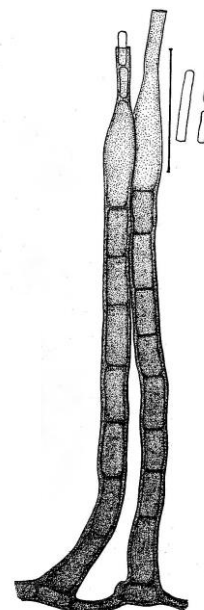
### 2.4.3. *Chalara longipes*

Historicky první nález tohoto druhu popsal Preuss (1851) jako *Cylindrosporium longipes* z borové jehlice (*Pinus sylvestris*). Do rodu *Chalara* jej přesunul Cooke (1881) a označil jako *C. longipes*. Podrobnou charakteristiku druhu *C. longipes* do své monografie rodu *Chalara* zahrnuli rovněž Nag Raj a Kendrick (1975). Další dva nálezy byly potvrzeny z Floridy z řapíků palmy serenoj pilovité (*Serenoa serrulata*) (Sutton 1978), nicméně Koukol (nepubl.) při revizi těchto položek zjistil, že se jedná o druh *C. ellisii*.

*C. longipes* je potvrzeným saprotrofním a endofytickým druhem v různých částech jehličnatých stromů (*Picea abies*, *Pinus mugo*, *Pinus* sp., *Pinus sylvestris*). Vyskytuje se zejména v jehličí z opadu i v zelených jehlicích spadáných větrem a byla detekována i v rhizosféře jedle bělokoré (*Abies alba*) (Holubová-Jechová 1984, Boberg et al. 2011). Ve finské studii (Rajala et al. 2014) byla *C. longipes* z endofytů ve smrkových jehlicích (*Picea abies*) druhým nejčastějším druhem a v opadové zóně smíšených jehličnatých lesů (smrk+borovice) ve Švédsku byl tento druh *C. longipes* detekován nejčastěji (Söderström a

Bååth 1978). Koukol (2011) se ve své studii věnoval srovnání morfologických a molekulárních znaků izolátů z jehličnatého opadu a položkám z herbářových sbírek. Většina izolátů náležela druhu *C. longipes* a molekulárními metodami 28S rDNA, EF-1 $\alpha$  se tento druh ukázal jako parafyletický. Kmeny s dlouhými, rovnými konidiofory a fialidami (bříšky) stejně širokými jako konidiofory zde byly popsány jako nový druh *C. recta* (Koukol 2011).

Konidiofory *C. longipes* jsou silnostěnné, vzpřímené, septované, cylindrické, zbarvené do hněda, ale světlejší u vrcholu. Fialidy jsou lahvicovité, světle hnědé, u báze tmavší, přechod mezi subcylindrickým bříškem a cylindrickým límečkem je náhlý. Jednobuněčné, hyalinní konidie mají cylindrický tvar s uťatými nebo tupými konci (Obr. 22) (Cooke 1881, Nag Raj a Kendrick 1975).



Obr. 22 : *Chalara longipes*, silnostěnné konidiofory. Převzato z Nag Raj a Kendrick (1975).

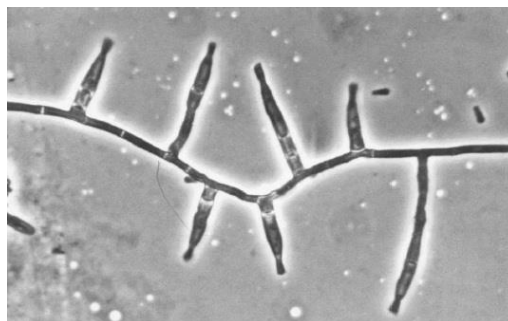
*C. longipes* je propojena s teleomorfním stádiem *Antinoo juniperinella* (Koukol os. sděl.).

Druh *C. longipes* je jediný zástupce rodu *Chalara* osekvenovaným genomem (velikost genomu 52.4 Mbp ) (<http://genome.jgi.doe.gov/Chalo1/Chalo1.home.html>, stav 20.5.2014).

#### 2.4.4. *Chalara vaccinii*

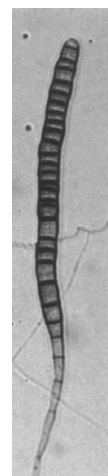
*Chalara vaccinii* byla popsána jako endofyt klikvy velkoplodé (*Vaccinium macrocarpon*) v New Jersey (Carris 1988). Izoláty byly získány jak ze zdravých, tak i nekrotických listů a stonků klikvy, což svědčí o tom, že *C. vaccinii* není patogenním druhem.

Subhyalinní až světle hnědé hyfy nesou hnědé, cylindrické, více septované konidiofory, které jsou zakončeny lahvicovitými, světle hnědými fialidami s obkónickým límečkem (Obr. 23). Z límečku jsou v řetízcích vytlačovány neseptované, hyalinní, klínovité konidie s oblým



Obr. 23: *Chalara vaccinii*, fialidy s obkónickým límečkem. Převzato z Carris (1988).

vrcholem a uťatou bází. Po dvou týdnech v kultuře produkuje druh *C. vaccinii* typické rozpadavé konidie – fragmospory (Obr. 24), tzn. spory, které vznikají holoblasticky ze vzdušných i zanořených hyf. Cylindrické, tlustostěnné fragmospory bývají více septované (4-81) a většinou sympodiálně větvené. Právě fragmospory odlišují *C. vaccinii* od druhu *Infundichalara microchona*, který má podobné fialidy s obkónickým límečkem. Rozdíly jsou zřejmé i při srovnání ITS rDNA. Sekvence typového kmene uložená v databázi GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) je nejvíce podobná sekvencím z různých zástupců řádu Sordariales. Dalším typickým znakem jsou sklerocia (hyfální struktury pro přečkání nepříznivých podmínek), která se na okrajích kultury tvoří po třech měsících kultivace. Sklerocia se na médiu tvoří jak povrchově, tak i zanořené do substrátu. Na povrchu sklerocia produkují výrazné hnědé chlupy a někdy se v jejich doprovodu tvoří krčkovité (angl. *neck-like*) výrůstky (Carris 1988).



Obr. 24: *Chalara vaccinii*, fragmospora. Převzato z Carris (1988).



### 3. Závěr a výhledy diplomové práce

Rod *Chalara* je zajímavou skupinou anamorfních mikroskopických hub, která sdružuje druhy se stejnou morfologickou stavbou v rámci podkmenu Pezizomycotina. Existuje jistá možnost, že v budoucnu bude tento polyfyletický konglomerát poznán natolik, že všechny jeho dosavadní zástupci budou přiřazeni ke svým teleomorfním stádiím a přejmenováni, a tudíž nebude třeba tento umělý rod dále udržovat. Na druhou stranu, i když je tento rod polyfyletický, je typifikován druhem *C. fusidioides*, jehož pozice v systému není kvalitně podpořena, neboť je od druhu *C. fusidioides* známa pouze jedna sekvence (GenBank). Pokud se podaří odhalit pravou pozici v systému tohoto klíčového zástupce, je možné, že rod zůstane zachován. Další těžkostí při studiu rodu *Chalara* je fakt, že většina vědeckých studií se věnuje význačným druhům, jako je *C. fraxinea*, a ostatní zástupce opomíjí.

Cílem této práce bylo shrnout dosavadní znalosti z hlediska morfologie, fylogeneze a ekologie některých význačných druhů rodu *Chalara* a jeho morfologicky příbuzných rodů.

Tato literární rešerše by měla sloužit jako základ pro moji navazující diplomovou práci, ve které hodlám pokračovat ve studiu rodu *Chalara*. Budoucí práci bych ráda založila na vlastních sběrech opadu jehličnatých dřevin České republiky a dalších evropských států, případně na rozboru dostupných herbářových položek. Po *invitro* kultivaci budu k určení druhů využívat morfologické znaky rozšířené o molekulární analýzy. Mým záměrem bude pokud možno získat izoláty druhů, které nebyly dosud studovány na základě molekulárních dat, získat z nich DNA, zařadit je do fylogenetického systému a pokusit se najít blízké teleomorfy.

#### 4. Použitá literatura:

- Abdullah, S. K., L. Asensio, E. Monfort, S. Gomez-Vidal, J. Salinas, L. V. L. Lorca a H. B. Jansson (2009). Incidence of the two date palm pathogens, *Thielaviopsis paradoxa* and *T. punctulata* in soil from date palm plantations in Elx, South-East Spain. *Journal of Plant Protection Research* **49**(3): 276-279.
- Arendholz, W. a R. Sharma (1984). Observations on some eastern Himalayan Helotiales. *Mycotaxon* **20**(2): 633-680.
- Bakshi, B. (1951). Development of perithecia and reproductive structures in two species of *Ceratocystis*. *Annals of Botany* **15**(1): 53-62.
- Boberg, J. B., K. Ihrmark a B. D. Lindahl (2011). Decomposing capacity of fungi commonly detected in *Pinus sylvestris* needle litter. *Fungal ecology* **4**(1): 110-114.
- Cai, L., W.-P. Wu a K. D. Hyde (2009). Phylogenetic relationships of *Chalara* and allied species inferred from ribosomal DNA sequences. *Mycological progress* **8**(2): 133-143.
- Carris, L. (1988). *Chalara vaccinii* sp. nov., a *Vaccinium* endophyte. *Mycologia* **80**(6): 875-879.
- Cech, T. L. (2008). Eschenkrankheit in Niederösterreich—neue Untersuchungsergebnisse. Bundesforschungs-und Ausbildungszentrum für Wald, Naturgefahren und Landschaft (BFW) Institut für Waldschutz **43**: 24.
- Cleary, M., N. Arhipova, T. Gaitnieks, J. Stenlid a R. Vasaitis (2013). Natural infection of *Fraxinus excelsior* seeds by *Chalara fraxinea*. *Forest Pathology* **43**(1): 83-85.
- Coetsee, C., M. Wingfield, P. Crous a B. Wingfield (2000). *Xenochalara*, a new genus of dematiaceous hyphomycetes for *Chalara*-like fungi with apical wall building conidial development. *South African journal of botany* **66**(2): 99-103.
- Cole, G. T. (1975). The thallic mode of conidiogenesis in the Fungi Imperfecti. *Canadian Journal of Botany* **53**(24): 2983-3001.
- Cooke, M. C. (1881). New British fungi *Grevillea* **10**(54): 50.
- Corda, A. C. J. (1838). *Icones fungorum hucusque cognitorum.*, Prague.
- Crous, P. W. a J. Z. Groenewald (2010). Fungal planet 55 *Xenopolyscytalum pinea*. *Persoonia* **25**: 130-131.
- De Seynes, J. (1886). De la Formation de corps reproducteurs appelés Acrospores. *Recherches pour servir a l'Histoire naturelle des végétaux inférieurs* **3**: 30.
- Dixon, D. M., I. Salkin, R. Duncan, N. Hurd, J. Haines, M. Kemna a F. Coles (1991). Isolation and characterization of *Sporothrix schenckii* from clinical and environmental sources associated with the largest US epidemic of sporotrichosis. *Journal of clinical microbiology* **29**(6): 1106-1113.

Etayo, J. a L. García Sancho (2008). Hongos liquenícolas del sur de Sudamérica, especialmente de Isla Navarino (Chile).

Gams, W. a V. Holubová-Jechová (1976). *Chloridium* and some other dematiaceous *Hyphomycetes* growing on decaying wood. *Studies in Mycology* **13**: 1-99.

Gross, A., P. Zaffarano, A. Duo a C. Grünig (2012). Reproductive mode and life cycle of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. *Fungal Genetics and Biology* **49**(12): 977-986.

Grove, W. B. (1885). New or noteworthy fungi. *Journal of botany, British and foreign* **23**: 167.

Harrington, T. (1981). Cycloheximide sensitivity as a taxonomic character in *Ceratocystis*. *Mycologia* **73**(6): 1123-1129.

Höhnelt, F. v. (1902). Fragmente zur Mykologie I Mitteilung Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften, Wien **111**: 987-1056.

Höhnelt, F. X. R. (1904). Zur Kenntnis einiger Fadenpilze. *Hedwigia* **43**(4): 295-299.

Holubová-Jechová, V. (1984). Lignicolous Hyphomycetes from Czechoslovakia 7. *Chalara*, *Exochalara*, *Fusichalara* and *Dictyochaeta*. *Folia geobotanica et phytotaxonomica* **19**(4): 387-438.

Hosoya, T. a Y. Otani (1997). Hyaloscyphaceae in Japan (1): Non-glassy-haired members of the tribe Hyaloscyphaeae. *Mycoscience* **38**(2): 171-186.

Hughes, S. J. (1949). Studies on micro-fungi. II. The genus *Sporoschisma* Berkeley & Broome and a redescription of *Helminthosporium rousselianum* Montagne. *Mycological Papers* **31**: 1-34.

Hunt, J. (1956). Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. *Lloydia* **19**: 1-58.

Jankovský, L. a O. Holdenrieder (2009). *Chalara fraxinea*—ash dieback in the Czech Republic. *Plant Protection Science* **45**(2): 74-78.

Jankovský, L., D. Palovčiková a M. Dvořák (2008). Alien diseases of woody plants in the Czech Republic. *Forstschutz Aktuell* **44**: 32-34.

Johnston, P. R., K. A. Seifert, J. K. Stone, A. Y. Rossman a L. Marvanová (2014). Recommendations on generic names competing for use in Leotiomycetes (Ascomycota) IMA Fungus, *The Global Mycological Journal* **5**(1): 91-120.

Kendrick, B. (1980). The generic concept in *Hyphomycetes* a reappraisal. *Mycotaxon* **11**(1): 339-364.

Kiffer, E. a R. Delon (1983). *Chalara Elegans*: (*Thielaviopsis basicola*) and allied species. II. Validation of two taxa [Fungi, new taxa]. *Mycotaxon* **18**(1): 165-174.

- Kile, G. a M. Hall (1988). Assessment of *Platypus subgranosus* as a vector of *Chalara australis*, causal agent of a vascular disease of *Nothofagus cunninghamii*. New Zealand Journal of Forestry Science **18**(2): 166-186.
- Kile, G. a J. Walker (1987). *Chalara australis* sp nov (*Hyphomycetes*), a Vascular Pathogen of *Nothofagus cunninghamii* (*Fagaceae*) in Australia and Its Relationship to Other *Chalara* Species. Australian Journal of Botany **35**(1): 1-32.
- Kirk, P., P. Cannon, D. Minter a J. Stalpers (2008). Dictionary of the Fungi, 10th edn.
- Kirk, P. a B. Spooner (1984). An account of the fungi of Arran, Gigha and Kintyre. Kew Bulletin **38**(4): 503-597.
- Koukol, O. (2011). New species of *Chalara* occupying coniferous needles. Fungal Diversity **49**(1): 75-91.
- Koukol, O. (2012). A new species of *Infundichalara* from pine litter. Mycotaxon **120**(1): 343-352.
- Koukol, O. a L. Havrdová (2014). Vřeckovýtrusná zkáza jasanů / Ascomycetous Doom of Ash Trees. Živa **1**: 7-10.
- Kowalski, T. (2006). *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. Forest Pathology **36**(4): 264-270.
- Kowalski, T. a E. Halmschlager (1996). *Chalara angustata* sp. nov. from roots of *Quercus petraea* and *Quercus robur*. Mycological Research **100**(9): 1112-1116.
- Kowalski, T. a A. Lukomska (2005). Studies of *Fraxinus excelsior* L. dieback in stands of Włoszczowa Forest Unit. Acta Agrobot **59**: 429-440.
- Lindau, G. (1907). Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. 8. Abteilung. Fungi imperfecti, Hyphomycetes. RABENHORST, L: Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz.—Leipzig.
- Minter, D., P. Kirk a B. Sutton (1983). Thallic phialides. Transactions of the British Mycological Society **80**(1): 39-66.
- Morgan-Jones, G., B. O. Gintis a R. Rodriguez-Kabana (1984). New species of *Chalara* and *Scytalidium* isolated from cysts of *Heterodera glycines*. Mycologia: 211-217.
- Nag Raj, T. a B. Kendrick (1975). A monograph of *Chalara* and allied genera, Wilfrid Laurier Univ. Press.
- Nag Raj, T. a W. Kendrick (1993). The anamorph as generic determinant in the holomorph: the *Chalara* connection in the Ascomycetes, with special reference to the ophiostomatoid fungi. Ceratocystis and Ophiostoma: taxonomy, ecology and pathology. American Phytopathological Society, St. Paul: 61-70.

- Paulin-Mahady, A. E., T. C. Harrington a D. McNew (2002). Phylogenetic and taxonomic evaluation of *Chalara*, *Chalaropsis*, and *Thielaviopsis* anamorphs associated with *Ceratocystis*. *Mycologia* **94**(1): 62-72.
- Paulin, A. E. a T. C. Harrington (2000). Phylogenetic placement of anamorphic species of *Chalara* among *Ceratocystis* species and other ascomycetes. *Studies in Mycology* **45**: 209-222.
- Petrini, O., T. N. Sieber, L. Toti a O. Viret (1993). Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural toxins* **1**(3): 185-196.
- Pinnoi, A., S. Lumyong, K. D. Hyde a E. G. Jones (2006). Biodiversity of fungi on the palm *Eleiodoxa conferta* in Sirindhorn peat swamp forest, Narathiwat, Thailand. *Fungal Diversity* **22**(1): 205-218.
- Preuss, G. T. (1851). Uebersicht untersuchter Pilze, besonders aus der Umgegend von Hoyerswerda. *Linnaea* **24**: 106.
- Queloz, V., C. Grünig, R. Berndt, T. Kowalski, T. Sieber a O. Holdenrieder (2011). Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. *Forest Pathology* **41**(2): 133-142.
- Rabenhorst, L. (1844). Deutschlands Kryptogamen-Flora: Bd. Pilze, E. Kummer.
- Rajala, T., S. M. Velmala, R. Vesala, A. Smolander a T. Pennanen (2014). The community of needle endophytes reflects the current physiological state of Norway spruce. *Fungal Biology*.
- Réblová, M. (1999). Teleomorph-anamorph connections in *Ascomycetes* 2. *Ascochalara gabretae* gen. et sp. nov. and its *Chalara*-like anamorph. *Sydowia* **51**: 210-222.
- Réblová, M., W. Gams a V. Štěpánek (2011). The new hyphomycete genera *Brachyhalara* and *Infundichalara*, the similar *Exochalara* and species of '*Phialophora sect. Catenulatae*' (Leotiomycetes). *Fungal Diversity* **46**(1): 67-86.
- Riedl, H. (1962). *Ceratocystis musarum* sp.n., die Hauptfruchtform der *Thielaviopsis*-Art von Bananenstielen. *Sydowia* **15**(1-6): 247-251.
- Riggs, W. a C. W. Mims (2000). Ultrastructure of chlamydospore development in the plant pathogenic fungus *Thielaviopsis basicola*. *Mycologia* **92**(1): 123-129.
- Rong, I. a W. Gams (2000). The Hyphomycete genera *Exochalara* and *Monilochaetes*. *Mycotaxon* **76**: 451-462.
- Rosinski, M. a R. Campana (1964). Chemical analysis of the cell wall of *Ceratocystis ulmi*. *Mycologia*: 738-744.
- Saccardo, P. A. (1880). Conspectus generum fungorum Italiae inferiorum, nempe ad Sphaeropsideas, Melanconieas et Hyphomyceteas pertinentium, systemate sporologico dispositorum. *Michelia* **2**: 1-38.

Shefferson, R. P., M. WEIß, T. Kull a D. Taylor (2005). High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. *Molecular Ecology* **14**(2): 613-626.

Söderström, B. E. a E. Bååth (1978). Soil microfungi in three Swedish coniferous forests. *Ecography* **1**(1): 62-72.

Spencer, J. a P. Gorin (1971). Systematics of the genera *Ceratocystis* and *Graphium*. Proton magnetic resonance spectra of the mannose-containing polysaccharides as an aid in classification. *Mycologia*.

Sutton, B. (1978). New and interesting hyphomycetes from Tampa, Florida. *Mycologia*: 784-801.

Sutton, B. C. a K. A. Pirozynski (1965). Notes on microfungi II. Transactions of the British Mycological Society **48**(3): 349-366.

Went, F. A. F. C. (1898). De Ananas-ziekte of het Zwar Rot veroorzaakt door *Thielaviopsis ethacetica*. De Ziekten van Het Suikerriet op Java **4**: 44.

Wilson Wijeratnam, R., I. Hewajulige a N. Abeyratne (2005). Postharvest hot water treatment for the control of *Thielaviopsis* black rot of pineapple. *Postharvest biology and technology* **36**(3): 323-327.

Wingfield, M., E. Benade, P. Van Wyk a C. Visser (1995). Conidium development in *Ceratocystis autographa*. *Mycological Research* **99**(11): 1289-1294.

**Internetové zdroje:**

<http://genome.jgi.doe.gov/Chalo1/Chalo1.home.html>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>