

**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Botanika

Studijní obor: Botanika - Mykologie



Bc. Jan Matouš

**Systematika rodu *Ramariopsis* (Basidiomycota, Clavariaceae) ve střední
Evropě**

Systematics of the genus *Ramariopsis* (Basidiomycota, Clavariaceae) in
central Europe

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Jan Holec, Dr

Konzultant: Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

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

V Praze dne 15.8.2017

.....

podpis

Poděkování:

Děkuji především mému školiteli Mgr. Janu Holcovi, Dr. za všestrannou pomoc, trpělivé a pečlivé vedení, za rady a připomínky, bez kterých by tato práce nemohla vzniknout a také za přátelský přístup, který mi byl při mém studiu oporou.

Velké díky patří také mému konzultantovi Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D. za velmi důležitou pomoc a cenné rady, které mi vždy ochotně poskytl.

Dále děkuji kolegům z katedry botaniky PŘF UK, kteří mi poskytli množství dobrých rad a názorů, především pak Kateřině Bundové, Adéle Čmokové, Ivaně Kelnarové, Františku Sklenářovi a Petru Zehnálkovi, kterému bych chtěl poděkovat obzvlášť.

Děkuji také mykologům, ať již profesionálním nebo amatérským, kteří mi poskytli své sběry rodu *Ramariopsis* nebo informace a data o nich – Světlaně Flekové, Martinu Hamadřákovi, Oldřichu Jindřichovi, Ivoně Kautmanové a Václavu Kautmanovi, Martinu Křížovi a Tereze Tejklivé.

Můj dík patří katedře Botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze za skvělé pracovní prostředí, bohaté možnosti a materiální zázemí, bez kterého by tato práce nemohla vzniknout. Veliký dík patří také Národnímu muzeu, také za skvělé pracovní prostředí a za všestrannou a finanční podporu (mj. možnost bezplatně využívat SEM) umožněnou Ministerstvem kultury v rámci institucionálního financování dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace Národní muzeum (DKRVO 2017/08, 00023272).

V neposlední řadě musím poděkovat své rodině a přítelkyni za obrovskou podporu, morální i materiální. Za to, že pro mě byli vždy oporou.

Abstrakt:

Rod *Ramariopsis* (Clavariaceae, Agaricales) zahrnuje ve střední Evropě kolem 15 druhů s kuřátkovitými, vzácněji kyjankovitými plodnicemi. Jedná se pravděpodobně o saprotrofní druhy, které se vyskytují obvykle v lučních společenstvech nebo vzácněji na otevřených stanovištích v křovinách či listnatých lesích. V této práci bylo studováno 88 sběrů tohoto rodu především z České republiky a Slovenska, z nichž bylo získáno 57 sekvencí pro úsek LSU a 36 sekvencí pro úsek ITS. Na základě molekulárně-fylogenetických analýz metodami maximum likelihood a bayesovské analýzy byly vytvořeny fylogenetické stromy, které ukázaly 16 dobře podpořených kladů. Takto podrobná studie o fylogenezi a mezidruhových vztazích v rámci rodu *Ramariopsis* je představena vůbec poprvé, a to i v rámci světové literatury. Po následné morfologické analýze podpořené také SEM fotografiemi spor bylo zjištěno, že získané klady reprezentují devět druhů známých v taxonomické literatuře, tři zatím nepopsané druhy (označené provizorním jménem) a čtyři klady, jejichž interpretace je zatím nejistá. Sedm kladů tedy představuje odhalenou skrytou diverzitu, která byla v tomto rodě prokázána ve vysoké míře. Mezi další výsledky patří již publikovaný popis nového druhu *Ramariopsis robusta* Matouš et Holec a zjištění dvou nových taxonů pro území České republiky - *Ramariopsis rufipes* a *Ramariopsis kunzei* var. *bispora*. Ukazuje se také, že jména *Ramariopsis biformis*, *R. tenuiramosa* a *R. tenuicula* jsou s velkou pravděpodobností synonymní. Druh *Clavulinopsis microspora* byl zjištěn jako pravděpodobné synonymum k druhu *Ramariopsis luteoohracea*. Všechny dobře podpořené taxony jsou představeny formou podrobných popisů, tabulí s fotografiemi plodnic, spor a kresbami hlavních mikroznačků. Jsou připojeny poznámky k taxonomii a rozlišení podobných a příbuzných druhů. Diagnostické znaky rozlišených taxonů jsou shrnuty v souborné tabulce. V diskusi je podrobně vyhodnocen taxonomický význam jednotlivých makro- i mikromorfologických znaků druhů rodu *Ramariopsis*.

Klíčová slova: *Ramariopsis*, LSU, ITS, fylogeneze, morfologie, taxonomie, skrytá diverzita

Abstract:

The genus *Ramariopsis* (Clavariaceae, Agaricales) having ramarioid, rarely clavarioid basidiomata includes about 15 species in central Europe. They are probably saprotrophic species which usually occur in grasslands or rarely open places in shrubs or deciduous forests. In this work, 88 collections of this genus mainly from the Czech Republic and Slovakia were studied, of which 57 sequences from the LSU and 36 from the ITS regions of the nuclear ribosomal RNA gene complex were obtained. Based on molecular-phylogenetic analyses using the maximum likelihood and bayesian methods, phylogenetic trees were created showing 16 well-supported clades. So detailed study on the phylogeny and relationships among species of the genus *Ramariopsis* is presented for first time, even within the world literature. Subsequent morphological analysis supported by SEM study of basidiospores showed that obtained clades represent nine species known in taxonomic literature, three so far non-described species (that were labelled with provisional names) and four clades whose interpretation is uncertain at the moment. Thus, seven clades represent cryptic diversity, which is a rather high extent. A new species *Ramariopsis robusta* Matouš et Holec has already been published and *Ramariopsis rufipes* and *Ramariopsis kunzei* var. *bispora* were documented from the Czech Republic for the first time. *Ramariopsis biformis*, *R. tenuiramosa* and *R. tenuicula* are shown to be possible synonyms. *Clavulinopsis microspora* is probably a synonym of *Ramariopsis luteoohracea*. All well-supported taxa are presented by detailed descriptions and plates with photographs of basidiocarps, basidiospores and line drawings of main microcharacters. Notes on taxonomy and delimitation of similar and related species are added. Diagnostic characters of accepted taxa are summarized in a table. Taxonomic value of individual macro- and microcharacters within the genus *Ramariopsis* is discussed.

Key words: *Ramariopsis*, LSU, ITS, phylogeny, morphology, taxonomy, cryptic diversity

Obsah:

1. Úvod.....	8
1.1. Všeobecný úvod a cíle práce.....	8
1.2. Morfologie.....	9
1.3. Ekologie a rozšíření.....	10
1.4. Stručný přehled vývoje systematiky rodu <i>Ramariopsis</i>	11
1.5. Problémy při studiu rodu <i>Ramariopsis</i>	12
1.6. Skrytá diverzita.....	13
2. Materiál a metodika.....	13
2.1. Studované sběry.....	13
2.2. Navštívené lokality.....	14
2.3. Literární zdroje.....	14
2.4. Morfologické studie.....	15
2.4.1. Makromorfologie.....	15
2.4.2. Mikromorfologie.....	15
2.4.3. Skenovací elektronový mikroskop (SEM).....	16
2.4.4. Popisy druhů a grafické tabule.....	16
2.5. Molekulární studie.....	17
2.5.1. Izolace DNA.....	17
2.5.2. PCR.....	17
2.5.3. Gelová elektroforéza.....	18
2.5.4. Purifikace.....	18
2.5.5. Fylogenetická analýza.....	19
3. Výsledky.....	22
3.1. Revize herbářového materiálu.....	22
3.2. Molekulárně-fylogenetická analýza.....	22
3.2.1. Analýza LSU.....	22
3.2.2. Analýza ITS.....	23
3.2.3. Shoda mezi LSU a ITS stromy.....	23
4. Taxonomická část.....	26
4.1. <i>Ramariopsis kunzei</i>	26
4.2. <i>Ramariopsis robusta</i>	30
4.3. <i>Ramariopsis luteoochracea</i>	35
4.4. <i>Ramariopsis crocea</i>	39

4.5.	<i>Ramariopsis minutula</i>	42
4.6.	<i>Ramariopsis minutissima</i>	45
4.7.	<i>Ramariopsis pulchella</i>	47
4.8.	<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i>	50
4.9.	<i>Ramariopsis</i> klad 3 (aff. <i>biformis</i> , <i>tenuicula</i> , <i>tenuiramosa</i>).....	53
4.10.	<i>Ramariopsis</i> klad 2 (aff. <i>avellaneoinversa</i>).....	59
4.11.	<i>Ramariopsis constrictospora</i>	62
4.12.	<i>Ramariopsis rufipes</i>	63
4.13.	<i>Ramariopsis</i> klad 4.....	67
4.14.	<i>Ramariopsis subtilis</i>	69
5.	Diskuse.....	75
5.1.	Potvrzené středoevropské druhy rodu <i>Ramariopsis</i>	75
5.2.	Fylogenetické vztahy v rodu <i>Ramariopsis</i> a skrytá diverzita.....	75
5.3.	Morfologické znaky, jejich diagnostická hodnota a proměnlivost.....	78
5.3.1.	Makromorfologické znaky.....	78
5.3.1.1.	Barva plodnic.....	78
5.3.1.2.	Velikost plodnic.....	79
5.3.1.3.	Ostatní makromorfologické znaky.....	79
5.3.2.	Mikromorfologické znaky.....	79
5.3.2.1.	Spory.....	79
5.3.2.2.	Bazidie.....	82
5.3.2.3.	Ostatní mikromorfologické znaky.....	82
5.3.3.	Elektronová mikroskopie spor.....	84
6.	Závěry.....	87
7.	Literární zdroje.....	88

1. Úvod

1.1 Všeobecný úvod a cíle práce

Rod *Ramariopsis* (Donk) Corner – kuřinec (Clavariaceae, Agaricales) je téměř kosmopolitně rozšířený rod hub s převážně kuřátkovitou morfologií plodnic. Jedná se pravděpodobně o saprotrofy, v Evropě obývající louky, pastviny či podobná otevřená stanoviště a světlé listnaté lesy (např. Olariaga 2009; Shiryaev 2009; Knudsen et Vesterholt 2012). Jedná se o jednu z bioindikačních skupin hub lučních společenstev (Adamčík et Kautmanová 2005).

V současné podobě zahrnuje čeleď Clavariaceae devět rodů, z nichž tři jsou lupenaté (*Camarophyllopsis* Herink, *Hodophilus* R. Heim, *Lamelloclavaria* Birkebak & Adamčík), dva kornatcovité (*Hyphodontiella* Å. Strid, *Mucronella* Fr.) a čtyři jsou tvořeny druhy s kyjankovitou nebo kuřátkovitou morfologií plodnic [*Clavaria* L., *Clavicornia* Doty, *Clavulinopsis* Overeem, *Ramariopsis* (Donk) Corner].

Kyjankovité houby čeledi Clavariaceae, včetně rodu *Ramariopsis*, byly vždy oproti ostatním bazidiomycetům skupinou mírně opomíjenou, co se týká množství autorů i publikací, které se jimi zabývají, i když od počátku 21. století se situace mírně zlepšuje a zájem o tyto houby roste. Stále jsou ale v jejich celkovém poznání značné mezery a tudíž jejich studium, ať již fylogeneze, taxonomie, ekologie či diverzity, má velký potenciál.

Nejdůležitějším českým badatelem na tomto poli byl Albert Pilát, který shrnul především diverzitu těchto hub na území bývalého Československa a v menší míře se věnoval i jejich taxonomii a ekologii (Pilát 1958, 1959, 1971, 1972, 1974). V pozdější době jsou informace o diverzitě i ekologii těchto hub na našem území velice kusé a systematicky se jim již žádný autor nevěnoval. Velká část druhů je přitom vzácná a ohrožená úbytkem a narušováním přirozených stanovišť a proto je jejich všeobecné poznání a studium důležité i pro jejich účinnou ochranu.

Hlavní cíle této diplomové práce jsou:

1. Konfrontovat různá pojetí jednotlivých druhů rodu *Ramariopsis* během vývoje poznání rodu, zjistit soulad současné morfologické koncepce druhů v zásadních taxonomických studiích s vlastními výsledky, pokusit se případné nesrovnalosti objasnit.
2. Zjistit případnou skrytou diverzitu v rodu *Ramariopsis* pomocí molekulární studie.

1.2 Morfologie

Rod *Ramariopsis* zahrnuje poměrně drobné houby o velikosti nejčastěji mezi 10–60 × 10–35 mm, vzácně větší, až do 100 mm výšky a 50 mm šířky, s převážně kuřátkovitou (ramarioidní), výjimečně i jednoduchou kyjankovitou (klavarioidní) morfologií plodnic. Větve jsou obvykle válcovité, vzácněji více či méně zploštělé (především v úžlabí větvení), vrcholy větví ostré až zaoblené, někdy bifurkátní, mírně zploštělé či hřebínkovité. Větvení je obvykle dichotomické, vzácněji trichotomické či polytomické, (0)1–5(6) násobné, úžlabí větvení bývá ve tvaru U, vzácněji V. Plodnice mohou být bílé, krémové, nahnědlé, krémově okrové až světle okrové, vzácněji žluté či fialové, časté jsou barevné přechody. Třeň je neodlišený od fertilní části nebo někdy slabě odlišený a mírně tmavší, na bázi někdy s bílým tomentem. Vůně je obvykle nezřetelná nebo vzácně velmi slabě houbová, bez chuti. Makrochemické reakce mohou být někdy šedavé s FeSO₄. S činidly TL4, KOH či gayak jsou negativní nebo slabé (Olariaga 2009).

Spory jsou elipsoidní, široce elipsoidní, téměř kulovité, vzácněji vejčité či kapkovité, o rozměrech 2,5–6 × 2,4–5 μm, které jsou tenkostěnné či mírně tlustostěnné, většinou slabě až výrazně ornamentované bradavkami či tupými ostny a jen vzácně hladké, obvykle neamyloidní, velmi vzácně slabě dextrinoidní, s hilárním apendixem dlouhým obvykle mezi 0,5–1 μm. Bazidie jsou úzce kyjovité až kyjovité, vzácněji téměř válcovité, obvykle tetrasporické, vzácněji bisporické či monosporické, tenkostěnné, někdy tlustostěnné, o rozměrech nejčastěji mezi 15–40 × 4–6,5 μm, velmi vzácně až 46 μm dlouhé, s přezkami na bázi (výjimkou je *R. kunzei* var. *bispora*). Hymenium široké 15–40 μm, vzácně až 50 μm, bez sterilních útvarů typu cystid či hyfidií (i když někteří autoři o nich referují – např. Petersen 1964). Subhymenium široké 10–33 μm, tvořené silně propletenými hyfami o šířce 1,5–4,5 μm, někdy mírně až silně nadmutými do 15 μm, vzácně až do 22 μm, s přezkami. Hyfy tramy větví souběžné, většinou hyalinní, široké 1,7–10,5 μm, vzácně nadmuté, do 21 μm, s přezkami (výjimkou je *R. kunzei* var. *bispora*). Hyfy třeně propletené, vzácněji souběžné, široké 1,5–8 μm, vzácně nadmuté, do 19 μm, s přezkami. Hyfový systém je monomitický.

Oba nejpodobnější rody z čeledi Clavariaceae (*Clavaria* L. a *Clavulinopsis* Overeem), které mají často totožné ekologické nároky jako druhy rodu *Ramariopsis*, se obvykle odlišují jednoduchými kyjankovitými plodnicemi (např. Pilát 1958; Olariaga 2009; Knudsen et Vesterholt 2012), existují ovšem výjimky s větvenými plodnicemi [*Clavaria zollingeri* Lév., *Clavulinopsis corniculata* (Schaeff.) Corner, *Clavulinopsis umbrinella* (Sacc.) Corner]. Rod *Clavaria* má bazidie i spory obvykle větších rozměrů. Spory jsou navíc většinou hladké. Liší se také absencí přezek ve všech částech plodnice. Pouze sekce *Holocoryne* Fr. má typické přezky na bázích bazidií. Rod *Clavulinopsis* zahrnuje druhy s hladkými, výrazně většími sporama (výjimkou je *Cu. helvola* se sporama pokrytými tupými ostny), delšími bazidiemi a někdy i přítomností krátkých hyfidií (např. Olariaga 2009).

V Evropě je záměna možná i s dalšími, méně příbuznými rody s kuřátkovitou morfologií plodnice, které patří do jiných čeledí, potažmo řádů (např. *Clavulina* J. Schröt. či *Lentaria* Corner), a které se liší mikroskopicky a obvykle i ekologií.

1.3 Ekologie a rozšíření

Druhy rodu *Ramariopsis* jsou pravděpodobně saprotrofní (Olariaga 2009). V Evropě jejich plodnice najdeme na zemi, nejčastěji na polopřirozených, oligotrofních loukách, trávnicích či na extenzivně pasených loukách. Častý je výskyt také v křovinách, obvykle na okrajích luk a dále na otevřených místech v listnatých lesích. Vzácně mohou růst i na velmi zetlelém dřevě (Petersen 1964; 1978b; Olariaga 2009). Zajímavou výjimkou je *Ramariopsis subarcica* Pilát, v severní Evropě vázaný na subalpínské mokřady a v oblasti střední Evropy na otevřená vrchoviště subalpínského stupně (Daun et Nitare 1987; Knudsen et Shiryaev 2012; Vašutová et al. 2013; Nitare 2015; Halama et al. 2017). Pravděpodobně se jedná o glaciální relikv (Pilát 1974). Kromě České republiky, Slovenska (Pilát 1974; Vašutová et al. 2013) a nově i Polska (Halama et al. 2017), je tento druh znám převážně ze Severní Evropy (např. Daun et Nitare 1987; Knudsen et Shiryaev 2012; Nitare 2015), odkud je také popsán (Pilát 1971).

Zajímavé je, že zatímco v Evropě jsou druhy rodu *Ramariopsis* vázány spíše na luční společenstva, v Severní i Jižní Americe, Asii, Austrálii a na Novém Zélandu se jedná o převážně lesní houby, přičemž stejný trend můžeme pozorovat i u příbuzných rodů *Clavaria* a *Clavulinopsis* (Petersen 1966; 1969; 1978b; 1988; McAfee et Grund 1981).

Rod *Ramariopsis* je v České republice a na Slovensku zastoupen přibližně 10 druhy (Pilát 1958, 1971; Holec et Beran 2006; Holec et Adamčík 2008). Z Evropy je známo přibližně 13-15 druhů (např. Jülich 1984; Olariaga 2009; Shiryaev 2009; Knudsen et Vesterholt 2012), i když se dá předpokládat, že v důsledku především skryté diverzity je reálné číslo v celé Evropě o něco vyšší. Většina evropských zástupců tohoto rodu se vyskytuje i na jiných kontinentech a některé druhy se dají označit jako kosmopolitní. (*R. crocea*, *R. kunzei*, *R. pulchella* – viz Ekologie a rozšíření u příslušných druhů).

Když pomíneme velice málo známé druhy, jediným druhem, který je znám pouze z Evropy je patrně velmi vzácný *Ramariopsis luteonana* (Schild) Olariaga (Olariaga 2009). Veliké množství na jeden kontinent vázaných druhů je naopak známo z oblasti Austrálie a Nového Zélandu (Petersen 1978b; 1988). Jejich přítomnost v Evropě není ale zcela vyloučena, čemuž nasvědčuje např. nedávný nález původně novozélandského endemitu *Clavaria roseoviolacea* R.H. Petersen na Slovensku (Kautmanová 2014).

1.4 Stručný přehled vývoje systematiky rodu *Ramariopsis*

Rod *Ramariopsis* byl původně popsán jako podrod rodu *Clavaria* (Donk 1933) s typovým druhem *Clavaria kunzei* Fr. (dnes *Ramariopsis kunzei*) na základě větvených plodnic a kulovitých či téměř kulovitých, obvykle ostnitých či bradavčitých spor. V tomto vymezení zahrnoval ještě další 4 druhy: *Clavaria angulispota* Pat. (dnes *Scytinopogon*), *Clavaria pulchella* Boud. (dnes *Ramariopsis*), *Clavaria pyxidata* Pers. (dnes *Artomyces*) a *Clavaria subtilis* Fr. (dnes *Ramariopsis*).

Corner (1950) posléze povýšil *Ramariopsis* na rod, přičemž ho vymezil hlavně vůči rodu *Clavulinopsis* na základě především jemně ornamentovaných, malých spor s pravidelnějším rozmístěním ostnů a také hyf tramy s přezkami. V tomto pojetí obsahoval tento rod již 10 druhů.

Petersen (1969) rozdělil rod *Ramariopsis* na dva podrody. Podrod *Laevispora* definoval na základě hladkých spor a přítomnosti hysterochroických pigmentů (viz kapitola 5.3.1.1). Tento systém záhy odmítl Corner (1970). Výraznější změnu vymezení rodu *Ramariopsis* později navrhl Petersen (1978a) společně s rodem *Clavulinopsis*, který byl tímto autorem považován za polyfyletický. Na základě znaků, které do té doby nebyly považovány ostatními autory za důležité (délka hilárního apendixu, přítomnost či absence karotenů, obsah fenolických sloučenin, které zelenají v železitých solích, a v meioze tvorby buď čtyř, nebo osmi jader v bazidii), rozdělil rod *Clavulinopsis* do tří podrodů (*Acularia*, *Clavulinopsis* a *Paraclavaria*). Podrod *Clavulinopsis* dále rozčlenil na dvě sekce (*Cornicularia* a *Clavulinopsis*). Podrod *Acularia* a sekce *Cornicularia* podrodu *Clavulinopsis* byly společně přesunuty do rodu *Ramariopsis* na základě dlouhého hilárního apendixu, přítomnosti fenolických sloučenin, hysterochroických změn plodnic u některých druhů, absence karotenových barviv a tvorby osmi jader, z nichž čtyři putují do bazidiospor a další čtyři zůstávají v bazidiích. Tyto nově přiřazené druhy byly přeřazeny do podrodu *Donkella* Doty, který byl později synonymizován s podrodem *Laevispora* (Petersen 1988). Rod *Ramariopsis* s novým podrodem *Donkella* byl Petersenem (1978a) považován za příbuzný spíše rodům z čeledi Gomphaceae (především rodu *Clavariadelphus*) kvůli zezelenání v železitých solích, postmeotického jaderného dělení a nekarotenových pigmentů. Tento systém měl poměrně výraznou odezvu, ale spíše odmítavou (např. Jülich 1981) a většina pozdějších autorů se jím neřídí.

Systém navržený Petersenem (1978) byl zřejmě definitivně vyvrácen s příchodem moderních molekulárně fylogenetických metod, které odhalily příslušnost druhů podrodu *Donkella* do rodu *Clavulinopsis*. Také je zjištěna sesterská pozice rodů *Clavulinopsis* a *Ramariopsis*, přičemž oba jsou jasně potvrzeny jako součást čeledi Clavariaceae (Garcia-Sandoval et al. 2005; Kautmanová et al. 2012; Birkebak et al. 2013).

1.5 Problémy při studiu rodu *Ramariopsis*

Při studiu taxonomie tohoto rodu narážíme na několik problémů. V první řadě se jedná o jednoduchou stavbu plodnic a s tím související malé množství znaků, které se dají hodnotit. Některé makromorfologické znaky obvyklé u jiných hub nejsou vyvinuty ve větší škále (např. specifické vůně a chutě, sterilní hymeniální útvary jiné než bazidioly, znaky vztahující se ke klobouku hub, makroskopické hymeniální charakteristiky apod.). Dokonce i ekologické nároky většiny druhů vyskytujících se na území střední Evropy jsou velice podobné a odlišení na základě specifických ekologických nároků je možné pravděpodobně jen u *Ramariopsis subarctica* (viz. kapitola 1.3).

Především při hodnocení kvalitativních znaků často závisí jejich správná interpretace na zkušenosti a znalosti všech nejpodobnějších druhů, neboť obvykle neexistuje znak natolik specifický, aby byl nezaměnitelný s daným znakem u jiného druhu. Typickým příkladem je ornamentika spor, která je u mnoha druhů tohoto rodu velice podobná a jen podle jejího popisu není možné objektivně rozdílit mezi podobnými druhy vyhodnotit a správně jej aplikovat - přesto může být i v těchto případech tento znak nápomocný při odlišení druhu, je ovšem nutná zkušenost v hodnocení tohoto znaku nebo přímé srovnání se sporama podobných druhů.

S tímto problémem jde ruku v ruce další faktor, kterým je proměnlivost některých znaků. Tuto proměnlivost je při determinaci druhu nutné brát v potaz. Týká se to mikro- i makroznaků a v některých případech je relativně velmi výrazná (viz. kapitola 5.3).

Dalším faktorem ztěžujícím v některých případech správné vyhodnocení druhu je existence několika navzájem si odporujících druhových koncepcí. Pokud takováto situace vede k rozdělení mykologické veřejnosti na dva tábory, které označují stejným jménem (založeném na jednom bazidiomu) dva zjevně odlišné druhy, je pro neodborníka na inkriminovanou skupinu hub velmi složité se v situaci dobře zorientovat a jednotlivé sběry správně určit. Konkrétním příkladem mohou být odlišné koncepce druhu *Ramariopsis subtilis*, a sice sensu Lundell et Nannfeldt (1938) a sensu Bourdot et Galzin (1928) – viz poznámky k *R. subtilis*, nebo odlišné koncepce *R. tenuiramosa* – sensu Corner (1950) a sensu Petersen (1964). Danou situace je objektivně velice obtížné vyřešit, pokud neexistuje typový materiál daného druhu (jako v případě *R. subtilis*).

Výrazným problémem při studiu fylogeneze i taxonomie rodu *Ramariopsis* je neexistující typový materiál některých druhů, např. *R. kunzei*, *R. subtilis*, *R. subumbrinella* (Olariaga 2009). Pro jednoznačné vyřešení fylogenetických vztahů v rámci rodu a navazující taxonomické otázky bude nutné takové druhy znovu typifikovat a sekvence typových položek, spolu s existujícím typovým materiálem ostatních druhů, použít pro fylogenetickou analýzu.

Podobně jako u jiných skupin hub existuje i v rodu *Ramariopsis* značné množství platně publikovaných, ale nepoužívaných jmen. Jedná se většinou o druhy popsané z exotických oblastí

Afriky, Asie, Jižní Ameriky a Oceánie, kde po popsání konkrétních druhů evropskými nebo americkými mykology (např. Corner 1950, 1967; Petersen 1978b, 1988) již žádný následný výzkum neprobíhal a o druhu tak nejsou pozdější zprávy. Samozřejmě existují i případy, kdy je v moderní éře popsán v Evropě či v severní Americe velmi vzácný druh, o kterém nejsou údaje proto, že již později nebyl nalezen nebo může být určován chybně. Ať už se jedná o jakoukoliv z předchozích možností, v rodu *Ramariopsis* existuje zhruba 30 platně publikovaných, ale velice málo známých jmen, jejichž popisy je třeba brát v potaz.

1.6 Skrytá diverzita

Tento pojem označuje stav, kdy je v rámci taxonomické jednotky (zde druhu) existuje dva nebo více taxonů (zde kryptických druhů), které jsou si natolik podobné, že jsou klasifikovány pod jedním druhovým jménem, ačkoliv jsou fylogeneticky odlišné (Bickford et al. 2016). Míra skryté diverzity uvnitř druhů rodu *Ramariopsis*, podobně jako například i u příbuzných rodů *Clavaria* a *Clavulinopsis*, je poměrně vysoká (Birkebak 2013) a dá se očekávat, že při molekulárně fylogenetickém studiu tohoto rodu v celosvětovém měřítku, včetně druhů popsanych z tropických oblastí starého i nového světa, bude odhaleno množství skrytých taxonů.

2. Materiál a metodika

2.1 Studované sběry

V práci bylo studováno 45 vlastních sběrů druhů rodu *Ramariopsis* ze sezón 2013 a 2014. Sběry jsou uloženy v mém osobním herbáři (MAT), v herbáři PRC a PRM. Ostatní sběry (43) jsem si vypůjčil z herbářových sbírek muzeí (Mykologické oddělení Národního muzea: PRM, Slovenské národné múzeum: BRA) a ze soukromých herbářů Petra Zehnáka a Ondřeje Koukoly (KZP) či Ivony Kautmanové (SKX).

Kritériem pro výběr vypůjčených sběrů byl především dobře zachovalý materiál, dostatek informací o lokalitě a případně dostupná fotografie sběru. Některé důležité údaje (především GPS souřadnice a nadmořská výška) byly dostupné pouze u malého procenta položek. Také fotografický materiál obvykle chybí. Dalším kritériem výběru bylo jméno na položce a případná fotografie sběru – některé položky tedy byly vybírány jako potencionálně zajímavější.

Většina sběrů pochází z území České republiky a Slovenska. Malé množství sběrů, které zmiňuji v práci spíše okrajově, pochází z Panamy (3) a Finska (1).

Položky z mého soukromého herbáře (MAT), které byly studovány v této práci, budou posléze uloženy v herbářových sbírkách PRC a PRM. Mé sběry, které již byly do těchto herbářů uloženy, jsou uváděny s mým kódem (MAT) i s kódem příslušného herbáře PRC nebo PRM.

Mezi studované druhy nebyl zařazen *Ramariopsis subarctica* Pilát, který má v České republice extrazonální rozšíření, je extrémně vzácný a nemám kvalitní materiál k jeho studiu.

Studované sběry u každého druhu řadím geograficky, od západu na východ.

2.2 Navštívené lokality

Některé lokality byly předem vytipovány na základě předchozí návštěvy nebo doporučení kolegů, ostatní byly navštíveny po náhodném výběru. Některé lokality na Slovensku byly navštíveny již po předchozím mykologickém průzkumu Ivony Kautmanové. Navštívena byla především oligotrofní luční společenstva od nížin po horský stupeň, u kterých se jevila vysoká pravděpodobnost úspěšného nálezu. Několik lokalit představuje poměrně antropomorfizovaná stanoviště typu bývalých, nepříliš dlouho opuštěných polí. Dalším typem navštívených lokalit jsou křoviny podél luk či zarůstající sady. Celkem bylo navštíveno 35 lokalit (z toho 30 v České republice a 5 na Slovensku), na kterých byly nalezeny druhy rodu *Ramariopsis*. Na dalších zhruba deseti lokalitách jsem druhy tohoto rodu nezaznamenal. Lokality byly navštěvovány vždy v září až v listopadu, nejčastěji na Benešovsku (Posázaví), především v okolí Čerčan.

2.3 Literární zdroje

Údaje o rozšíření druhů čerpám především z prací speciálně zaměřených na houby čeledi Clavariaceae s kyjankovitou nebo kuřátkovitou morfologií plodnic, v nichž lze předpokládat relevantní informace a správná určení studovaných sběrů. V případě mimoevropského rozšíření jsem v ojedinělých případech, především u velmi vzácných druhů, použil i obecnější o mykobiote daného území – v takovém případě nemusí být druh dobře určený. Terminologii pro výškové stupně přejímám z práce Kotlaby (1984). Kategorie ohrožení druhů přejímám z práce Holec et Beran (2006).

Zkratky pro použité kategorie ohrožení:

- EX? (?extinct) – neznámý druh
- CR (critically endangered) – kriticky ohrožený druh
- DD (data deficient) – druh, o němž nejsou z hlediska jeho ohrožení dostatečné údaje.

Zkratky ve jménech taxonů (Stearn 2004):

- ad int. (ad interim) – provizorní jméno (zatím nepublikované platně)
- aff. (affinis) – blízký, podobný (komu, čemu), hraniční.

Citace týkající se rozšíření druhu jsou řazeny vždy geograficky, od západu na východ v rámci Evropy i v rámci světa, kde výchozím bodem je zvolena oblast západní Asie.

2.4 Morfologické studie

2.4.1 Makromorfologie

Popis makroznaků byl tvořen na základě vlastních čerstvých sběrů a fotografií a některé znaky byly zaznamenány také na suchém materiálu (viz níže). Část sběrů, především vypůjčených z herbářů, neobsahovala údaje o makromorfologii, proto nejsou popisy makroznaků u některých druhů a kladů úplné. U čerstvých sběrů byla změřena výška plodnice, šířka plodnice, šířka třeně a větví, zaznamenána barva, charakter vrcholů větví, úžlabí větvení, počet odvětvení, chuť, vůně a ohebnost plodnic. V některých případech byly rozměry plodnic z důvodu chybějících údajů měřeny na suchém materiálu. V takovém případě bylo ke zjištěným rozměrům připočteno 35% ze změřené délky (tato hodnota byla zjištěna jako průměrná při srovnávání výšek suchých plodnic s mými údaji o délce těchto sběrů v čerstvém stavu). Později byla zaznamenána barva plodnic po vysušení. Makrochemické reakce nebyly testovány. Třeň je v popisu druhů z praktického hlediska definován jako oblast po první odvětvení.

2.4.2 Mikromorfologie

Pro studium mikroznaků byly vzorky vloženy do 5% KOH po dobu 15 min., poté byl roztok KOH odsát a přidán vodný roztok Konžské červeni (0,25 g v 50 ml destilované vody) pro obarvení hymenia. Po zhruba pěti minutách byla konžská červeň odsáta a takto upravené vzorky byly pozorovány v Melzerově činidle. Pokud byly plodnice dostatečně fertillní, bylo u každého sběru změřeno 30 spor a délka jejich hilárního apendixu, 5-20 bazidií (v závislosti na množství nalezených a změřitelných bazidií) včetně délky sterigmat, šířka 20 hyf v subhymeniu, tramě větví a tramě třeně. Dále byly zjišťovány obecné charakteristiky spor (tvar, ornamentika, charakter buněčné stěny, reakce s Melzerovým činidlem), bazidií (tvar, počet sterigmat, přítomnost přezek na bázi), hyf (přítomnost přezek, nadmutých hyf, charakter tramy) a šířka hymenia a subhymenia. Mikroznaky byly pozorovány pomocí světelného mikroskopu Olympus BX51 s imerzním objektivem při zvětšení 1000x. Mikroznaky byly fotografovány digitálním fotoaparátem Olympus C50-50 a měřeny pomocí softwaru QuickPhoto micro 3.0 (Olympus). Nezralé (výrazně menší, obvykle ještě připojené ke sterigmatu a výrazně méně

ornamentované) nebo naopak extrémně velké spory nebyly měřeny. Pro každou sporu byl spočítán poměr délky a šířky (Q).

2.4.3 Skenovací elektronový mikroskop (SEM)

Použity byly suché, do 10 mm dlouhé kousky větví. Vzorky byly přilepeny k hliníkovým nosičům pomocí oboustranné lepicí pásky a vloženy do vakuové komory, kde byly pokryty ionty zlata. Poté byly pozlacené vzorky studovány pod skenovacím elektronovým mikroskopem Hitachi S-3700N v paleontologickém oddělení Národního muzea v Horních Počernicích. Fotografie byly pořízeny pomocí digitálního fotoaparátu.

2.4.4 Popisy druhů a grafické tabule

Popisy jednotlivých druhů byly vytvořeny ze všech uvedených studovaných sběrů. Vzorové zpracování popisu rozměrů spor a Q hodnot: (3,9)4,1–5,5(5,7) × (2,6)2,7–3,6(3,9) μm (prům. 4,53; 4,7; 4,8 × 2,9; 3,2; 3,39 μm), Q = 1,22–1,77, Q_{av} = 1,42; 1,47; 1,57.

Rozměry spor jsou udávány s 5 a 95% percentilem, v závorkách jsou minimální a maximální naměřené hodnoty. Průměrné rozměry spor, bazidií, hyf a hodnoty Q_{av} (průměr všech Q hodnot spor každého sběru) jsou oddělené středníky. V závorce s průměrnými hodnotami (prům.) vyjadřují krajní hodnoty minimální a maximální průměrnou hodnotu zaznamenanou u jednotlivých sběrů konkrétního kladu, zatímco prostřední hodnota je absolutní průměr spočítaný ze všech měřených znaků všech sběrů (tedy nikoliv průměrem průměrů všech sběrů). Tento systém je stejný u hodnot spor, bazidií i hyf. U průměrných délek hilárního apendixu prostřední hodnota chybí. Hyfy třeně byly zkoumány v jeho nejspodnějších částech.

Grafické tabule byly tvořeny výhradně ze studovaného materiálu a byly zpracovány v programech Microsoft Power Point 14 a CorelDraw Graphic Suite X7.

V tabulce 4 vyjadřují velikost ornamentiky spor pomocí číselného rozmezí. Tento systém o třech úrovních použil Olariaga (2009) v popisech druhů. Zde používám vlastní systém o čtyřech stupních.:

1. spory hladké nebo velmi jemně zdrsňelé (což je obvykle patrné jen při proostřování ve světelném mikroskopu)
2. spory jemně, ale zřetelně ornamentované tupými, nízkými bradavkami
3. spory výrazně ornamentované bradavkami až tupými ostny, obvykle do 1,0 μm dlouhými
4. spory velmi výrazně ornamentované bradavkami až tupými ostny dlouhými až 1,5 μm

Vysvětlení méně častých termínů:

- axil – úžlabí mezi dvěma větvemi plodnice, v principu mající buď tvar U nebo V
- hilární apendix – výběžek na boku spodní strany výtrusu (pozůstatek po spojení výtrusu se sterigmatem)
- suprahilární deprese – prohlubeň nad hilárním apendixem
- tomentum – vlášení tvořené rozvolněnými hyfami

2.5 Molekulární studie

2.5.1 Izolace DNA

Pro získání genetického materiálu byly použity sušené plodnice, z nichž byly sterilizovanou pinzetou odebrány kousky větví o délce cca 1-2 cm. DNA byla získána pomocí kitu ZR Plant/Seed DNA MiniPrep (Zymo Research, Kalifornie, USA) a pro pozdější použití uchovávána při -80°C.

2.5.2 PCR

PCR reakce pro vybrané úseky (LSU, ITS) probíhala za použití primerů pro dané úseky, uvedených v Tabulce 1. Reakce probíhala ve směsi o objemu 20, později 15 μ l. (Tab. 2). Podíl destilované vody, Master-mixu a DNA se měnil v závislosti na objemu primerů a v závislosti na použitém Master-mixu. Podíl primerů byl měněn (snižován) kvůli optimalizaci procesu, především v případech problémů s následným přečištěním primerů po PCR reakci. Po snížení podílu primerů byl objem směsi doplněn destilovanou vodou. Po snížení celkového objemu reakční směsi na 15 μ l byly upraveny objemy všech komponentů při zachování stejného poměru. Z důvodu dlouhodobě špatné kvality získávaných sekvencí byly pro oba studované úseky použity tři polymerázové mixy – 5PRIME MasterMix (5Prime, Německo), PPP MasterMix (Top-Bio, Česká republika) a Green PCR MasterMix (Biotechrabbit, Německo). Parametry PCR reakcí byly pro oba geny nastaveny takto:

1. **Iniciální denaturace:** 95°C po dobu 10 min, pro GreenPCR 95°C po 2 min
 2. **Denaturace:** 94°C po dobu 1 min
 3. **Nasednutí primerů:** 54°C po dobu 1 min
 4. **Elongace:** 72°C po dobu 1,5 min
 5. **Finální elongace:** 72°C po dobu 10 min
 6. **Chlazení:** 10°C
- } 32 cyklů

PCR byla provedena termocyklérem Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Německo).

Tab. 1 – Použité primery

úsek DNA	F = forward/R = reverse	název primeru	sekvence primeru
ITS	F	ITS1F	5' CTTGGTCATTTAGAGGAAGTA 3'
	R	ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATG 3'
LSU	F	NL1	5' GCATATCAATAAGCGGAGGAAAA 3'
	R	NL4	5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG 3'

Tab. 2 – Koncentrace komponentů směsi pro PCR

obj. směsi	Master mix (MM)	obj. master mixu	obj. dest. vody	obj. obou primerů	koncentrace primerů	obj. DNA	úsek DNA
20 μ l	5 PRIME MM	8 μ l	10-10,4 μ l	0,3 -0,5 μ l	25 pmol/ μ l	1 μ l	LSU, ITS
	PPP MM	10 μ l	8,4-8,9 μ l	0,3 μ l	25 pmol/ μ l	0,5-1 μ l	LSU, ITS
	Green PCR MM	10 μ l	8,4 μ l	0,3 μ l	25 pmol/ μ l	1 μ l	LSU, ITS
15 μ l	Green PCR MM	7,5 μ l	6,15 μ l	0,3 μ l	25 pmol/ μ l	0,75 μ l	LSU, ITS

2.5.3 Gelová elektroforéza

Gelová elektroforéza probíhala na agarózovém gelu s příměsí Ethidium bromidu v 1% roztoku TAE pufu. Do kolonek gelu byly nanášeny 3 μ l produktu, v závislosti na použitém mixu s 1 μ l barvy propidium jodid, sloužící jako vizualizátor postupujícího produktu nebo bez ní v případě použití Green PCR MasterMix. Elektroforéza probíhala při napětí 100 V po dobu 10-15 minut. Délka naamplifikovaného produktu byla zjištěna na základě srovnání s použitým žebříčkem O'Gene Ruler 100 bp Plus DNA Ladder Mix (Thermofisher scientific, USA).

2.5.4 Purifikace

Úspěšně naamplifikované úseky byly přečišťovány purifikačním kitem GeneAid Kit (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan). Při této metodě byly dodržovány postupy určené výrobcem, posléze byl pouze Elution buffer nahrazen destilovanou vodou. Z důvodu účinnosti přečišťování a úspory financí byl původní postup purifikace později nahrazen ethanolovým srážením pomocí octanu sodného následujícím postupem:

1. Do PCR reakční směsi (17 μ l z původních 20 μ l) byly přidány 2 μ l 3 molárního octanu sodného a 50 μ l 96% ethanolu. Po snížení objemu PCR produktu byly k 12 μ l (z původních 15 μ l) PCR produktu přidány 2 μ l 3 molárního octanu sodného a 30 μ l 96% ethanolu. Směs zvortexována a centrifugována po 1 min. při 490 rpm.
2. Inkubace při laboratorní teplotě 10-15 min.
3. Směs centrifugována po 30 min při 3700 rpm.
4. Supernatant slit otočením plata na položené ubrousky. Zbytek supernatantu slit z otočeného plata do ubrousku stočením v centrifuze po 1 min při 490 rpm.

5. Přidáno 100 μ l 70% ethanolu. Směs centrifugována po 10 min. při 3700 rpm.
6. Supernatant slit otočením plata na položené ubrousky. Zbytek supernatantu slit z otočeného plata do ubrousku stočením v centrifuze po 1 min při 490 rpm.
7. Dосуšení na termobloku 5 min na 65°C.
8. Rozpuštění peletky ve 20 μ l destilované vody.

Po přečištění vzorků byla pomocí MaestroNano Spectrophotometer (Maestrogen, Taiwan) zjištěna koncentrace DNA a na jejím základě upraveny objemy destilované vody a DNA produktu do směsi pro sekvenování. Konečný objem směsi pro sekvenování měl po přidání 1 μ l příslušného forward a reverse primeru (v koncentraci 3,2 pmol/ μ l) 8 μ l. Sekvenční analýzy byly provedeny Laboratoří sekvenace DNA (OMICS Core Facility, BIOCEV, Vestec, ČR).

2.5.5 Fylogenetická analýza

Editace získaných sekvencí byly provedeny v programu Geneious 6.1.5. Ve zmíněném programu byl na obou datasetech pomocí algoritmu MAFFT proveden také multialignment.

Vhodný model pro následnou bayesovskou analýzu byly vygenerovány v programu JModeltest 2.1.1 (Darriba et al. 2012) pomocí kritéria BIC. Analýza Maximum likelihood byla vytvořena programem MEGA6 (Tamura et al. 2013), bayesovská analýza byla provedena programem MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012). Fylogenetické stromy byly v případě analýz LSU i ITS získány metodou Bayesiánské interference (BI) v programu MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012). Použity byly dva paralelní běhy Monte Carlo Markovových řetězců (MCMC), každý se třemi horkými a jedním studeným řetězcem. Analýza LSU běžela po 6 000 000 generací, analýza ITS po 10 000 000 generací. Stromy byly zaznamenány každých 1000 generací. Na základě výsledků programu jModeltest (Posada, 2008) byly pro dataset LSU vybrány modely GTR+I+G a pro dataset úseku ITS byl zvolen model HKY+G. Pro LSU dataset byla jako outgroup použita *Mucronella pendula* (Massee) R.H. Petersen (Acc. Nr. HQ829921), pro ITS dataset pak sekvence *Mucronella bresadolae* (Quél.) Corner. (Acc. Nr. DQ384591).

Získané fylogenetické stromy byly upraveny v programech FigTree 1.4.2 (Rambaut et al. 2014), Adobe Illustrator a CorelDraw X7.

Tab. 3 – Sekvence použité pro fylogenetické analýzy LSU a ITS.

Zkratky: H – Holotyp, P – Paratyp, E – Epityp.

Taxon	Země původu	Herbářové číslo	Přístupový kód v GenBank	Úsek	Publikace
<i>Mucronella bresadolae</i>	Kanada	UBC F15204	DQ384591	ITS	nepublikováno
<i>Mucronella pendula</i>	Tasmánie	PBM 3437	HQ829921	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis atlantica</i>	Brazílie	URM 6985	KX227748	LSU	Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016)
<i>Ramariopsis atlantica</i> ^H	Brazílie	URM 84210	KX227747	LSU	Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016)
<i>Ramariopsis atlantica</i>	Brazílie	URM 84213	KX227746	LSU	Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016)
<i>Ramariopsis atlantica</i>	Panama	PRC 3980	LT837965	LSU	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis atlantica</i>	Panama	PRM 945425	LT837964	LSU	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis avellaneo-inversa</i> ^H	Nový Zéland	TENN043504	KP399950	LSU	nepublikováno
<i>Ramariopsis biformis</i>	USA	JMB 10061006	HQ877712	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis constrictospora</i> ad int.	Česká republika	BRA CR20425		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis constrictospora</i> ad int.	Slovensko	SKX3		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis cremicolor</i> ^H	Nový Zéland	RHP 55785	HQ877714	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis crocea</i>	Česká republika	MAT0041		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis crocea</i>	Česká republika	PRM945416/MAT0116		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis crocea</i>	Česká republika	MAT0155		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis crocea</i>	Slovensko	SAV F1255	GU299492	LSU	Kautmanová et al. (2012)
<i>Ramariopsis crocea</i>	USA	JMB 10071001	HQ877715	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis crocea</i> f. <i>conspicua</i> ^H	USA	RHP 3595/TENN031338	HQ877716, HQ222030	LSU, ITS	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis junquillea</i> ^H	Nový Zéland	RHP55786/TENN043449	HQ877718	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis</i> klad 1	Finsko	BRA CR19567		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 2	Česká republika	MAT0042		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 2	Česká republika	PRC 3976/ MAT0054		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 2	Slovensko	PRM 945420/MAT0129		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Česká republika	MAT0162		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Česká republika	PRM 945421/MAT0087		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Česká republika	PRM 945422/MAT0163		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Slovensko	BRA CR20544		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Slovensko	PRC 3977/MAT0078		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Slovensko	PRC 3978/MAT0130		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 3	Slovensko	SKX2		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0024		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0025		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0044		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0094		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0095		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis</i> klad 4	Česká republika	MAT0107		ITS	tato práce

<i>Ramariopsis kunzei</i>	Česká republika	BRA CR17281	LT837934	LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Česká republika	PRM 935145	LT837931	LSU	tato práce
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Česká republika	PRM 945415	LT837933	LSU	tato práce
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Slovensko	BRA CR15077	LT837935	LSU	tato práce
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Slovensko	BRA CR15092	LT837930	LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Wales	GG141104	GU187552	ITS	Binder et al. (2010)
<i>Ramariopsis kunzei</i> var. <i>bispora</i>	Slovensko	BRA CR25735/SKX5	LT837932	LSU	tato práce
<i>Ramariopsis</i> aff. <i>kunzei</i>	USA	JMB10071005	HQ877721	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis</i> aff. <i>kunzei</i>	USA	MR00183	HQ877720	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	BRA CR17292		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	MAT0043		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	MAT00100		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	PRC 3975/MAT0033		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	PRM 945419/MAT0088		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Česká republika	PRM 944563		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Slovensko	BRA CR20402		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis luteoochracea</i>	Slovensko	BRA CR25736/SKX4		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis minutissima</i> ad int.	Česká republika	PRM945418/MAT0115		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis minutissima</i> ad int.	Slovensko	MAT0076		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis minutula</i>	Česká republika	PRM 935108		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis minutula</i>	Česká republika	PRM 935144		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis pseudosubtilis</i> H	USA	RHP27722/TENN027722	HQ877723	LSU	Birkebak et al. (2013)
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Česká republika	MAT0063		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Česká republika	MAT0156		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Česká republika	PRM 890170		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Česká republika	PRM 933180		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Česká republika	PRM 944486		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis pseudotenuicula</i> ad int.	Slovensko	MAT0143		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Česká republika	PRM 922040		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Česká republika	PRM 945417/MAT0148		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Panama	PRC 3974/KZP 132		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis pulchella</i> ^E	Slovensko	BRA CR12765	GU299497	LSU	Kautmanová et al. (2012)
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Slovensko	BRA CR12766	GU299496	LSU	Kautmanová et al. (2012)
<i>Ramariopsis pulchella</i>	Austrálie	MEL 2382737	KP012920	ITS	nepublikováno
<i>Ramariopsis robusta</i> ^P	Česká republika	PRM 933826	LT837961	LSU	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis robusta</i> ^P	Česká republika	PRM 945411/MAT0101	LT837958	LSU, ITS	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis robusta</i> ^P	Česká republika	PRM 945424/MAT0164	LT837960	LSU	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis robusta</i> ^P	Slovensko	BRA CR3395	LT837963	LSU, ITS	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis robusta</i> ^P	Slovensko	BRA CR25525/SKX1	LT837962	LSU, ITS	Matouš et al. (2017)

<i>Ramariopsis robusta</i> ^H	Slovensko	PRM 945410/MAT0125	LT837959	LSU, ITS	Matouš et al. (2017)
<i>Ramariopsis rufipes</i>	Česká republika	PRM 894347		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis rufipes</i>	Česká republika	PRM 934826		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis rufipes</i>	Česká republika	PRM 935665		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	MAT0009		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	MAT0106		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	PRC 3979/MAT0096		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	PRM 860279		ITS	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	PRM 935102		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	PRM 935103		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Česká republika	PRM 945423/MAT0114		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Slovensko	BRA CR13123		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Slovensko	BRA CR20526		LSU, ITS	tato práce
<i>Ramariopsis subtilis</i>	Slovensko	MAT0074		LSU	tato práce
<i>Ramariopsis cf. subtilis</i>	Kanada	UWO: HA11/MO 222049	KY706174	ITS	nepublikováno
<i>Ramariopsis tenuiramosa</i>	Wales	GG 061104	EF535269	LSU	nepublikováno

3. Výsledky

3.1 Revize herbářového materiálu

Kombinací morfologických a molekulárních postupů jsem zrevidoval 43 položek z herbářových sbírek Národního muzea (PRM) a Slovenského národního muzea (BRA). Z celkového počtu revidovaných položek jsem u 24 potvrdil původní určení a 19 položek (44%) jsem přeuralil.

3.2 Molekulárně-fylogenetická analýza

DNA byla extrahována z 91 sběrů. Z tohoto množství bylo získáno 57 použitelných sekvencí pro LSU a 36 pro ITS. Z toho 24 sekvencí je zastoupeno v obou stromech.

Na základě LSU stromu s větším počtem sekvencí bylo zjištěno 15 kladů. Na základě ITS stromu je ve srovnání s LSU stromem rozlišen navíc pouze *Ramariopsis* klad 4, jehož sekvence v LSU stromě chybí

3.2.1 Analýza LSU (Fig. 1)

Fylogenetický strom založený na LSU byl vytvořen ze 77 sekvencí, dlouhých maximálně 623 pozic, z nichž 119 bylo parsimonně informativních a 170 variabilních. Bayesovská analýza ukázala 14 kladů o více než jedné sekvenci a jeden klad o jedné sekvenci. Z celkového počtu kladů bylo k devíti kladům možno přiřadit druhové jméno, ke třem kladům bylo přiřazení druhového jména nejednoznačné a tři

klady byly označeny provizorním druhovým jménem, jakožto potenciální nový druh. (blíže viz taxonomická část)

3.2.2 Analýza ITS (Fig. 2)

Fylogenetický strom založený na genu ITS byl vytvořen ze 41 sekvencí, dlouhých maximálně 1061 pozic, z nichž 221 bylo parsimonně informativních a 318 variabilních. Bayesovská analýza ukázala 13 kladů o více než jedné sekvenci a 1 klad o jedné sekvenci. Z celkového počtu kladů bylo k osmi možno přiřadit k druhové jméno, ke čtyřem kladům bylo přiřazení druhového jména nejednoznačné a tři klady byly označeny provizorním druhovým jménem, jakožto potenciální nový druh.

3.2.3 Shoda mezi LSU a ITS stromy

Kromě kladů *Ramariopsis minutula*, jehož sekvence chybí v ITS stromě a *R.* klad 4, jehož sekvence chybí ve stromě LSU, jsou všechny klady zastoupeny v obou zmíněných stromech. Zastoupení sběrů, jejichž sekvence jsou součástí jak LSU, tak ITS stromu je relativně malé (24 sekvencí), ale v obou stromech je jejich pozice vždy v rámci téhož kladu. Sekvence ve stromě ITS, které ve větším LSU stromě chybí, vždy náleží sběrům, které morfologicky jednoznačně zapadají do příslušného kladu definovaného v LSU stromě. V topologii tedy nejsou téměř žádné rozpory. Hlavními rozdíly jsou mírně odlišné pozice některých kladů v topologii stromu, např. *R. luteoohracea* a *R. pulchella*.

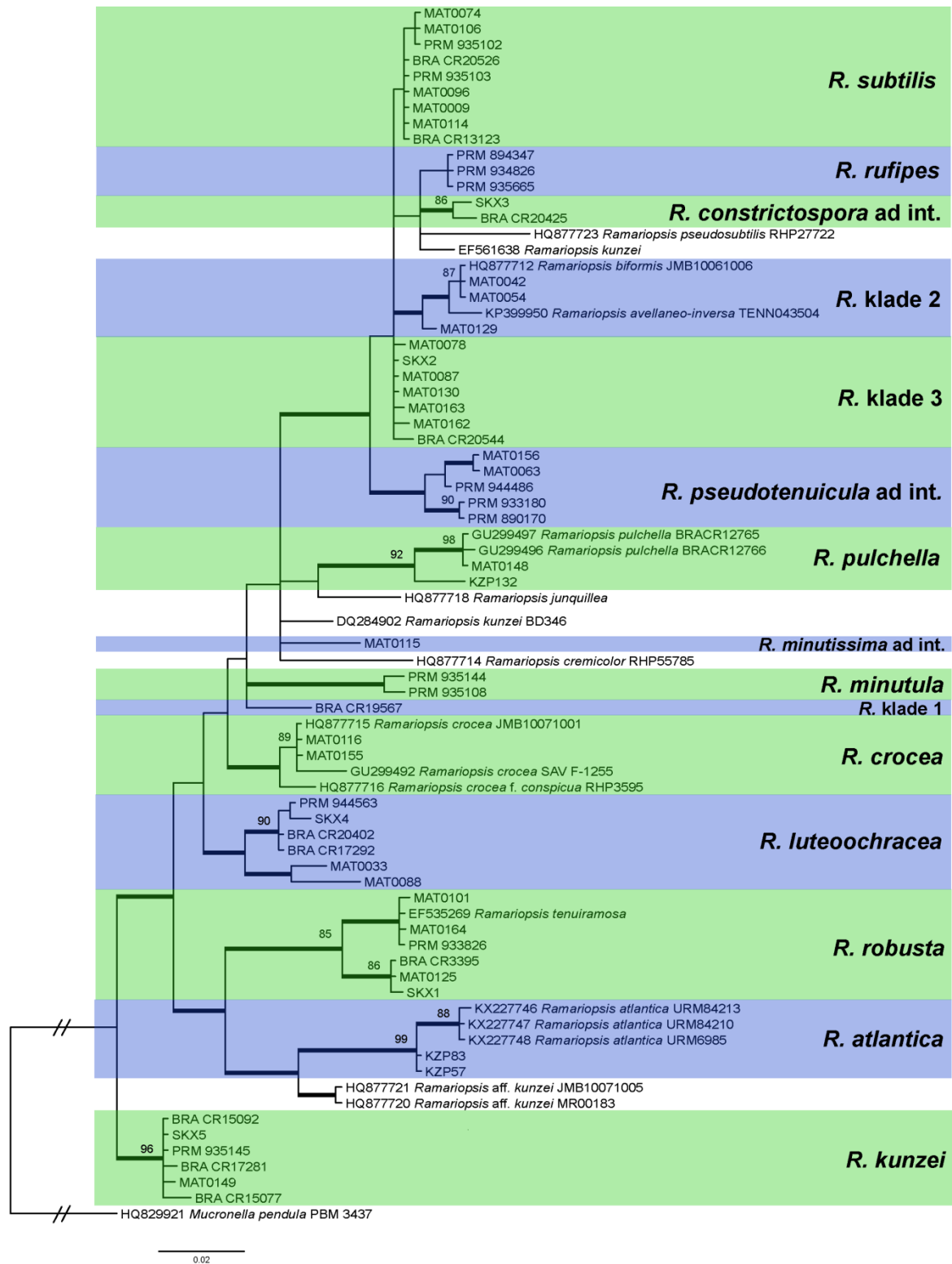


Fig. 1. Fylogenetický strom úseku LSU vytvořený Bayesovskou analýzou. Tlusté větve vyjadřují posteriorní pravděpodobnosti vyšší než 95. Hodnoty nad větvemi reprezentují bootstrapové hodnoty analýzy Maximum Likelihood vyšší než 85. Jako outgroup je použita sekvence sběru rodu *Mucronella*. Všechny sekvence použité ve fylogenetickém stromě jsou uvedeny v Tab. 3.

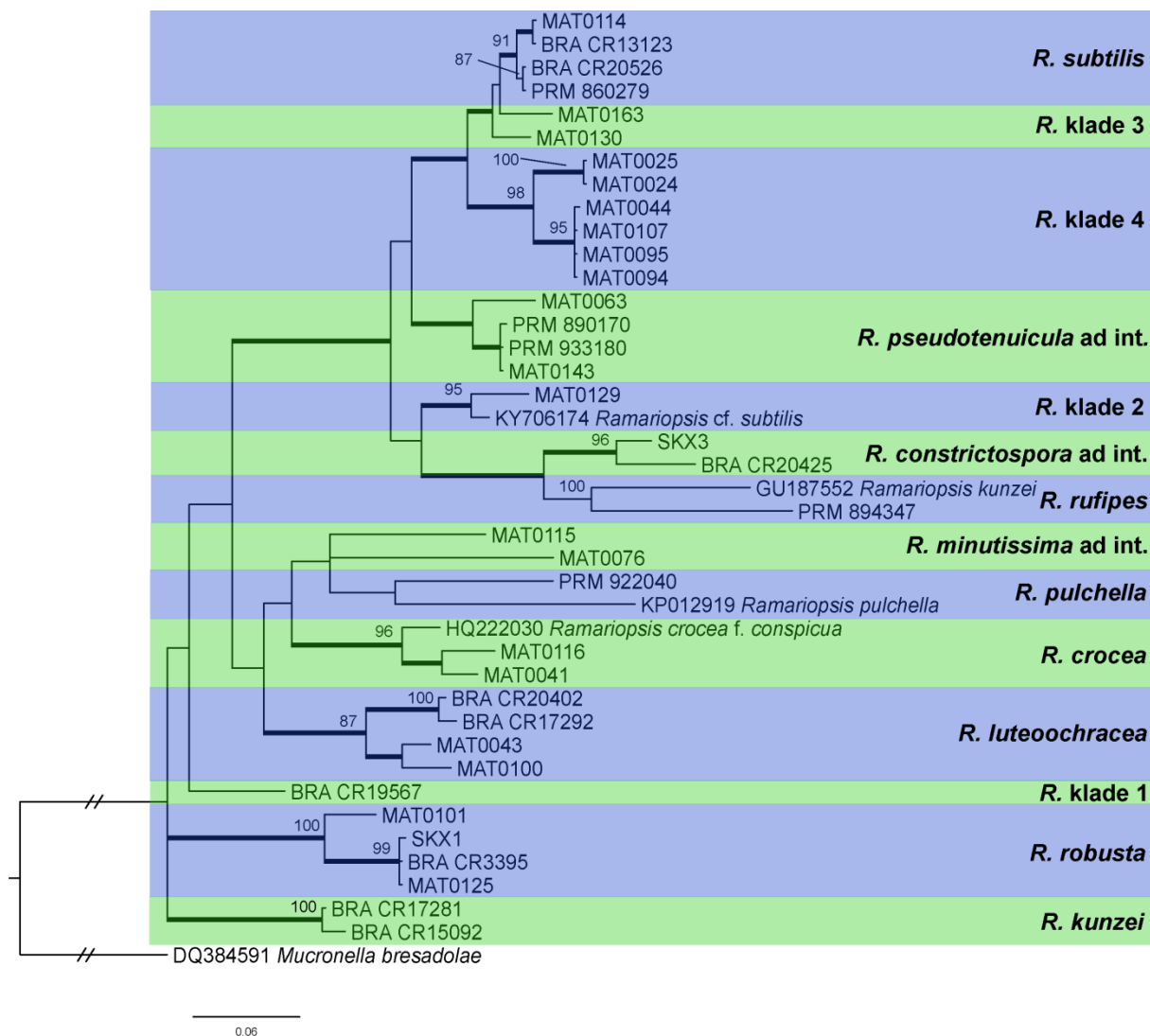


Fig. 2. Fylogenetický strom úseku ITS vytvořený Bayesovskou analýzou. Tlusté větve vyjadřují posteriorní pravděpodobnosti vyšší než 95. Hodnoty nad větvemi reprezentují bootstrapové hodnoty analýzy Maximum Likelihood vyšší než 85. Jako outgroup je použita sekvence sběru rodu *Mucronella*. Všechny sekvence použité ve fylogenetickém stromě jsou uvedeny v Tab. 3.

4. Taxonomická část

4.1 *Ramariopsis kunzei* (Fr.) Corner, Annals of Botany Memoirs 1: 640 (1950)

Basionym: *Clavaria kunzei* Fr., Systema Mycologicum 1: 474 (1821)

Syn: *Clavulina kunzei* (Fr.) J. Schröt., Kryptogamen-Flora von Schlesien 3-1(4): 442 (1888)

Ramaria kunzei (Fr.) Quél., Flore mycologique de la France et des pays limitrophes: 464 (1888)

Clavulinopsis kunzei (Fr.) Jülich, International Journal of Mycology and Lichenology 2 (1): 120 (1985)

Diagnostické znaky: Dobře ohraničený druh na základě téměř bílých či krémově bílých plodnic, výjimečně na bázi přecházejících do narůžovělé, se široce elipsoidními až téměř kulovitými sporami s Q_{av} mezi 1,09–1,23, které jsou výrazně ornamentované bradavkami či tupými ostny, dlouhými obvykle do 0,5 μm , vzácněji až do 1 μm a s bazidii dlouhými maximálně 30 μm .

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách či svazcích, jednotlivé plodnice do 50 mm výšky a 35 mm šířky, hustě větvené, barva ve spodních částech krémově bílá až bílá, někdy s jemným nádechem žluté, ve vyšších částech bílá, po vyschnutí okrově šedá či okrová. Větve do 3 mm tlusté, souběžné až rozbíhavé, 3–5(6) × dichotomicky, trichotomicky nebo polytomicky větvené, válcovité, v úžlabí větvení až 4 mm tlusté, někdy mírně zploštělé, axily tvaru U, někdy mírně ostřejší, vrcholy větví mírně oblé až mírně ostré, bílé. Třeň do 4 mm šířky, tvořící 1/5–1/2 celkové výšky plodnic, krémový, krémově bílý, někdy s jemným náznakem růžové, stejně zbarvený nebo mírně tmavší než fertilní část, obvykle s bělavým tomentem. Dužnina mírně ohebná až křehká. Chuť mírná, vůně velmi slabě houbová či nezřetelná.

Spory 3,5–5,4(5,5) × (3,0)3,2–4,4(4,5) μm (prům. 4,0; 4,24; 4,82 × 3,5; 3,69; 3,92 μm), $Q = 1,02–1,35$ $Q_{av} = 1,09; 1,15; 1,23$, téměř kulovité až široce elipsoidní, vzácně elipsoidní, někdy s výraznější suprahilární depresí, někdy s jednou velkou kapkou, tenkostěnné, vzácněji mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, vzácně velmi jemně dextrinoidní, jemně až výrazně ornamentované tupými bradavkami až oblými ostny o výšce obvykle do 0,5 μm , vzácněji až do 1 μm , hilární appendix 0,5–1,3 μm , (prům. 0,76–0,99 μm). Bazidie 17,5–29,5 × 4,5–6,5 μm (prům. 19,5; 24,6; 26,7 × 5,4; 5,61; 5,8 μm), hyalinní, tenkostěnné, velmi vzácně mírně tlustostěnné, úzce kyjovité, tetrasporické, vzácněji bisporické či monosporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,0–5,0 μm (prům. 2,28; 3,23; 4,18 μm), u monosporických či bisporických bazidií mohou dosahovat délky až 7 μm . Hymenium 21,0–27,0 μm tlusté. Subhymenium 10,0–18,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o šířce 1,9–4,4 μm (prům. 2,49; 2,78; 3,42 μm), velmi vzácně mírně nadmutými do 6,7 μm , s přezkami. Hyfy větvi souběžné, s buňkami širokými 2,4–7,6 μm (prům. 3,28; 4,21; 5,15 μm), vzácně nadmutými do 13,0 μm , s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 2,0–7,3 μm (prům. 3,38; 3,92; 4,45 μm), vzácně nadmutými do 11,5 μm , s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě 7 studovaných sběrů lze shrnout, že druh roste na pravděpodobně nehnojených loukách či trávnících, v sadech, křovinách či listnatých lesích v kolinním až submontánním stupni. Jde o roztroušeně se vyskytující druh.

Publikovaných nálezů z území České republiky či Slovenska není mnoho (např. Pilát 1958; 1972; Jindřich 2007; Kučera et Kautmanová 2011). Větší množství položek se nachází například v mykologickém herbáři Národního muzea (PRM), je ale zapotřebí jejich revize.

R. kunzei se vyskytuje v západní Evropě (např. McHugh et al. 2001; Evans 2003; Oertel et Fuchs 2001), v severní Evropě (Fadnes 2013; Jordal et al. 2016; Kunttu et al. 2016; Shiryayev 2009), v jižní Evropě (Olariaga 2009). Z mimoevropských zemí je udáván například z Austrálie (Petersen 1978b), Šalamounových ostrovů (Corner 1967), Kanady (McAfee et Grund 1981) či Brazílie (Furtado et al. 2016). Jedná se o kosmopolitní druh.

Poznámky: Ve fylogenetických stromech LSU i ITS (Fig. 1, Fig 2) je *Ramariopsis kunzei* situován na bázi rodu jako ancestrální druh, poblíž vzhledově podobných druhů *R. robusta* a *R. atlantica*. Součástí kladu *R. kunzei* je také moje sekvence *R. kunzei* var. *bispora* (SKX5). Tato varieta byla relativně nedávno povýšena na druh *Ramariopsis bispora* (Schild) Olariaga (Olariaga et Salcedo 2013). Z pozice této sekvence uvnitř kladu *R. ramariopsis* je patrné, že se opravdu jedná pouze o varietu (nebo projev variability druhu, který by ani nemusel být klasifikován) a že status druhu není odůvodněný. Na definitivní závěr bude zapotřebí další analýza s větším množstvím dat, sekvenace holotypu *R. bispora* a v lepším případě i budoucího neotypu *R. kunzei*, který zatím nebyl stanoven (holotyp neexistuje).

Jediným podobným evropským druhem je *Ramariopsis robusta* Matouš et Holec (Matouš et al. 2017), který se odlišuje obvykle výrazně většími plodnicemi, sporama větších rozměrů (prům. 4,25–4,92 × 3,33–4,04 μm) s obvykle vyšší Q_{av} (1,2–1,32), které jsou ještě výrazněji ornamentované s ostny dlouhými až 1,5 μm a také delšími bazidiemi (27,4–35,9 μm).

Sběry BRA CR19567 (*Ramariopsis* klad 1) a MAT0129 (*Ramariopsis* klad 2) jsou téměř totožné s *R. kunzei* a za současného stavu vědomostí od něj podle morfologických znaků nerozlišitelné. Představují zřejmě kryptické taxony, jejichž výzkum bude vyžadovat větší množství sběrů a důkladné porovnání s *R. kunzei*.

Ramariopsis klad 1 (BRA CR19567) představuje houbu podobnou *R. kunzei* velikostí i světlou barvou plodnice, relativně výrazně ornamentovanými sporama a většinou mikroznaků. Spory jsou u něj ale výrazně menší (prům. 3,71 × 2,92 μm) s větší hodnotou Q_{av} (1,28) a ornamentika je o něco méně výrazná. Fylogeneticky je sekvence tohoto sběru v LSU i ITS stromě od kladu *R. kunzei* relativně vzdálena. Tento sběr je zřejmě zástupcem kryptického druhu.

Sběr MAT0129 je součástí velmi variabilního kladu 2. Tento sběr je ve všech znacích s *R. kunzei* téměř totožný a morfologicky není možné tyto dva taxony spolehlivě rozlišit. Jediným zjištěným rozdílem je tendence k tmavnutí plodnice sběru MAT0129 směrem k bázi.

Ramariopsis kunzei je typovým a zároveň nejznámějším druhem rodu. Ve Friesově popisu (Fries 1821) chybí mikroskopické znaky a typový materiál neexistuje (Olariaga 2009). I přes význam a všeobecné povědomí o tomto druhu neproběhla v pozdějších letech jeho neotypifikace, z čehož mohou vyplývat jisté nejasnosti a problémy při popisu potenciálních, velice podobných druhů odhalených na základě molekulárně-fylogenetických studií. I přes neexistenci typového materiálu se přesto většina mykologů shoduje na poměrně jasně ohraničené koncepci *R. kunzei*, která vychází z popisu Cornera (1950). Toto pojetí je oproti taxonům popisovaným v novější době stále relativně široké – *Ramariopsis kunzei* je zde popisován jako druh s velkým rozpětím velikosti plodnic (20–120 mm), které mohou být větvené řídké i hustě, s velmi útlými větvemi u malých exemplářů, u velkých pak s větvemi až 5 mm širokými, rostoucí v lesích, na pastvinách a někdy dokonce na mrtvém dřevě. Tuto variabilitu je možné vysvětlit zahrnutím několika dalších druhů, které Corner (1950) ve své práci s *R. kunzei* synonymizoval a jejichž původní popisy zahrnul do popisu *R. kunzei* (např. *Clavaria lentofragilis*).

Další autoři již později obvykle nepracují s tak širokým rozpětím hodnot u makromorfologických znaků, ale přesto (nebo právě proto) se ve svých popisech navzájem často odlišují. Např. velikost spor jimi udávaná, i když pomineme variety *R. kunzei*, je poměrně různorodá. Corner (1950) uvádí nejmenší spory (3–3,5 x 2,3–4,5 μm). McAffe et Grund (1981) mají spory o cca 0,5 μm delší. Corner (1970) a Olariaga (2009) udávají spory v průměru o 1 μm delší, které jsou ale zároveň o něco užší než uvádí Corner (1950) a McAffe et Grund (1981). Jülich (1984) už referuje o sporách dlouhých až 5,5 μm a největší a nejširší spory najdeme v práci Knudsen et al. (2012) (4–5,5 x 3–5 μm) a Pegler et Young (1985) (4,5–6,0 x 3,5–4,5 μm). Z rozměrů spor u různých autorů lze vyvodit, že se budou lišit i tvarem, resp. Q hodnotou. Např. Olariaga (2009) uvádí delší, ale zároveň užší spory než Corner (1950), ale oba hovoří o téměř kulovitých, resp., široce elipsoidních až téměř kulovitých sporách, což ukazuje, že oba autoři si tento tvar představují mírně odlišně.

Podobné rozdíly jsou i u délky bazidií. Zatímco Corner (1950) a Jülich (1984) uvádějí bazidie dlouhé až cca 40 μm , Olariaga píše o bazidiích dlouhých maximálně 30 μm a McAffe et Grund (1981) pouze o délce do 20 μm . V obou případech se zřejmě jedná o projev vysoké morfologické variability druhu a v práci Pegler et Young (1985) je pravděpodobně délka spor měřena chybně (viz kapitola 5.3.3).

Moje pozorování se nejlépe blíží popisu Olariaga (2009), od něhož se moje sběry liší pouze mírně delšími sporami (o cca 0,3–0,5 μm) a občasnou přítomností bisporických, vzácně i monosporických bazidií.

V rámci druhu *R. kunzei* bylo popsáno šest variet včetně diskutované var. *bispora* (viz www.mycobank.org), některé mimo Evropu. Jejich hodnocení přesahuje rámec této práce. Některé z nich jsou diskutovány v článku Matouš et al. (2017).

Studované sběry:

Česká republika. Střední Čechy, CHKO Český kras, Liteň, u rybníku Obora, na zemi pod javory a jasany, 21. VIII. 2011, leg. et det. M. Kříž (PRM 935145). – Severní Čechy, Kosmonosy, vrch Baba, listnatý les, 8. VII. 2011, leg. J. Gaisler, det. I. Kautmanova (BRA CR17281). – Východní Morava, CHKO Bílé Karpaty, Vyškovec, přírodní rezervace Ve Vlčí, nesekaná louka s roztroušenými ovocnými stromy, 48°55'42.137" N, 17°51'22.034" E, 673 m.n.m., na zemi mezi trávou a mechem, 24. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0149).

Slovensko. Malé Karpaty, Chtelnica, Plešivá hora, 48°34'22" N, 17°35'44" E, 350 m.n.m., 12. IX. 2010, leg. I. Kautmanová et V. Kautman, det. I. Kautmanová (BRA CR15077). – Považský Inovec, Piešťany, Banka, Vápeništia, na pastvině a v křovinách, 48°34'29" N, 17°51'46" E, 220 m.n.m, 29. IX. 2010, leg. V. Kautman et V. Kučera, det. I. Kautmanová (BRA CR15092).

Ramariopsis kunzei var. *bispora*

Česká republika. Severní Čechy, CHKO České Středohoří, Mnichov, NPR Oblík, třešňovka, v trávě a mechu, 21. IX. 2011, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 935145, jako *R. kunzei*).

Slovensko. Stolické vrchy, Muránska Huta, rekreační areál Predná Hora, starý lyžařský svah, 3. X. 2014, leg. V. Kautman, det. J. Matouš (SKX5, jako *R. kunzei*).

Ramariopsis klad 1

Finsko. Perä-Pohjanmaa Prov., Keminmaa, Kallinkangas, 5. IX. 2013, leg. V. Kučera, det. J. Matouš (BRA CR19567, jako *Ramariopsis* cf. *subtilis*).

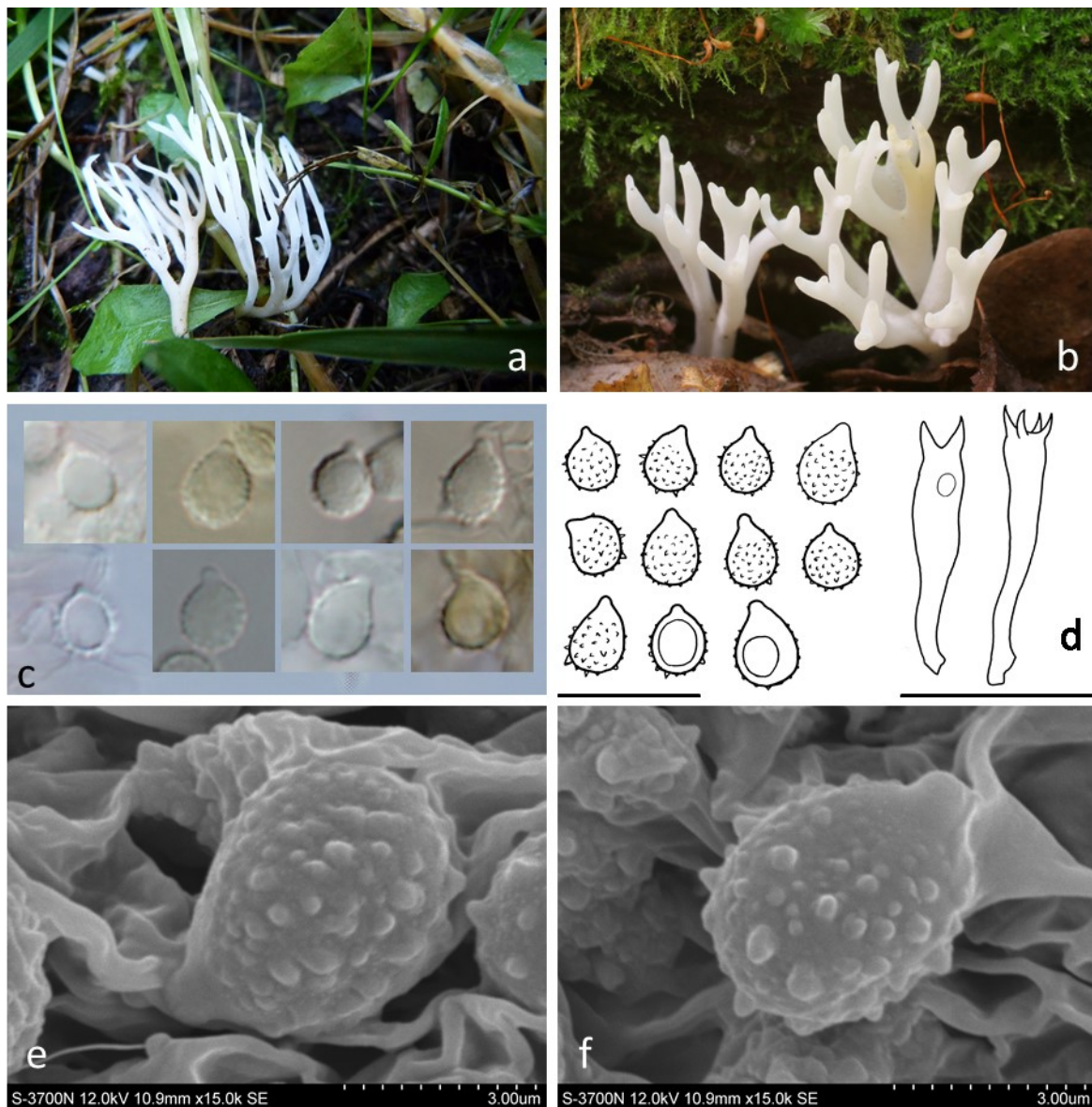


Fig. 3. *Ramariopsis kunzei*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: J. Matouš (a, c, e, f), M. Kříž (b). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm .

4.2 *Ramariopsis robusta* Matouš et Holec, Czech Mycology 69 (1): 54 (2017)

Diagnostické znaky: Druh dobře poznatelný podle robustních, hustě větvených, bílých až krémových plodnic do 95 mm výšky a 50 mm šířky, často rostoucích ve shlucích, s větvemi širokými až 10 mm, v axilech až 15 mm, často zploštělými, s obvykle elipsoidními až téměř kulovitými, bradavčitými až ostnatými spory s typickými, nepravidelně rozmístěnými ostny dlouhými až 1,5 μm , a s Q_{av} 1,2–1,32.

Popis: Plodnice rostoucí v malých skupinkách nebo nahloučeně ve shlucích do 150 mm šířky, jednotlivé plodnice do 95 mm výšky a 50 mm šířky, hustě větvené, obvykle bílé až bledě krémově bílé, někdy s nažloutlými až naokrovělými skvrnami, převážně v místech poškození, v úžlabí větvení nebo ve starších částech, po vyschnutí bledě krémové, krémové, nebo bledě okrové, někdy tmavší do okrova směrem k bázi nebo vrcholům větví. Větve do 10 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, 3–6 × dichotomicky, trichotomicky či polytomicky větvené, v úžlabí větvení až 15 mm široké, válcovité, často mírně nebo silně zploštělé, axily tvaru U nebo V, vrcholy větví zaoblené nebo mírně ostré, často bifurkátní, krémové bílé až bílé. Třeň do 15 mm šířky, tvořící 1/5–1/3 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený nebo neostře odlišený od fertilní části a mírně tmavší než větve, krémový až krémově naokrovělý. Dužnina obvykle křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná nebo slabě houbová.

Spory (3,6)4,0–5,2(5,8) × (2,7)3,1–4,3(4,9) μm (prům. 4,25; 4,63; 4,92 × 3,33; 3,68; 4,04 μm), Q = 1,02–1,55, Q_{av} = 1,2; 1,26; 1,32; široce elipsoidní až elipsoidní, vzácněji téměř kulovité nebo kapkovité, někdy výraznou suprahilární depresí, často s jednou velkou kapkou, mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, silně až velmi silně ornamentované malými a velkými výrůstky typu bradavek a tupých ostnů, které jsou přítomné na spoře společně, dlouhé 0,4–0,7 μm a široké až 0,7 μm, typicky jsou také přítomny nepravidelně rozmístěné ostny dlouhé 1,0–1,5 μm a široké až 1,6 μm (velmi vzácně až 2,0 μm), které u některých spor chybí, hilární appendix 0,5–1,2 μm (prům. 0,76–0,97 μm). Bazidie 22,5–39,5 × 4,5–6,5 μm (prům. 27,4; 34,0; 35,9 × 5,2; 5,7; 6,28 μm), hyalinní, tenkostěnné, vzácněji tlustostěnné a dlouhé až 46 μm, úzce kyjovité až kyjovité, vzácněji téměř válcovité, tetrasporické, vyjimečně bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 1,5–5,6 μm, u bisporických bazidií až 6 μm (prům. 2,85; 3,62; 4,04 μm). Hymenium 27,0–40,0 μm tlusté. Subhymenium 12,0–22,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,9–3,9 μm (prům. 2,67; 3,03; 3,23 μm), s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 1,8–8,4 μm (prům. 3,71; 4,69; 5,44 μm), vzácně nadmutými do 17,5 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 2,0–8,0 μm (prům. 3,3; 4,17; 5,48 μm), často nadmutými do 18,0 μm, s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě 7 studovaných sběrů lze shrnout, že druh roste na pravděpodobně nehnojených, extenzivně kosených či pasených travních loukách, někdy s roztroušenými listnatými stromy, v kolinním či submontánním stupni. Jedná se o roztroušeně se vyskytující druh.

Výskyt byl potvrzen v České republice a na Slovensku (viz studované sběry). Sekvence *Ramariopsis tenuiramosa* (GG 061104) nepřímo dokumentuje výskyt tohoto druhu ve Velké Británii (Wales).

Poznámky: *Ramariopsis robusta* je jedním z bazálních kladů rodu *Ramariopsis*, společně s *R. atlantica* a *R. kunzei*. V LSU stromě je jeho dobře podpořený klad tvořen sedmi sekvencemi, z nichž čtyři, včetně sekvence holotypu PRM 945410/MAT0125, tvoří i klad *R. robusta* v ITS stromě. Oba klady jsou zcela ve shodě. Především v kladu LSU je znatelná přítomnost dvou fylogeneticky odlišných

linií. Tyto dva subklady jsou podpořeny i geograficky – zatímco subklad okolo sekvence holotypu je tvořen sekvencemi sběrů pocházející ze Slovenska, druhý subklad je tvořen sekvencemi sběrů z České republiky a jednou sekvencí z Walesu (EF535269 – *R. tenuiramosa*). Tato genetická variabilita ale není vyjádřena morfologicky.

Ramariopsis robusta je druh dříve často určovaný jako *Ramariopsis kunzei* (viz studované sběry), který se liší obvykle výrazně menšími a řidčeji větvenými plodnicemi s užším třeněm a větvemi a méně výrazně ornamentovanými sporami s tupými ostny o délce většinou do 0,7 μm , nižší Q_{av} (1,09-1,23), a tedy i kulatějšími sporami, a kratšími bazidiemi o délce obvykle do 30 μm .

Téměř stejné znaky jako *Ramariopsis kunzei* má také *R. kunzei* var. *bispora* Schild, který se od *R. robusta* liší navíc výhradně bisporickými bazidiemi (Schild 1971; Olariaga 2009). Z dalších variet *R. kunzei* je díky růstu v hustých trsech podobná *R. kunzei* var. *deformis* Corner, která má ale menší plodnice (do 60 mm), které jsou řidčeji větvené a podle Cornera (1950) „deformované“. Spory této variety by měly být totožné se sporami *R. kunzei* var. *kunzei* (Corner 1950). *R. kunzei* var. *favreae* Corner (odkaz) má podobné charakteristiky jako var. *deformis*. Od *R. robusta* se liší ještě výrazněji modifikovanými větvemi, které by měly evokovat svými laminátními větvemi nevyvinutý kotrč (Corner 1950). *Ramariopsis kunzei* var. *megaspora* Corner je taxon podobný vysokými plodnicemi (do 120 mm), ale odlišuje se amyloidními sporami o rozměrech 5–6,5 \times 4,3–5,7 μm , které jsou ornamentované výrůstky do 0,7 μm délky a také bazidiemi o rozměrech 48–75 \times 7–9,5 μm (Corner 1967). *Ramariopsis kunzei* var. *sublaevispora* S.S. Rattan & Khurana má relativně veliké plodnice (do 70 mm), ale výrazně se odlišuje užšími větvemi (do 3 mm) a sporami, které jsou kratší [3,2–4,3(5) μm], téměř kulovité až kulovité s „poněkud hranatým profilem“ a velmi jemně ornamentované (Rattan et Khurana 1978).

Dalším podobným druhem, nedávno popsáným z Brazílie, je *Ramariopsis atlantica* Araujo-Neta, G.A. Silva & Gibertoni. Vyznačuje se bílými plodnicemi a velice výrazně ornamentovanými sporami. Plodnice jsou ale výrazně menší (do 50 mm výšky a 32 mm šířky), podobně jako spory (4 \times 3 μm), které jsou více kulovité (Araujo-Neta et al. in Hyde et al. 2016). Dvě sekvence *R. atlantica* použité v této práci (viz studované sběry) reprezentují první dokumentované nálezy tohoto druhu pro Panamu.

Dalším podobným druhem je *Clavaria lentofragilis* G.F. Atk. Jedná se o druh synonymizovaný s *R. kunzei* (Corner 1950). Původní popis tohoto druhu (Atkinson 1908) uvádí druh připomínající *R. robusta* velkými plodnicemi (do 150 mm, trsy široké až 120 mm) s bílými větvemi s křehkými konci a obvejčitými až téměř kulovitými sporami o rozměrech 4–6 μm . Tento taxon se ale liší od *R. robusta* výrazně méně ornamentovanými sporami a růstem na mrtvém dřevě. Je dobré zmínit, že Petersen (1969) použil kombinaci *Ramariopsis lentofragilis*, aniž by byla platně publikována.

Ostatní bílé či krémově zbarvené evropské druhy r. *Ramariopsis* jsou výrazně menší a mají znatelně méně výrazně ornamentované spory (*R. minutula*, *R. minutissima* ad int., *R. cryptosubtilis* ad int., světlí zástupci *R. tenuiramosa* či *R. rufipes*).

Studované sběry:

Česká republika. Západní Čechy, Mariánské Lázně, v parku poblíž kolonády Ferdinandova pramene, sekání trávník s roztroušenými listnatými stromy, 49°57'47.295" N, 12°42'24.370" E, 580 m.n.m., 26. X. 2016, leg. M. Hamadák, det. J. Matouš (PRM 945424). – Severní Čechy, CHKO České středohoří, Čeřeniště, okres Ústí nad Labem, louka nad vsí, v trávě, 31. X. 2008, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 934825, jako *Ramariopsis kunzei*). – Střední Čechy, Bříšejev, na periférii obce cca 270 metrů od stanice autobusu, horní část svažité, suché a kosené louky, 49°42'21.865" N, 14°29'07.772" E, cca 400 m.n.m., na zemi v trávě, 23. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (PRM 945411). – Severní Čechy, Liberec-Machnín, Hamrštejn, 9. VIII. 2011, leg. V. Kautman, det. J. Matouš (BRA CR17115, jako *Ramariopsis kunzei*). – Východní Čechy, intravilán obce Panská Habrová, zahrada, 50°10'58" N, 16°17'55" E, 350 m.n.m., na travnaté a mechaté zemi pod *Malus domestica*, 15. XI. 2014, leg. T. Tejklová, det. J. Matouš (PRM 933826, jako *Ramariopsis kunzei*).

Slovensko. Biele Karpaty, Nová Bošáca – osada Grúň, na svažité, extenzivně kosené a ovce a skotem pasené louce s roztroušenými ovocnými stromy, 48°53'42.860" N, 17°47'53.157" E, 460 m.n.m., na zemi v trávě, 23. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (PRM 945410, holotyp). – Nízke Tatry, Malužiná, Michalovo, horská louka, 770 m.n.m., 24. VIII. 2002, leg. I. Kautmanová, det. J. Matouš (BRA CR3395, jako *Ramariopsis cf. lentofragilis*). – Laborecká vrchovina, Vyšná Jablonka, na pastvině, 5. X. 2014, leg. V. Kautman, det. J. Matouš (BRA CR25525).

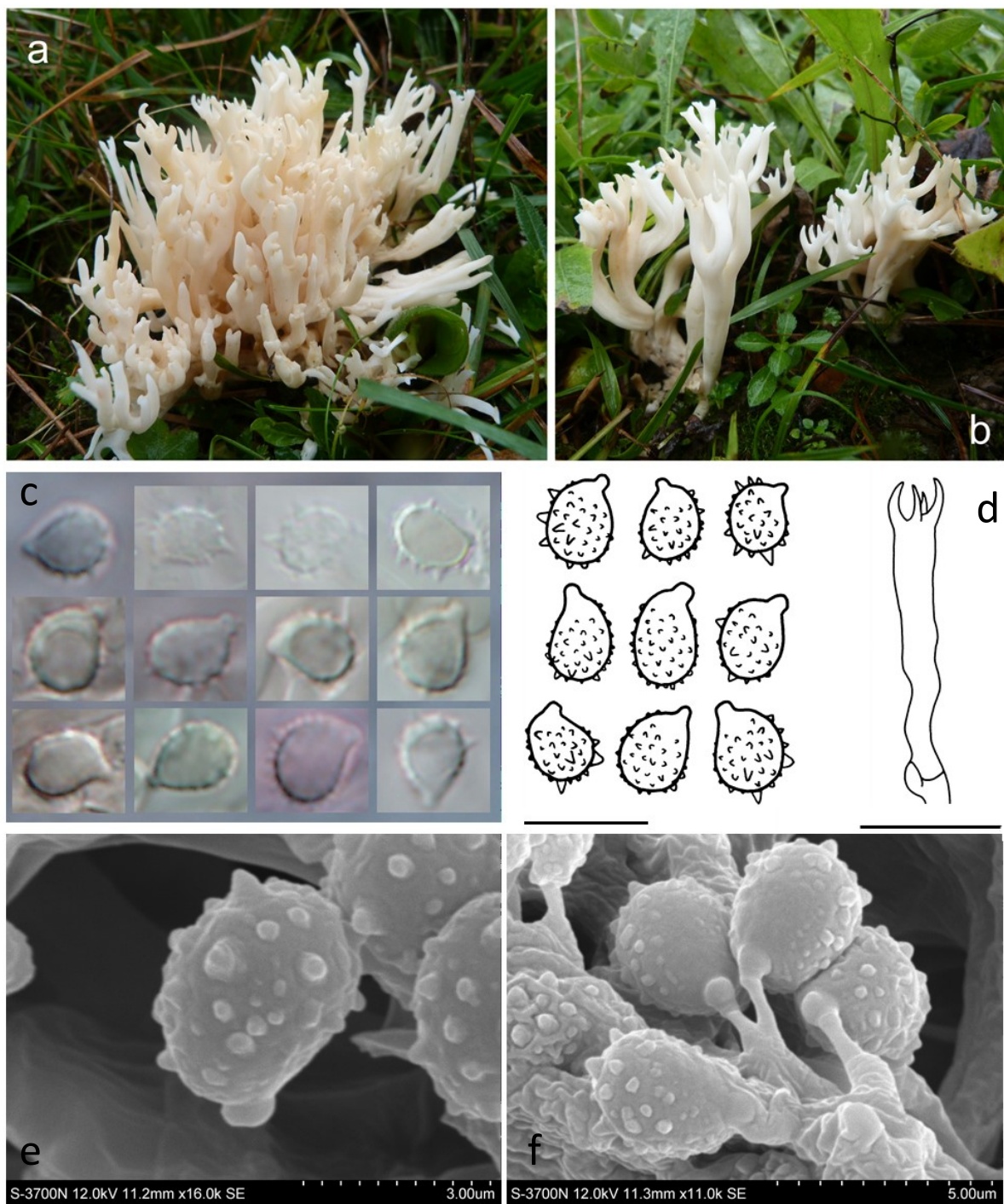


Fig. 4. *Ramariopsis robusta*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: J. Matouš. Měřítko pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítko pro kresby bazidií: 20 μm .

4.3 *Ramariopsis luteochracea* (Cavara) R.H. Petersen, Mycologia 58 (2): 205 (1966)

Bazionym: *Clavaria luteochracea* Cavara, Fungi Longobardiae exsiccati sive Mycetum specimina in Longobardia collecta, exsiccata et speciebus novis vel criticis, iconibus illustrata Pug. II: no. 64 (1892)

Syn: *Clavulinopsis luteochracea* (Cavara) Corner, Annals of Botany Memoirs 1: 376 (1950)

Clavulinopsis microspora (Joss.) Corner, Bull. trimest. Soc. mycol. Fr. 64(1-2): 29 (1948)

Diagnostické znaky: Druh s velmi řídkce větvenými, drobnými plodnicemi do 30 mm, většinou ale nižšími, barevně přecházejícími od hnědé nebo okrově hnědé na bázi plodnice až po žlutavou či čistě bílou na vrcholech plodnic, které mohou být zploštělé či hřebínkovité, s hladkými, nebo téměř hladkými sporami, často tvaru kapky či jádérka a Q_{av} mezi 1,24–1,35.

Popis. Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 30 mm výšky a 6 mm šířky, velmi řídkce větvené, vzácněji nevětvené, barva přecházející od okrově světle hnědé, hnědavě okrové, okrově šedé, světle okrové až okrově nažloutlé ve spodních částech po okrově krémovou, krémovou, krémově bílou až bílou směrem k vyšším částem, po vyschnutí tmavě okrově hnědá, světle okrově hnědá, naokrověle šedá či okrová. Větve do 1,5 mm tlusté, souběžné nebo rozbíhající se, 0–2(3) × dichotomicky nebo vzácněji trichotomicky či polytomicky větvené, v úžlabí větvení až 3 mm široké, válcovité, ve vrcholových částech plodnice někdy mírně zploštělé až hřebínkovité, někdy krátce bifurkáttní, axily tvaru U, vrcholy větví oblé, mírně zašpičatělé nebo vzácně zašpičatělé, bílé, vzácněji světle žlutavé až naokrovělé. Třeň do 1 mm šířky, tvořící 1/5–1/3 celkové výšky plodnic, okrově hnědý, světle okrově hnědý či hnědavý, obvykle mírně či výrazně tmavší a ostře odlišený od fertilní části, vzácněji stejně zbarvený jako spodek fertilní části a neostře oddělený, někdy s velmi řídkým bílým tomentem. Dužnina ohebná. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,1)3,5–4,4(4,8) × (2,3)2,7–4,0(4,5) μm (prům. 3,7; 3,92; 4,08 × 2,83; 3,12; 3,18 μm), $Q = 1,07$ –1,5, $Q_{av} = 1,24$; 1,3; 1,35; elipsoidní až široce elipsoidní, někdy kapkovité či tvaru jádérka, vzácněji až téměř kulovité či obejčité, někdy s jednou malou či velkou kapkou, tenkostěnné, hyalinní, neamyloidní, někdy slabě dextrinoidní, hladké či velice jemně ornamentované velmi nízkými, tupými bradavčitými výrůstky, obvykle patrnými jen při proostřování, hilární appendix 0,4–0,9 μm (prům. 0,56–0,65 μm). Bazidie 19,5–32,0 × 3,5–6,0 μm (prům. 25,3; 26,5; 28,5 × 4,6; 5,0; 5,3 μm), hyalinní, tenkostěnné, vzácně tlustostěnné, vzácně vykazující amyloidní reakci, úzce kyjovité, tetrasporické, vzácně bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,0–4,5 μm (prům. 2,84; 3,17; 4,07 μm), u bisporických bazidií mohou dosahovat délky až 8 μm . Hymenium 19,0–33,0 μm tlusté. Subhymenium 12,0–24,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,7–4,1 μm (prům. 2,39; 2,62; 3,06 μm), velmi vzácně nadmutými do 8,5 μm , s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,5–7,2 μm (prům. 3,76; 4,22; 5,19 μm), vzácně nadmutými do 14,5 μm , s přezkami. Hyfy

třeně obvykle propletené, s buňkami širokými 1,5–5,5 μm (prům. 2,22; 2,96; 3,84 μm), velmi vzácně nadmutými do 7,5 μm , s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě 10 studovaných sběrů lze shrnout, že *R. luteoohracea* roste na zemi v listnatých lesích, remízcích a na příležitostně kosených, nehnojených loukách, v kolinním stupni. Je uvedený v červeném seznamu (Holec et Beran 2006) s kategorií ohrožení DD. Vyskytuje se roztroušeně až hojně, je ovšem zřejmě často přehlížen nebo zaměňován za podobné, známější druhy.

Nálezy z České republiky a Slovenska jsou publikovány velmi vzácně (např. Holec et Beran 2006 jako *Clavulinopsis luteoohracea*; Holec et Adamčík 2008). Druh je znám ze severní Evropy (Shiryayev 2013, jako *Clavulinopsis luteoohracea*) a z jižní Evropy (Corner 1950 jako *Clavulinopsis luteoohracea*; Olariaga 2009). Z ostatních částí světa je uváděn velmi vzácně, například z USA (Corner 1950 jako *Clavulinopsis luteoohracea*) a pravděpodobně také z Austrálie (Petersen 1978b, jako *R. cf. luteoohracea*).

Poznámky: *Ramariopsis luteoohracea* tvoří ve stromě LSU silně podpořený klad ze sekvencí sedmi sběrů, z nichž dvě tvoří tento klad i v ITS stromě, kde je doplněný o sekvence dalších dvou mých sběrů, jasně zapadajících do koncepce tohoto druhu. Pozice tohoto kladu je v obou stromech téměř totožná, relativně blízko báze stromu společně s *Ramariopsis crocea*.

Přestože je druh *Ramariopsis luteoohracea* fylogeneticky relativně blízký kladům s výrazně ornamentovanými sporami, on sám má spory zcela hladké či téměř hladké a navíc výrazně tmavší plodnice. Celkově nejpodobnějším druhem je *R. subtilis* (Pers.) R.H. Petersen, lišící se plodnicemi ve všech částech zbarvenými do odstínů krémově okrové až světle okrově hnědé a většími sporami (prům. 4,13–4,79 \times 3,02–3,43 μm) s větší hodnotou Q_{av} (obvykle mezi 1,35 až 1,45). *Ramariopsis* klad 4 je morfologicky velmi podobný jako *R. subtilis*. Není ale tolik proměnlivý v barvě plodnic, která je vždy velmi světlá, což je dostatečný znak pro odlišení od *R. luteoohracea*. Mikromorfologicky jsou si ale taxony *R. luteoohracea* a *R. klad 4* velmi podobné – důvodem jsou i mírně menší rozměry spor a Q_{av} *R. klad 4* oproti *R. subtilis*, čímž se více blíží sporám *R. luteoohracea*.

Ostatní podobné druhy mají výraznější ornamentiku spor (*R. rufipes*, *R. klad 3*, *R. psudotenuicula* ad int.), výrazně vyšší Q_{av} (*R. constrictospora* ad int.) nebo bílé až téměř bílé plodnice (*R. minutula*, *R. minutissima* ad int.).

Ramariopsis luteoohracea je dobře ohraničený druh, na který se názory zásadních autorů příliš neliší. Výraznější odchylky od původního popisu (Cavara 1892), který udává spory o rozměrech 4–5 \times 3–4 μm , vykazuje Pilát (1958), který udává spory tří různých rozměrů. Kromě spor shodujících se s rozměry spor holotypu (Cavara 1892; Coker 1923) Pilát udává i sběry se sporami mírně menšími (3–4 \times 2,5–3 μm) a naopak výrazně většími (5–6 \times 4–4,5 μm), přičemž se lze domnívat, že sběr s těmito sporami nenáleží k tomuto druhu, i proto, že spory všech tří rozměrů jsou navíc udávány jako téměř kulovité. Pilát sám se domnívá, že existují tři formy tohoto druhu na základě rozdílných velikostí spor,

což komentuje Corner (1970), který navrhuje, že formy jsou dvě až tři – jedna s hladkými elipsoidními, druhá s hladkými, téměř kulovitými a třetí s jemně ornamentovanými sporami. Petersen (1966) udává výrazně menší spory ($3,0\text{--}3,7 \times 2,1\text{--}3,0 \mu\text{m}$) než ostatní autoři (Cavara 1982; Coker 1923; Pilát 1958; Corner 1970; Jülich 1974; Olariaga 2009), ačkoliv měření prováděl na typovém materiálu. Tento rozpor si lze vysvětlit jinak kalibrovaným měřením či studováním mladší části plodnice s převahou ne zcela vyzrálých spor. Olariaga (2009) uvádí velice vysoké rozpětí Q_{av} (1,28–1,67), přičemž druhá z hodnot je značně vzdálena maximální Q_{av} , kterou jsem u tohoto druhu zaznamenal. Také uvádí, že některé spory mohou být až $6 \mu\text{m}$ dlouhé a naopak maximální šířku jen $3 \mu\text{m}$. Je otázkou, zda spory s natolik protáhlým tvarem a rozměry mohou náležet k tomuto druhu. Ostatní znaky v jeho popisu ale dobře odpovídají jak měřením holotypu, tak mým pozorováním, je tedy možné, že existují i plodnice s takto extrémními hodnotami spor. Tyto sběry by ale bylo snadno možné zaměnit za druhy s hladkými sporami a vysokou Q hodnotou, tedy *R. subtilis* nebo *R. constrictospora ad int.*

Má měření se velmi dobře shodují s původním měřením holotypu. Cavara (1982) uvádí jen mírně větší spory ($4\text{--}5 \times 3\text{--}4 \mu\text{m}$) a délku bazidií na horní hranici mých pozorování ($30 \mu\text{m}$). Coker (1923) při měření holotypu uvádí spory v rozměrech téměř totožných s mými.

Málo známý druh *Clavulinopsis microspora* (Joss.) Corner je s *R. luteoochracea* totožný téměř ve všech znacích. Corner (1970) uvádí popisy dvou sběrů tohoto druhu, přičemž odlišnost lze najít pouze v rozměrech spor, které jsou v případě jednoho jeho sběru mírně delší a užší ($4\text{--}4,7 \times 2,5\text{--}3,2 \mu\text{m}$), v případě druhého jen mírně užší ($2,2\text{--}3 \mu\text{m}$). Na základě velmi výrazné podobnosti v mikro i makroznacích se domnívám, že *C. microspora* skutečně je synonymem k *R. luteoochracea*.

Studované sběry:

Česká republika. Severní Čechy, Bílina, les u okraje dolu Bílina, na zemi pod hlohy, javory, jívami, mladými duby, lipami, svídkami, jasany a topoly, 7. VIII. 2016, leg. et det. M. Kříž (PRM 944563). – Severní Čechy, CHKO České středohoří, Chrášťany u Podsedic, listnatý les nad vsí, v koleji lesní cesty pod hlohy a duby, 24. VII. 2010, leg. et det. M. Kříž (PRM 935109). – Střední Čechy, Bříšejev, na periferii obce, cca 270 metrů od stanice autobusu, svažité kosená louka, $49^{\circ}42'21.865''\text{N}$, $14^{\circ}29'7.772''\text{E}$, 400 m.n.m., 29. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0100). – Severní Čechy, Kosmonosy, kopec Baba, 7. VIII. 2011, leg. J. Gaisler, det. I. Kautmanová, rev. J. Matouš (BRA CR17292, jako *Ramariopsis subtilis*). – Střední Čechy, Čtyřkoly, příležitostně kosená louka vedle chatové osady, listnatého lesa, křovin a Zaječického potoka, $49^{\circ}52'25.309''\text{N}$, $14^{\circ}42'45.298''\text{E}$, 300 m.n.m., 16. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (PRM 945419). – Střední Čechy, Čtyřkoly, horní část sporadicky sekané louky vedle chatové osady, $49^{\circ}52'21.201''\text{N}$, $14^{\circ}42'47.251''\text{E}$, 317 m.n.m., 13. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (PRC 3975). – Ibid. 5. XI. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0062). – Střední Čechy, Lštění, u kostela sv. Kliment na Hradišti, spíše nekosená louka ohraničená křovinami (trnky), listnatým lesem a mladým borem, $49^{\circ}52'2.296''\text{N}$, $14^{\circ}43'39.199''\text{E}$, 356 m.n.m., 14. X. 2013, leg. et det. J. Matouš. (MAT0043).

Slovensko. Malé Karpaty, Pezinok, nad Kejdou, v remízku ve vinohradu, 14. XI. 2013, leg. et det. V. Kautman, rev. J. Matouš (BRA CR20402, jako *Clavulinopsis microspora*). – Jižní Slovensko, Drňa, 3. X. 08, leg. I. Kautmanová, det. J. Matouš (SKX4).

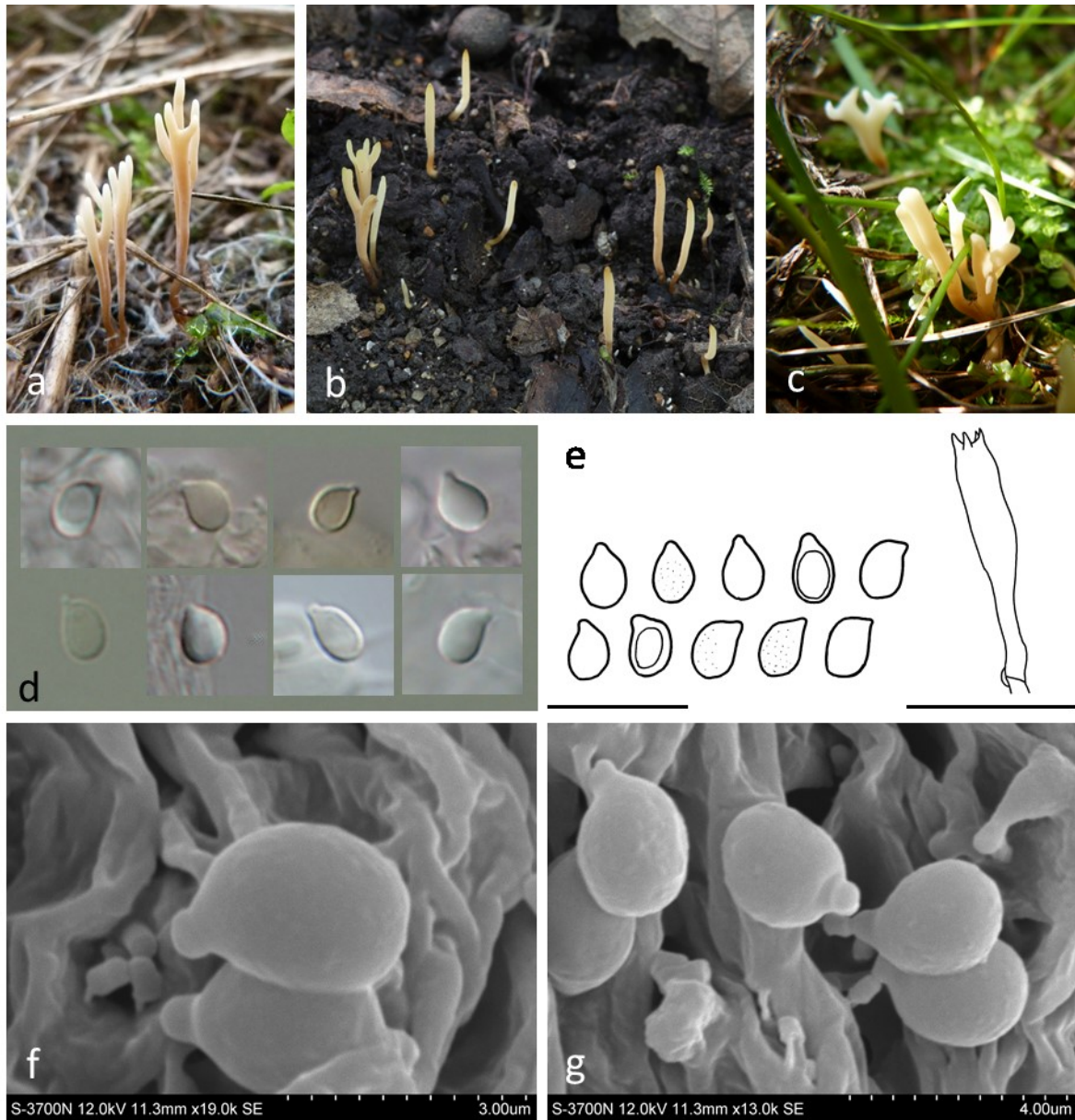


Fig. 5. *Ramariopsis luteoochracea*. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznaků (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: J. Matouš (a, c, d, f, g), M. Kříž (b). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm .

4.4 *Ramariopsis crocea* (Pers.) Corner, Annals of Botany Memoirs 1: 638 (1950)

Bazionym: *Clavaria crocea* Pers., Icones et Descriptiones Fungorum Minus Cognitorum 2: 36, t. 9: 6 (1800)

Syn: *Clavulinopsis crocea* (Pers.) Jülich, International Journal of Mycology and Lichenology 2 (1): 120 (1985)

Diagnostické znaky: Druh dobře vymezený kombinací větvených, žlutooranžových až oranžových plodnic a drobných (prům. 3,21–3,42 × 2,76–3,02 μm), relativně výrazně ornamentovaných spor.

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v menších skupinkách, jednotlivé plodnice do 26 mm výšky a 20 mm šířky, řídce až hustěji větvené, barva ve spodních částech oranžová, někdy s nádechem do okrova, ve vyšších částech oranžová až oranžovožlutá, po vyschnutí oranžová. Větve 0,5–1 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, 2–5 × dichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 1,5 mm široké, válcovité, axily tvaru U nebo širokého V, vrcholy větví ostré, stejně zbarvené jako zbytek plodnice. Třeň do 1 mm šířky, tvořící 1/4–1/5 celkové výšky plodnic, někdy světlejší a lesklejší než fertilní část. Dužnina ohebná, mírně tmavěji oranžová než povrch plodnic. Chuť a vůně nezřetelné.

Spory (2,6)2,7–4,0(4,4) × (2,4)2,5–3,5(3,7) μm (prům. 3,21; 3,35; 3,42 × 2,76; 2,98; 3,02 μm), Q = 1,0–1,36, Q_{av} = 1,1; 1,13; 1,16; široce elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji kulovité či vejčité, tenkostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, ornamentované krátkými bradavkami až tupými ostny, obvykle do 0,5 μm délky, hilární appendix 0,5–0,8 μm dlouhý (prům. 0,61–0,73 μm). Bazidie 15,3–28,5 × 4,1–5,2 μm (prům. 20,3; 21,7; 23,5 × 4,35; 4,58; 4,8 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, terasporické, vzácně bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 1,6–3,5 μm (prům. 2,4; 2,54; 2,72 μm). Hymenium 17,0–27,5 μm tlusté. Subhymenium 15,0–23,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami tlustými 1,7–3,8 μm (prům. 2,24; 2,37; 2,41 μm), s přezkami. Hyfy větvi souběžné, s buňkami širokými 3,0–6,4 μm (prům. 3,93; 4,51; 5,39 μm), vzácně mírně nadmutými do 9,0 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 1,8–4,8 μm (prům. 3,03; 3,26; 3,5 μm), s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Všechny 4 studované sběry se vyskytovaly na sporadicky kosených či nekosených a pravděpodobně nehnojených loukách poblíž lesů, v trávě a mechu, v kolinním až submontánním stupni. Tento druh je také často uváděn z křovin, sadů a světlých listnatých lesů (např. Pilát 1958; Jülich 1984; Holec et Adamčík 2008; Olariaga 2009). Je zahrnutý v červeném seznamu (Holec et Beran 2006) s kategorií ohrožení CR. Jedná se o roztroušeně až vzácně se vyskytující druh, ale může být přehlížený, navrhuji kategorii ohrožení snížit.

Z území České republiky a Slovenska je *R. crocea* publikován sporadicky (např. Pilát 1958, 1972; Holec et Beran 2006; Holec et Adamčík 2008; Kučera et Kautmanová 2011). Je známý ze západní Evropy (např. Oertel et Fuchs 2001; Kautmanová 2012), ze severní Evropy (Jordal et al. 2016;

Shiryayev 2009) a z jižní Evropy (Olariaga 2009). Z mimoevropských zemí je druh hlášen například z Austrálie (Petersen 1978b), Nového Zélandu (Petersen 1988), Kanady (McAfee et Grund 1981). *Ramariopsis crocea* lze považovat za kosmopolitní druh.

Poznámky: Klad *Ramariopsis crocea* je ve stromech LSU i ITS situován společně s klady *R. minutissima* ad int. a *R. luteoochracea*. Klad *R. pulchella* je v ITS stromu velmi blízko, ve stromu LSU je jeho pozice o něco vzdálenější. V obou stromech je v kladu *R. crocea* přítomna jedna sekvence *R. crocea* f. *conspicua* R.H. Petersen (Birkebak et al. 2013), která má sesterskou pozici ke zbytku kladu (v obou stromech se jedná o sekvenci jiného sběru).

Ramariopsis crocea je druh všeobecně známý a jako jeden z mála kuřinců obvykle dobře určitelný již v terénu na základě drobných žlutooranžových plodnic, které se liší od podobného druhu *Clavulinopsis corniculata* (Schaeff.) Corner celkově menší velikostí a obvykle i barvou, jež je u *C. corniculata* mírně jiného odstínu oranžové (světle hnědooranžové či okrově oranžové). Záměna je ovšem v terénu i tak možná. Oba druhy jsou zcela odlišně mikromorfologicky – *Clavulinopsis corniculata* má větší (cca 4,5–6 x 4,5–5,5 μm), hladké, téměř kulovité až kulovité spory a bazidie obvykle delší než 40 μm .

Dalšími podobnými druhy jsou *Ramariopsis luteonana* (Schild) Olariaga a *Ramariopsis citrina* Schild. *R. luteonana* je velice vzácný druh popsáný ze Švýcarska (Schild 1971) a později udávaný pravděpodobně již jen z Velké Británie (Evans 2003), Německa (Aron et al. 2005) a Španělska (Olariaga 2009). Od *R. crocea* se odlišuje obvykle jednoduchými jednou větvenými, bledě žlutými až žlutými plodnicemi a téměř hladkými či velmi jemně zdrsněnými sporami s nižší Q hodnotou.

Ramariopsis citrina je druh, o němž pravděpodobně neexistují od jeho popisu (Schild 1971) další údaje. Liší se hlavně světlejší, citronově žlutou barvou plodnic, zřejmě méně výrazně ornamentovanými sporami a delšími bazidiemi [32–36(40) μm]. Je možné, že druhy *R. crocea* a *R. citrina* jsou synonymní, neboť výše vypsáné rozdíly se nezdají být natolik významné, aby bylo s jistotou možné prohlásit tyto dva druhy za jasně odlišené. Tento problém je možné vyřešit pouze za přispění molekulárně-fylogenetických metod s použitím sekvencí typového materiálu obou druhů.

Má pozorování a měření se velmi dobře shodují s údaji ve starších i recentních studiích (např. Corner 1950, 1970; McAfee et Grund 1981; Olariaga 2009; Kautmanová et al. 2012). Nejmarkantnější rozpory v rozměrech spor jsou v práci Pegler et Young (1985), kde jsou naměřené hodnoty v šířce i délce větší o cca 1 μm . Také Petersen (1988) udává o cca 1 μm delší spory. Knudsen et Vesterholt (2012) udávají o cca 1 μm menší rozpětí v délce spor. Makromorfologické znaky zcela korelují s údaji ostatních autorů. Kautmanová et al. (2012) popisuje nálezy mírně odlišných, hustě větvených, nadprůměrně vysokých plodnic (do 50 mm).

Studované sběry:

Česká republika. Jižní Čechy, Šumava, Stará Lhota, cca 400 m od nejbližší zástavby u lesní cesty nad vsí, 49°16'14.301"N, 13°8'24.419"E, 540 m.n.m., nekosená, svažité louka, před delší dobou možná pole, na zemi v trávě a mechu, 5. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0017). – Střední Čechy, Mrač, periferie obce nad železniční zastávkou, mezi zahradami a listnatým lesem, 49°49'56.160"N, 14°41'50.855"E, 307 m.n.m., nekosená louka, na zemi v trávě a v mechu, 18. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0116). – Střední Čechy, Lštěň, poblíž kostela sv. Klimenta na Hradišti, 49°52'2.296"N, 14°43'39.199"E, 365 m.n.m., pravděpodobně nekosená louka s přilehlým borem, listnatým lesem a křovinami (trnky), na zemi v trávě a v mechu, 14. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0041) – Severní Čechy, Krkonoše, Vrchlabí, kosená louka poblíž zástavby horní části města a listnatého lesa, 50°38'10.587"N, 15°36'35.970"E, 550 m.n.m., v trávě a mechu, 27. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0155).

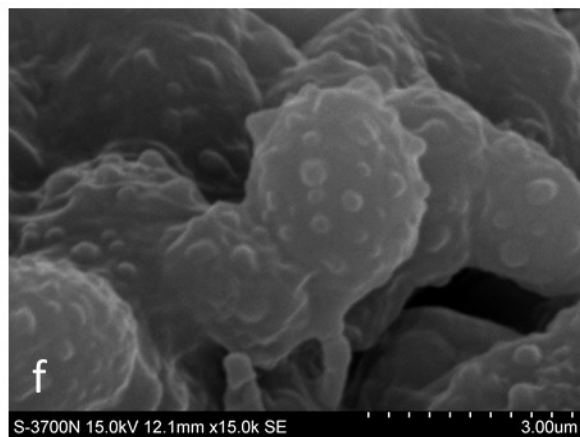
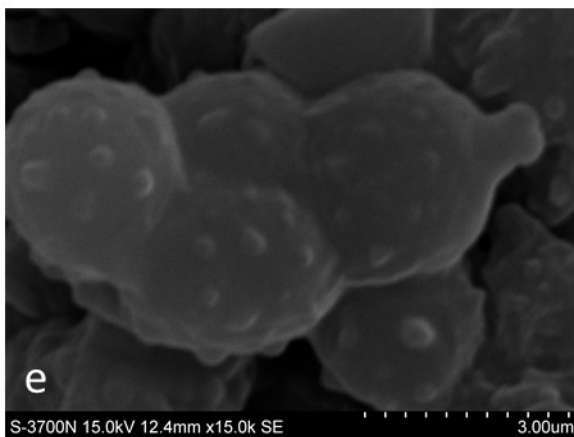
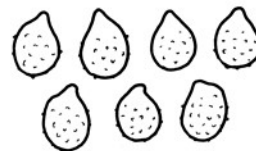
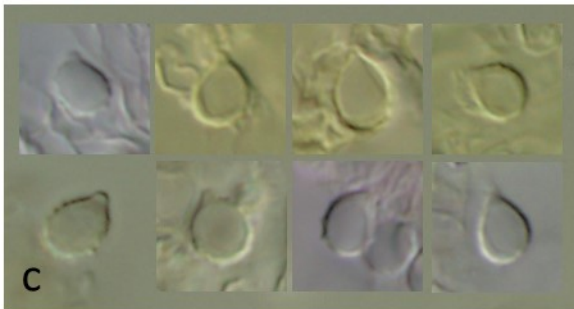


Fig. 6. *Ramariopsis crocea*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznačků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: J. Matouš. Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μ m.

4.5 *Ramariopsis minutula* (Bourdot & Galzin) R.H. Petersen, Mycologia 58 (2): 202 (1966)

Bazionym: *Clavaria minutula* Bourdot & Galzin, Hyménomycètes de France: 105 (1928)

Syn: *Clavulinopsis minutula* (Bourdot & Galzin) Corner, Annals of Botany Memoirs 1: 383 (1950)

Diagnostické znaky: Druh význačný velmi drobnými (do 25 mm výšky a 15 mm šířky), bílými či krémovými plodnicemi s velmi úzkými větvemi (do 1,5 mm), v kombinaci s téměř hladkými až velmi jemně ornamentovanými, široce elipsoidními až téměř kulovitými spory s nízkou Q_{av} (1,12–1,19), které jsou velmi drobné (prům. 2,88–3,2 \times 2,58–2,85 μ m), a velmi krátkými bazidiemi (prům. 16,4–18,1 \times 4,0–5,0 μ m).

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách či trsech, jednotlivé plodnice do 25 mm výšky a 15 mm šířky, řídce až relativně bohatě větvené, vzácněji jednoduché, barva ve spodních částech bílá, krémová, někdy až bledě naokrověle krémová, ve vyšších částech krémově bílá až bílá, po vyschnutí světle okrově šedá. Větve do 1,0 mm tlusté, rozbíhavé, (0)1–6(7) \times dichotomicky, vzácně trichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 1,0 mm široké, válcovité, axily tvaru U, vrcholy větví mírně ostré až ostré, někdy bifurkátní, bílé. Třeň do 1,5 mm tlustý, tvořící 1/4–1/2 celkové výšky plodnic, obvykle ostře či neostře vymezený od fertilní části, obvykle tmavší, krémový, krémově okrový až naokrovělý, někdy krémově narůžovělý, velmi jemně tomentózní. Dužnina ohebná. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory 2,6–3,6(3,9) \times 2,4–3,1(3,3) μ m (prům. 2,88; 3,08; 3,2 \times 2,58; 2,7; 2,85 μ m), $Q = 1,03$ – $1,38$, $Q_{av} = 1,12$; 1,14; 1,19; široce elipsoidní, široce kapkovité až téměř kulovité, tenkostěnné, vzácně slabě tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, téměř hladké až velmi jemně ornamentované, vzácněji jemně ornamentované či hladké, hilární apendix 0,4–0,8 μ m (prům. 0,5–0,61 μ m). Bazidie 14,5–21,5 \times 3,6–5,7 μ m (prům. 16,4; 17,7; 18,1 \times 4,0; 4,7; 5,0 μ m), hyalinní, tenkostěnné nebo někdy mírně až silně tlustostěnné, úzce kyjovité, vzácněji téměř válcovité, tetrasporické, vzácněji mono či bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 1,5–3,5 μ m, u bisporických či monosporických bazidií až 5,2 μ m (prům. 1,88; 2,5; 2,79 μ m). Hymenium 20,0–25,0 μ m tlusté. Subhymenium 12,0–16,5 μ m tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,5–4,5 μ m (prům. 2,15; 2,48; 3,1 μ m), s přezkami. Hyfy větví souběžné, vzácněji mírně propletené, s buňkami širokými 1,9–6,2 μ m (prům. 2,51; 3,31; 3,96 μ m), vzácně tlustostěnné, s přezkami. Hyfy třeně

propletené či zčásti souběžné, s buňkami širokými 1,6–4,4 μm (prům. 2,18; 2,42; 2,79 μm), někdy s anastomózami, s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Všechny 3 studované sběry rostly na holé zemi v listnatém lese nebo na jeho okraji, v kolinním stupni. Vzácny druh, kvůli svým velice drobným plodnicím může být ale přehlížen.

Z České republiky a Slovenska o tomto druhu existuje velice málo údajů (např. Pilát 1972, jako *Clavulinopsis minutula*; Holec et Adamčík 2008). Druh je známý z jižní Evropy (např. Corner 1950 jako *Clavulinopsis minutula*) a západní Evropy (Oertel et Fuchs 2001). Několik nálezů je uváděno z mimoevropských zemí, např. z asijské části Ruska (Kotiranta et al. 2016), z Austrálie (Petersen 1978b jako *Ramariopsis* cf. *minutula*) a z Nového Zélandu (Petersen 1988 jako *Ramariopsis* cf. *minutula*).

Poznámky: Klad *Ramariopsis minutula* je přítomen pouze ve stromě LSU, kde je zastoupen sekvencemi tří sběrů a situován poblíž velmi odlišných druhů *R. crocea* (Pers.) Corner a *R. pulchella*, (Boud.) Corner ale také velmi podobného druhu *R. minutissima* Matouš ad int. a sekvencí holotypů *R. cremicolor* R.H. Petersen a *R. junquillea* R.H. Petersen. Jedná se o nepříliš známý druh s relativně dobrými diagnostickými znaky. Záměna s jinými podobnými popsány druhy není pravděpodobná. Další druhy se zcela nebo téměř bílými plodnicemi (*R. kunzei*, *R. robusta*) mají celkově výrazně větší plodnice a výrazně ornamentované spory větších rozměrů. Velmi světlé plodnice *R. tenuiramosa* mohou být také podobné, ale i u něj jsou rozměry plodnic a spor větší, a spory jsou také relativně výrazně ornamentovány, i když slaběji než u předešlých druhů.

Ramariopsis kunzei var. *subasperata* Corner je podobný velmi malými rozměry plodnic (do 20 mm výšky), velmi jemně a jemně zdrsňelými sporami a relativně krátkými bazidii (18–20 μm). Jeho spory jsou také výrazně větší (4–4,5 \times 3–4 μm). (Corner 1950)

Ramariopsis lignicola Petersen je velmi málo známý druh popsáný ze severní Ameriky (Petersen 1966). Vyznačuje se také bílými až bělavými, velice drobnými plodnicemi (do 15 mm výšky), malými (2,8–3,2 \times 2,1–2,3 μm), hladkými sporami a krátkými bazidii (15–20 μm). Jediným výrazněji odlišným znakem je načervenalá až slámově načervenalá báze plodnice.

Ramariopsis klad 4 je podobný drobnými, světlými plodnicemi, které jsou ale obvykle mírně tmavší, především ve spodních částech plodnic. Tento taxon je však jasně odlišitelný sporami větších rozměrů (prům. 3,84–4,34 \times 2,76–3,25), vyšší hodnotou Q_{av} (1,33–1,41), delšími bazidii (prům. 25,9–33,0) a dalšími mikroznaky.

Ramariopsis minutissima Matouš ad int. vykazuje výraznou podobnost s *R. minutula* v barvě a částečně i ve velikosti plodnic, které jsou ale ještě drobnější. Liší se charakterem větvení (krátké, hustě se odvětvující, často mírně zploštělé větve), mírně většími sporami (3,1–4,4 \times 2,6–3,8 μm), větší

hodnotou Q_{av} (1,21–1,23) a delšími bazidiemi (19,0–27,0 μm). Na sporách těchto sběrů jsou navíc někdy patrné velice řídké (1–3 na jedné spoře) tupé, masivní výrůstky do cca 0,3 μm délky.

Názory na vymezení tohoto druhu se příliš neliší a pozorování autorů, kteří studovali typový materiál (Corner 1950; Petersen 1966; Pegler et Young 1985), relativně dobře odpovídají mým pozorováním. Jistý rozpor je v délce spor a pravděpodobně i v hodnotě Q_{av} . Pegler et Young (1985) uvádějí spory delší o cca 1–1,5 μm než Corner (1950) a o cca 0,8 μm delší než Petersen (1966), přičemž šířka spor není od zmíněných autorů příliš odlišná, lze se tedy domnívat, že odlišné budou i hodnoty Q_{av} . Na rozdíl od měření typu v práci Pegler et Young (1985) o hodnotě 1,27, se Q_{av} mnou studovaných sběrů pohybuje v rozmezí 1,12–1,19. Podobnou hodnotu (1,1) udávají také Oertel et Fuchs (2001), jejichž sběr je v ostatních znacích typický. Zdá se, že tento druh tedy může být variabilní především v Q hodnotě. Vyšší Q_{av} u *R. minutissima* ad int. lze považovat za dobrý diagnostický znak vymezující ho od *R. minutula*.

Studované sběry:

Česká republika. Střední Čechy, CHKO Český Kras, Měňany, vrch Strážiště, cca 450 m.n.m., v detritu pod duby, 2. IX. 2011, leg. et det. M. Kříž (PRM 935128). – Střední Čechy, CHKO Český Kras, Korno, vrch Vápenice, pod javory, lipami a mladými jasanami, 8. VII. 2011, leg. et det. M. Kříž (PRM 935144). – Severní Čechy, Karlov pod Ještědem, okraj NPR Karlovske bučiny (nad tratí), pod buky, spolu s *Ramariopsis pulchella*, 11. IX. 10, Leg. M. Kříž et Z. Egertová, det. M. Kříž (PRM 935108).

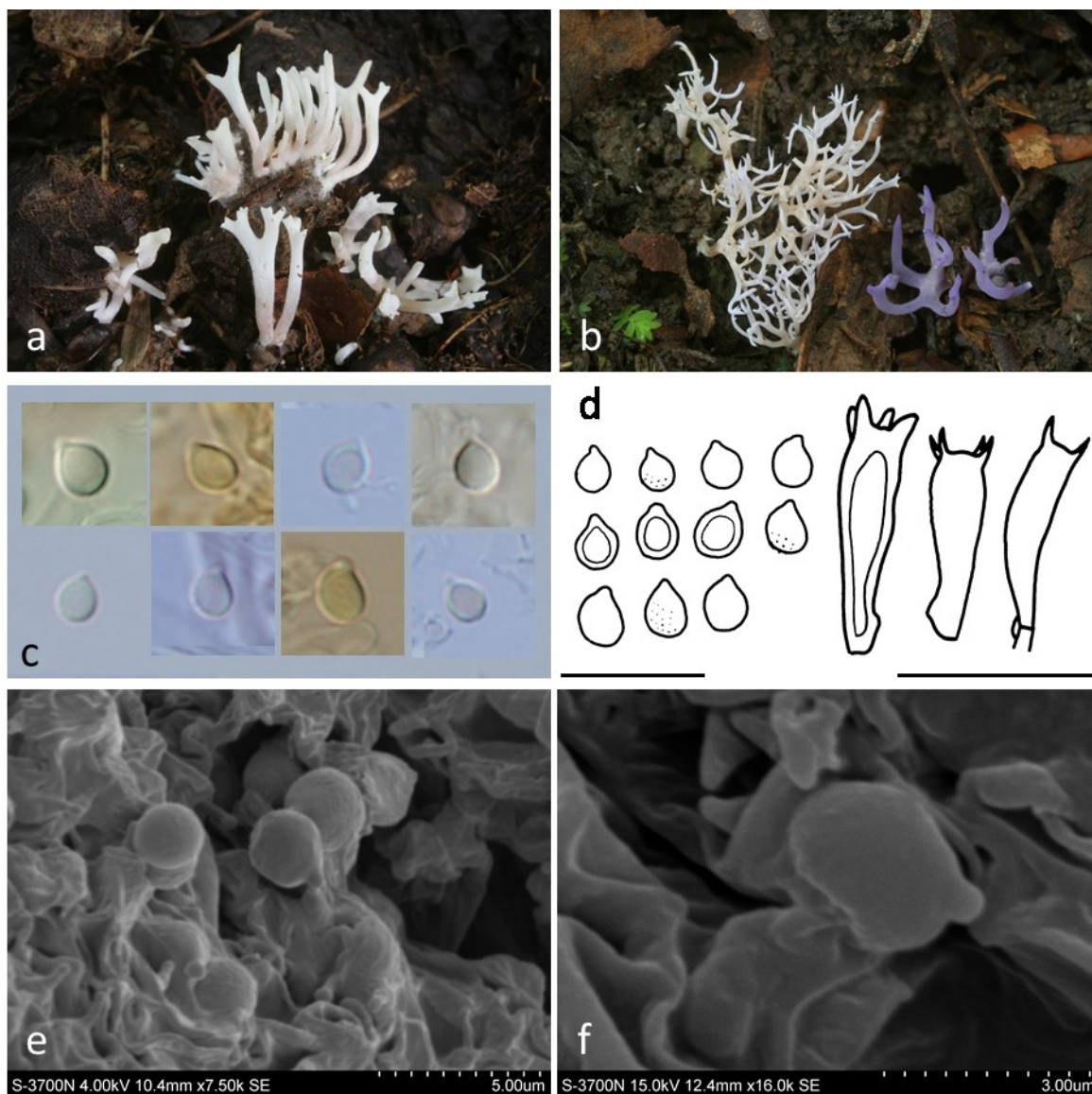


Fig. 7. *Ramariopsis minutula*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: M. Kříž (a, b), J. Matouš (c, e, f). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm .

4.6 *Ramariopsis minutissima* Matouš ad. int

Diagnostické znaky: Taxon rozlišitelný podle bílých, velice drobných plodnic do 20 mm výšky s velmi krátkými větvemi, se sporamai o průměrných hodnotách $3,60\text{--}3,74 \times 2,94\text{--}3,11 \mu\text{m}$ s Q_{av} 1,21–1,23 a bazidiemi o průměrné délce 22,5–25,1 μm .

Popis: Plodnice rostoucí obvykle v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 20 mm výšky a 12 mm šířky, relativně hustě větvené, bílé až krémové, někdy s velmi jemnými náznaky fialových tónů

směrem k bázi, po vyschnutí světle šedookrové. Větve do 1,0 mm tlusté, souběžné až rozbíhavé, 1–3 × dichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 1,5 mm široké, válcovité nebo mírně až silněji zploštělé, axily tvaru U až V, vrcholy větví mírně ostré až ostré, často krátce bifurkáttní, bílé. Třeň do 1 mm šířky, tvořící 1/3–3/4 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený jako fertillní část, bílý až krémový, někdy mírně tmavší, šedokrémový. Dužnina ohebná. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,1)3,2–4,3(4,4) × (2,6)2,7–3,5(3,8) μm (prům. 3,6; 3,67; 3,74 × 2,94; 3,02; 3,11 μm), Q = 1,06–1,38, Q_{av} = 1,21; 1,22; 1,23; elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji obvejčité či široce kapkovité, někdy s jednou velkou či dvěma menšími kapkami, tenkostěnné až mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, hladké nebo téměř neznatelně ornamentované, někdy jsou přítomny tupé, masivní výrůstky do cca 0,3 μm, v množství (0)1–3 na spoře, hilární apendix 0,5–1,0 μm (prům. 0,62–0,82 μm). Bazidie 19,0–27,0 × 4,2–5,4 μm (prům. 22,5; 23,0; 25,1 × 4,73; 4,84; 4,88 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité, vzácněji téměř válcovité, tetrasporické, vzácně bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,0–3,7 μm (prům. 2,91; 2,92; 2,93 μm). Hymenium 15,0–30,0 μm tlusté. Subhymenium 12,5–25,5 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,8–3,5 μm (prům. 2,63; 2,64; 2,65 μm), s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,0–6,0 μm (prům. 3,18; 3,73; 4,49 μm), s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 2,4–5,5 μm (prům. 3,5; 3,73; 4,29 μm), s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Oba dva studované sběry rostly na louce poblíž listnatých dřevin (sadu, resp. listnatého lesa) mezi mechtem a trávou v kolinním stupni. Vzácný druh, vzhledem k jeho extrémně malým rozměrům je ale pravděpodobně přehlížený.

Poznámky: V ITS stromě je klad *Ramariopsis minutissima* ad. int. tvořený dvěma sekvencemi, z nichž je jen jedna přítomna v LSU stromě. Pozice tohoto kladu v obou stromech dobře souhlasí. Jedná se o druh fylogeneticky blízký druhům *R. cremicolor*, *R. pulchella* a hlavně *R. minutula*, což je druh morfologicky velice podobný. Viz poznámky k *R. minutula*.

Studované sběry:

Česká Republika. Střední Čechy, Mrač, zřejmě nekosená louka na periferii obce mezi vlakovou zastávkou, listnatým lesem a nejbližší zástavbou, 49°49'56.160"N, 14°41'50.855"E, 307 m.n.m., na zemi mezi rostlinnými zbytky, mechtem a trávou, 18. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0115).

Slovensko. CHKO Bílé Karpaty, Nová Bošáca – Blažejová, zřejmě sekaná louka u sadu, 48°52'26.1"N, 17°49'05.4"E, 442 m.n.m., na holé zemi mezi roztroušeným mechtem a travinami, 7. XI. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0076).

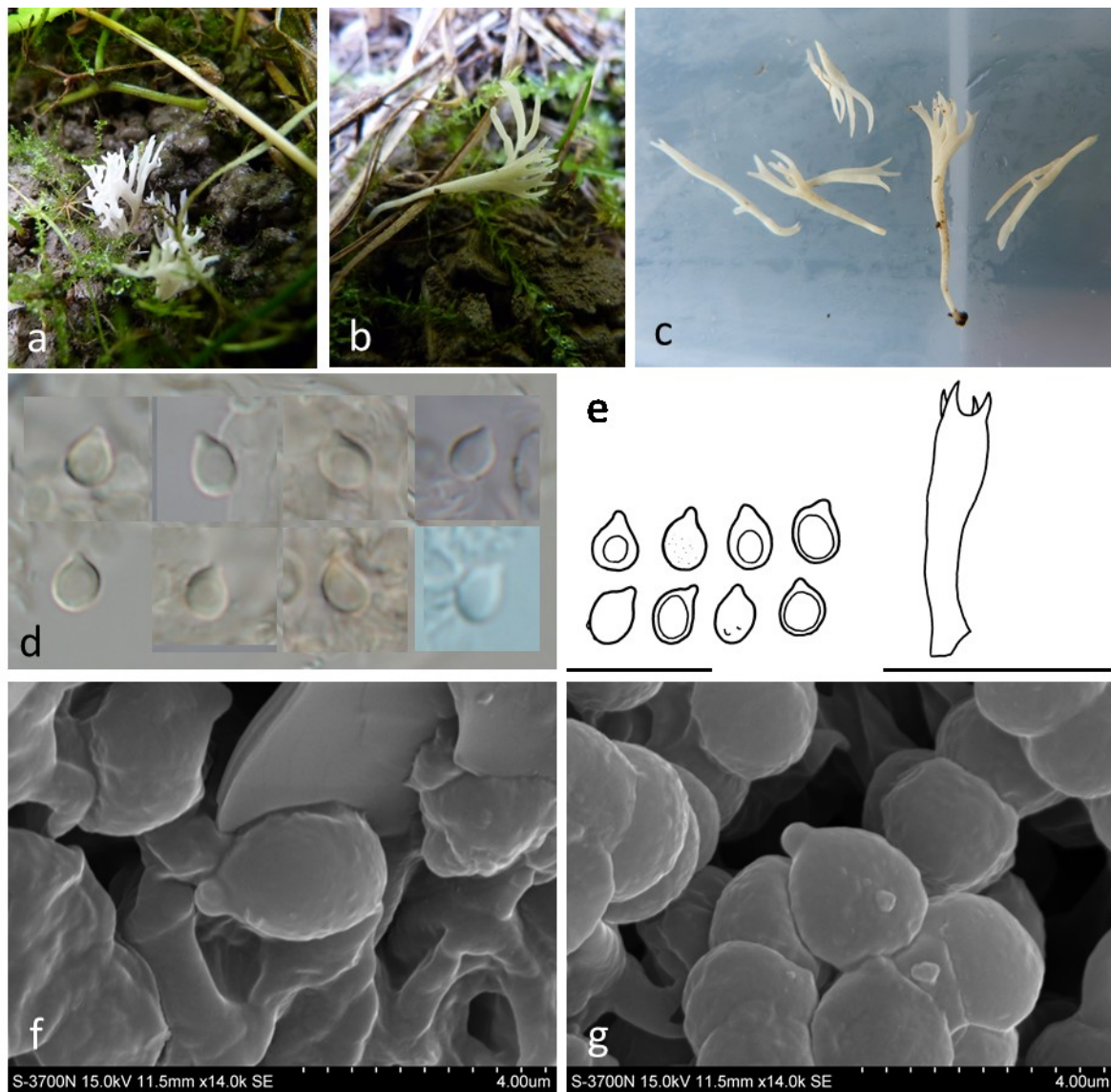


Fig. 8. *Ramariopsis minutissima* ad int. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznaků (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: J. Matouš. Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μ m. Měřítka pro kresby bazidií: 20 μ m.

4.7 *Ramariopsis pulchella* (Boud.) Corner, *Annals of Botany Memoirs* 1: 645 (1950)

Bazionym: *Clavaria pulchella* Boud., *Bulletin de la Société Mycologique de France* 3: ?? (1887)

Syn.: *Clavulinopsis pulchella* (Boud.) Jülich, *International Journal of Mycology and Lichenology* 2 (1): 121 (1985)

Diagnostické znaky: Druh význačný větvenými, fialovými či bledě fialovými plodnicemi, směrem k bázi často přecházejícími ve fialově žlutou až okrově žlutou, relativně malými, výrazně ornamentovanými sporami s délkou bradavek či tupých ostnů až 0,7 μm .

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 22 mm výšky a 15 mm šířky, řídce až hustěji větvené, bledě fialové až fialové, ve spodních částech přecházející ve fialově žlutou, fialově okrovou až okrově žlutou, po vyschnutí šedookrové, fialově-okrové až světle nafialověle šedé. Větve do 1,5 mm tlusté, obvykle však tenčí, do 1 mm, souběžné až mírně rozbíhavé, 1–4 \times dichotomicky větvené, válcovité, vzácně mírně zploštělé, axily tvaru U, vrcholy větví špičaté, zašpičatělé nebo oblé, stejně barevné jako větve nebo světlejší, bledě fialové až téměř krémové. Třeň do 1,5 mm šířky, obvykle však užší, do 1 mm, tvořící 1/10–1/5 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený jako větve nebo neostře odlišený, fialově žlutý až okrově žlutý, často s bílým tomentem. Dužnina ohebná až křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,2)3,3–4,1(4,3) \times (2,6)2,7–3,5(3,6) μm (prům. 3,71; 3,78; 3,89 \times 2,86; 3,05; 3,21 μm), $Q = 1,06\text{--}1,44$, $Q_{av} = 1,18; 1,24; 1,34$; široce elipsoidní, vzácněji elipsoidní či téměř kulovité, někdy s 1 kapkou, tenkostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, jemně až výrazněji ornamentované bradavkami až tupými ostny o délce obvykle do 0,4 μm , vzácněji až do 0,7 μm , hilární appendix 0,4–0,9 μm (prům. 0,63–0,71 μm). Bazidie 19,0–26,7 \times 4,1–5,3 μm (prům. 22,8; 23,1; 25,2 \times 4,65; 4,7; 4,9 μm), hyalinní, tenkostěnné, vzácně tlustostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, vzácněji bisporické, výjimečně i monosporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,6–3,5 μm (prům. 2,8; 2,91; 2,93 μm). Hymenium 22,0–33,0 μm tlusté. Subhymenium 18,5–32,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,5–3,6 μm (prům. 2,2; 2,44; 2,53 μm), vzácně nadmutými do 9,0 μm , s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,0–6,7 μm (prům. 3,08; 4,17; 4,61 μm), někdy nadmutými do 20,5 μm , s přezkami. Hyfy třeně souběžné až mírně propletené, s buňkami širokými 1,8–5,5 μm (prům. 3,12; 3,29; 3,53 μm), vzácněji nadmutými do 19,0 μm , někdy s anastomózami, s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Tři sběry z České republiky pocházejí z nesekané louky s roztroušenými listnatými stromy, v křovinách a smíšeném lese, v kolinním až submontánním stupni. Panamský sběr rostl na holé zemi v deštném lese. Druh je uvedený v červeném seznamu (Holec et Beran 2006) s kategorií ohrožení CR. I přes nápadně barevné plodnice je *R. pulchella* nalézán zřídka a jde o vzácný druh.

Tento druh je z České republiky a ze Slovenska uváděn vzácně (např. Pilát 1958, 1972; Kautmanová 2012). Vyskytuje se např. v západní Evropě (Senn-Irlet et al. 2007; Oertel et Fuchs 2001), v severní Evropě (Knudsen et al. 2012; Shiryayev 2009) a v jižní Evropě (Olariaga 2009). Z mimoevropských zemí je jeho výskyt doložen např. z asijské části Ruska (Kotiranta et al. 2016), z Austrálie (Petersen 1978b), Nového Zélandu (Petersen 1988), Mexika (Garcia-Sandoval et al. 2002) či z Bolívie a Brazílie (Corner

1970). Zde probíraný sběr KZP132 je pravděpodobně prvnálezem pro Panamu. Jedná se o kosmopolitní druh.

Poznámky: *Ramariopsis pulchella* je v LSU stromě situován jako sesterský klad k holotypu novozélandského druhu *R. junquillea*, v blízkosti kladů *R. minutissima* ad int., *R. cremicolor* a *R. minutula*. Jeho klad je tvořen čtyřmi sekvencemi, z nichž ani jedna není součástí ITS stromu. Klad *R. pulchella* v ITS stromě je tvořen dvěma sekvencemi a má mírně odlišnou pozici – jako sesterský druh *R. crocea*.

R. pulchella je všeobecně přijímaný druh. Má pozorování makro- i mikroznaků na střeoevropských sběrech se velmi přesně shodují s popisy ostatních autorů (Corner 1950; Petersen 1978b; Olariaga 2009; Kautmanová et al. 2012). Zajímavý je sběr PRC 3974 z Panamy, který není zahrnutý do popisu druhu, a který se liší výrazně menšími spory (3,2–3,6 × 2,4–2,9 μm) a ve fylogenetickém stromě LSU má sesterskou pozici ke všem střeoevropským sběrům. Jeho fotografie ani údaje o makroznacích bohužel neexistují.

Ramariopsis pulchella je díky svému fialovému zbarvení přecházejícímu ve spodních částech plodnice často ve žlutou prakticky nezaměnitelný. *Ramariopsis avellanea* R.H. Petersen je velmi málo známý druh popsáný z Nového Zélandu (Petersen 1988), který má také plodnice s odstíny fialové barvy, ale méně výrazné, spíše nafialověle světle hnědé až bledě matně fialové, bez žlutých tónů na bázi a zřejmě méně výrazně ornamentované spory. V rozměrech mikroznaků je druhu *R. pulchella* nápadně podobný. *Clavaria zollingeri* Lév. má mohutnější, křehké, sytější fialově zbarvené plodnice bez tendence žloutnout směrem k bázi. *Clavulina amethystina* (Bull.) Donk má fialovou až šedavě fialovorůžovou barvu bez žlutých odstínů na bázi. Oba druhy se od *R. pulchella* výrazně odlišují mikromorfologicky.

Studované sběry:

Česká republika. Severní Čechy, Kalešov u Roudnice nad Labem, 220 m.n.m., na holé zemi pod jasany, javory, ptačím zobem a svídou krvavou, 27. VIII. 2010, leg. D. Marounek, det. M. Kříž (PRM 922040). – Severní Čechy, Karlov pod Ještědem, okraj NPR Karlovské bučiny (nad tratí), pod buky, duby a smrky, 11. IX. 2010, leg. et det. M. Kříž a Z. Egertová (PRM 935107). – Východní Morava, CHKO Bílé Karpaty, Vyškovec, přírodní rezervace ve Vlčí, nesekaná louka s roztroušenými ovocnými stromy, 48°55'42.137" N, 17°51'22.034" E, 673 m.n.m., na zemi mezi trávou a mechem, 24. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0148).

Panama. Provincie Chiriquí, Boquete, Sendero Culebra, Pipe Line Trail, na zemi u cesty, 15. VII. 2015, leg. et det. O. Koukol et P. Zehnálek (KZP132).

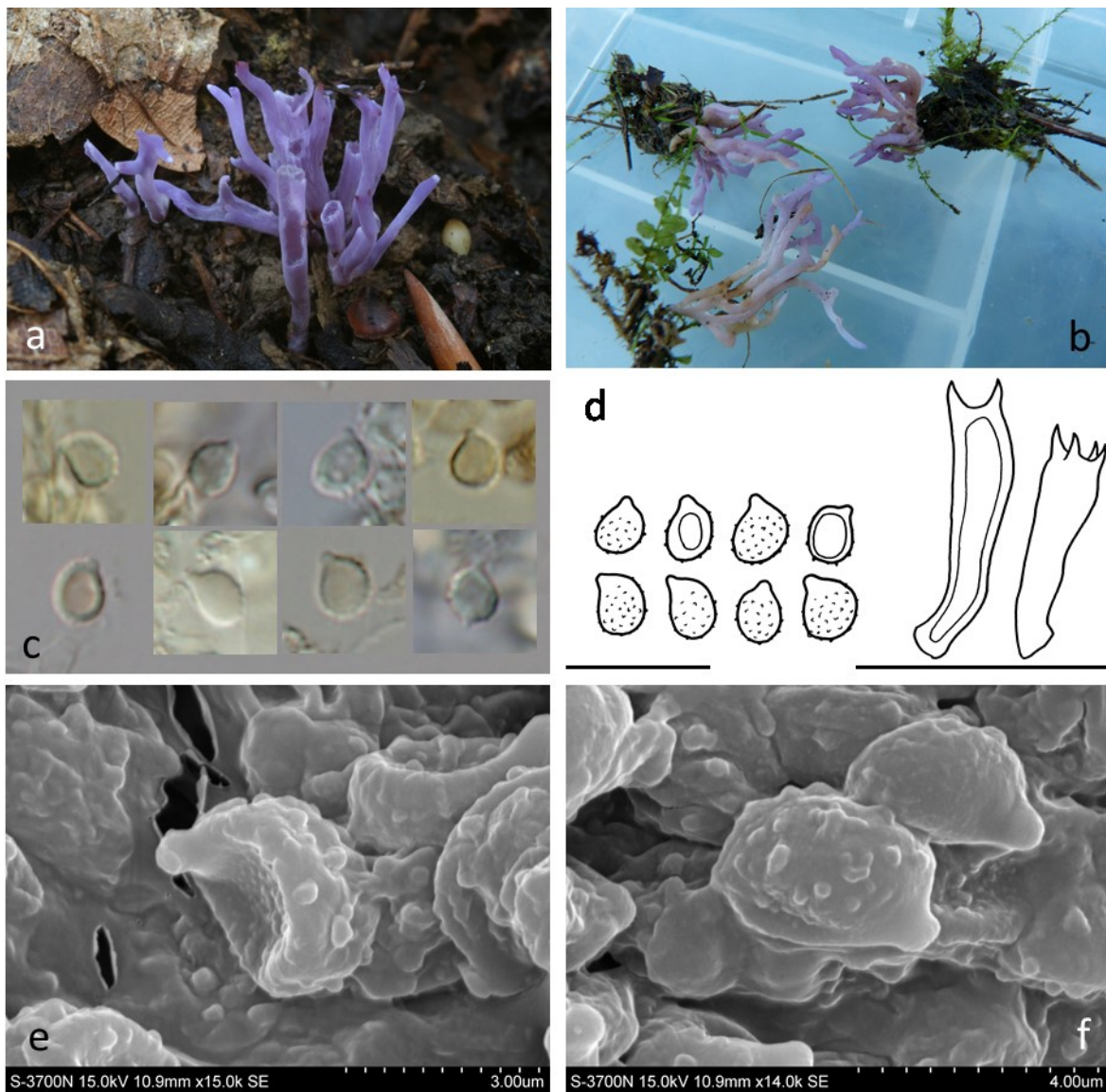


Fig. 9. *Ramariopsis pulchella*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: M. Kříž (a), J. Matouš (b, c, e, f). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm .

4.8 *Ramariopsis pseudotenuicula* Matouš ad int.

Diagnostické znaky: Taxon je rozeznatelný podle velice drobných (do 25 mm vysokých) a velmi řídké větvených [(0)1–2 \times] plodnic světlé barvy, obvykle bílé až krémové, vzácněji až naokrovělé, v kombinaci s relativně drobnými (prům. 3,62–4,29 \times 3,0–3,7 μm), elipsoidními až téměř kulovitými, jemně, často ale i relativně výrazně ornamentovanými spory s ostny dlouhými vzácně až 0,4–0,9 μm , obvykle však kratšími a s bazidiemi s proměnlivým počtem sterigmat (4, 2, 1).

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 25 mm výšky a 5 mm šířky, nevětvené nebo velmi řídce větvené, bílé, krémové, vzácně až světle okrové, po vyschnutí krémové, světle krémově okrové až okrové. Větve do 1,5 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, (0)1–2× dichotomicky, vzácně trichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 2 mm široké, válcovité, vzácně mírně zploštělé, axily tvaru U, vrcholy větví oblé, stejně barevné jako zbytek plodnice. Třeň do 1,5 mm šířky, tvořící 1/4–4/5 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený jako fertilitní část nebo mírně tmavší, světle krémově naokrovělý, na bázi vzácně velmi jemně narůžovělý, někdy mírně tomentózní. Dužnina ohebná až mírně křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,0)3,3–4,9(5,1) × (2,4)2,7–3,9(4,5) μm (prům. 3,62; 4,06; 4,29 × 3,0; 3,22; 3,7 μm), Q = 1,05–1,54, Q_{av} = 1,16; 1,26; 1,34; obvykle elipsoidní, široce elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji válcovité, úzce elipsoidní nebo kapkovité, někdy s výraznou suprahilární depresí, někdy s jednou kapkou, tenkostěnné, někdy tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, jemně až výrazněji ornamentované ostřejšími bradavkami až ostny, vzácně o délce až 0,4–0,9 μm, obvykle však kratšími, hilární apendix 0,5–1,0 μm (prům. 0,65–0,81 μm). Bazidie 22,5–37,0 × 4,4–6,5 μm (prům. 25,5; 29,1; 32,0 × 5,04; 5,43; 5,85 μm), hyalinní, tenkostěnné, u některých sběrů často tlustostěnné a někdy amyloidní, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, bisporické, monosporické, vzácně trisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,0–5,0 μm, u bisporických či monosporických bazidií až 7,5 μm (prům. 2,95; 3,72; 4,45 μm). Hymenium 27,0–37,0 μm tlusté. Subhymenium 19,0–31,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,6–3,9 μm (prům. 2,16; 2,47; 3,01 μm), někdy nadmutými do 22,4 μm, s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,0–9,0 μm (prům. 3,18; 4,58; 5,84 μm), někdy nadmutými do 21,0 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 2,0–6,4 μm (prům. 3,0; 3,71; 5,31 μm), vzácně nadmutými do 10,5 μm, s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě 6 studovaných sběrů lze shrnout, že tento druh se vyskytuje na kosených či nekosených, zřejmě nehnojených či extenzivně pasených loukách nebo na jejich okrajích či v listnatých lesích, v kolinním až submontánním stupni. Jedná se o roztroušeně se vyskytující druh.

Poznámky: *Ramariopsis pseudotenuicula* ad int. tvoří v LSU i ITS stromě dobře podpořený klad. V prvním případě je jeho pozice sesterská ke skupině morfologicky nejvariabilnějších kladů a tvoří ho pět sekvencí. Tři z těchto sekvencí jsou pak zastoupeny i v ITS stromě a tvoří v něm klad společně se čtvrtou sekvencí ze sběru MAT0143. Tento sběr morfologicky dobře zapadá do koncepce tohoto taxonu. Pozice kladu *R. pseudotenuicula* ad int. v ITS stromě je mírně odlišná, blíže variabilním kladům.

Ramariopsis pseudotenuicula ad int. je taxon, jehož velká podobnost k několika dalším taxonům studovaným v této práci a zároveň odlišnost od nejpodobnějších popsaných druhů znemožňuje jednoznačné přiřazení druhového jména. Nejpodobnější znaky má *Ramariopsis tenuicula*

(Bourdot & Galzin) R.H. Petersen. Tento druh je podobný drobnými (do 40 mm výšky), jednoduchými či jednou až dvakrát větvenými plodnicemi. Spory u tohoto druhu jsou ale výrazně menší (2,8–3,5 x 2,2–2,8 µm) a méně výrazně ornamentované. Také bazidie jsou uváděny zřetelně kratší – pouze do 20 µm délky (Petersen 1969). Podobné znaky udává i Corner (1950), jehož popis se liší jen menší velikostí plodnic (do 25 mm výšky). Oba zmínění autoři studovali holotyp tohoto druhu. Mnohem podobnější popis přináší Olariaga (2009), jehož *Ramariopsis tenuicula* má krémově bílé, ve stáří až šedavě okrové plodnice vysoké 15–20 mm, (0)1–3 x větvené, s jemně, někdy i výrazněji ostnitými, téměř kulovitými, vzácněji vejčitými spory o rozměrech 3–4,5(5) x 3–3,5(3,8) µm, s Q hodnotou 1,17–1,42 a bazidiemi o délce 26–35 µm. Je pravděpodobné, že Olariaga (2009) popisuje nikoli *R. tenuicula*, ale *Ramariopsis pseudotenuicula* ad int.

Asi nejpodobnějším taxonem je *Ramariopsis* klad 3, který se ale liší v několika mikromorfologických znacích (viz poznámky k *R.* klad 3), zejména méně výrazně ornamentovanými spory a často bisporickými či monosporickými bazidiemi, které jsou někdy tlustostěnné.

Ramariopsis klad 4 je podobný drobnými, světlými plodnicemi, ale jasně se odlišuje mikromorfologicky – vyšší hodnotou Q_{av} (1,33–1,41) a především téměř hladkými spory. *R. subtilis* je obvykle mírně tmavší a také se odlišuje hladkými, nebo téměř hladkými spory.

Studované sběry:

Česká republika. Jižní Čechy, CHKO Blanský les, vrch Granátník, 48°50.65' N, 14°19.96' E, cca 610 m.n.m., na okraji louky u lesa mezi jeřábníci chlupáčci, v trávě a mechu, 1. XI. 2014, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 933180, jako *Ramariopsis tenuiramosa*). – Střední Čechy, Dobřichovice, v bučině „U Obrázku“, v bukovém opadu, 4. X. 1996, leg. M. Svrček, det. J. Matouš (PRM 890170, jako *Clavulinopsis subtilis*). – Severní Čechy, CHKO Kokořínsko – Máchův kraj, Česká Lípa–Okřešice, PP Okřešické louky, v trávě a mechu, 5. XI. 2016, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 944486, jako *Ramariopsis tenuicula*). – Střední Čechy, Čtyřkoly, zřejmě kosená svažité louka na okraji smíšeného lesa a chatové osady na periferii obce, 49°52'21.201"N, 14°42'47.251"E, 317 m.n.m., v trávě, 5. XI. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0063). – Severní Čechy, Vrchlabí, kosená louka, 50°38'10.587"N, 15°36'35.970"E, 550 m.n.m., v mechu a trávě, 27. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0156).

Slovensko. CHKO Bílé Karpaty, Kálnica, mírně svažité, extenzivně pasená louka, 48°45'22.439"N 17°56'8.780"E, 250 m.n.m., 24. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0143).

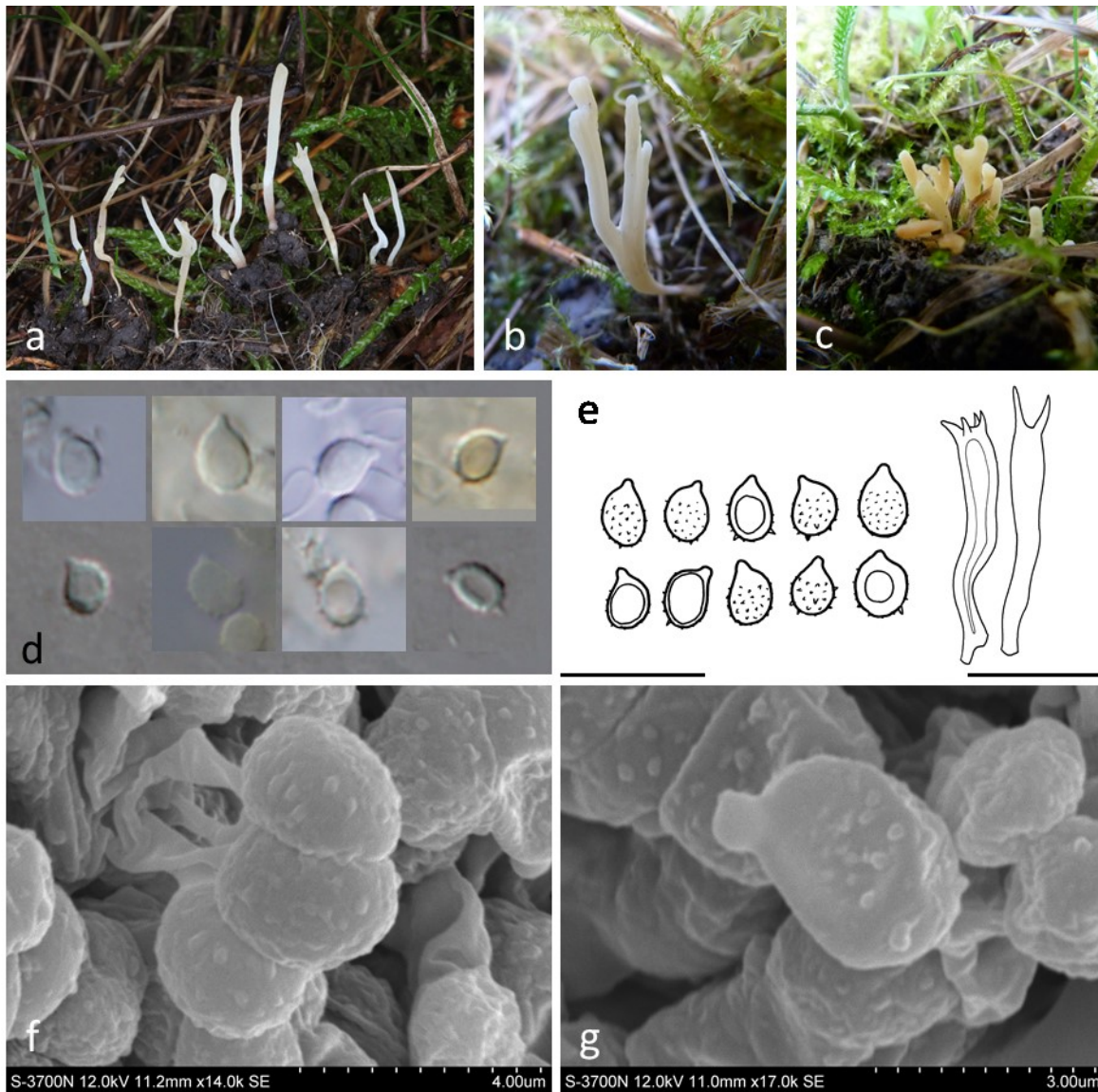


Fig. 10. *Ramariopsis pseudotenuicula*. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznaků (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: M. Kříž (a), J. Matouš (b, d, f, g). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm. Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm.

4.9 *Ramariopsis* klad 3 (aff. *biformis*, *tenuicula*, *tenuiramosa*)

Diagnostické znaky: Tento taxon je možné rozlišit pouze na základě kombinace většího množství znaků s nižší diagnostickou hodnotou. Jedná se o houby se spíše menšími, řidče větvenými plodnicemi v barvě přecházející od bílé až krémové ve vyšších částech, po spíše tmavší, krémově naokrovělou až krémově okrovou ve spodních částech, s nepřilíživým barevným přechodem,

elipsoidními až téměř kulovitými, velmi jemně, ale zřetelně ornamentovanými sporami o rozměrech prům. $3,53-4,35 \times 2,82-3,27 \mu\text{m}$ s Q_{av} 1,28–1,44, obvykle však do 1,39 a tetrasporickými bazidiemi.

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 45 mm výšky a 10 mm šířky, řídce větvené, barva světle krémově okrová, často přecházející v krémovou až bílou v horní polovině plodnic, po vyschnutí okrově šedá, okrová až okrově hnědá. Větve do 1,5 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, 1–3 × dichotomicky větvené, válcovité, axily tvaru U, někdy mírně ostřejší, vrcholy větví oblé nebo mírně zaostřené, světle krémově okrové nebo bílé, vzácně mírně tmavší, okrové. Třeň do 1,5 mm šířky, tvořící 1/3–3/4 celkové výšky plodnic, světle krémově okrový, neodlišený od fertilní části, někdy s jemným tomentem. Dužnina ohebná. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory $(3,0)3,4-4,7(5,2) \times (2,5)2,6-3,4(3,9) \mu\text{m}$ (prům. 3,53; 4,07; $4,35 \times 2,82$; 3,01; 3,27 μm), $Q = 1,11-1,56$, $Q_{av} = 1,28; 1,35; 1,44$; elipsoidní, široce elipsoidní, vzácně téměř kulovité, někdy s jednou kapkou, tenkostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, jemně ornamentované nízkými bradavkami do cca 0,2 μm délky, vzácněji až téměř hladké, hilární appendix 0,5–1,0 μm (prům. 0,68–0,8 μm). Bazidie $20,0-34,0 \times 4,2-6,0 \mu\text{m}$ (prům. 24,7; 27,0; $31,9 \times 4,33$; 5,1; 5,54 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,3–4,5 μm (prům. 3,33; 3,63; 3,83 μm). Hymenium 20,0–30,0 μm tlusté. Subhymenium 10,5–20,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,5–3,5 μm (prům. 2,4; 2,58; 2,76 μm), někdy nadmutými do 15,0 μm , s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,5–8,4 μm (prům. 4,46; 4,6; 5,05 μm), někdy nadmutými do 19,0 μm , s přezkami. Hyfy třeně souběžné či mírně propletené, s buňkami širokými 1,8–6,5 μm (prům. 2,48; 3,33; 4,46 μm), velmi vzácně nadmutými do 10,2 μm , s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě 7 studovaných sběrů je možné shrnout, že tento druh se vyskytuje na občasně kosených či nekosených, nehojených loukách, na pastvinách či v křovinách, v kolinním až submontánním stupni. Roztroušeně se vyskytující taxon.

Poznámky: *Ramariopsis* klad 3 je v LSU stromě tvořen sekvencemi sedmi sběrů, z nichž dva tvoří tuto skupinu v ITS stromě. Oba stromy tedy souhlasí složením sekvencí. *Ramariopsis* klad 3 je v obou stromech situován v komplexu odvozenějších kladů, ale jejich pozice se mírně liší. Navíc v ITS stromě jsou si sekvence *R.* klad 3 sice velice blízké, ale netvoří klasický klad – jedná se o formu sesterské příbuznosti. Pokud by bylo v tomto stromě přítomno větší množství sekvencí tohoto taxonu, situace by pravděpodobně vypadala odlišně. *R.* klad 3 v ITS stromě je sesterskou skupinou k *R. subtilis*. Této skupině je pak sesterský klad *R.* klad 4, jehož sekvence ale v LSU stromě zcela chybí.

Ramariopsis klad 3 a *Ramariopsis pseudotenuicula* ad int. představují fylogeneticky blízké, nicméně dobře ohraničené druhy. Oba jsou si velice podobné v mnoha znacích a oba jsou morfologicky relativně proměnlivé. V obou případech lze ale nalézt kombinaci znaků, která umožní determinaci s relativně vysokou pravděpodobností a vzájemné odlišení. Makromorfologicky se oba

druhy liší především velikostí plodnice a úrovní větvení. *Ramariopsis* klad 3 má plodnice vysoké do 45 mm a vždy větvené (1–3x). *Ramariopsis pseudotenuicula* ad int. má plodnice výrazně menší (vysoké do 25 mm), jednoduché či velice řídce větvené [(0)1–2x]. Rozdíl v barvě mezi těmito taxony je zanedbatelný především kvůli velké variabilitě tohoto znaku u *R. pseudotenuicula* ad int., který přechází v barvě od téměř čistě bílé po světle okrovou. Jistým vodítkem může být častý barevný přechod od tmavších bází plodnic ke světlým větvím u *R. klad 3*, zatímco u *R. pseudotenuicula* ad int. tyto přechody zcela chybí nebo jsou téměř neznatelné a plodnice bývají stejně zbarvené ve všech částech. Ostatní makromorfologické znaky jsou totožné nebo velice podobné.

Mikromorfologicky se klady liší kombinací znaků na sporách a bazidiích. Velikostí se spory liší jen mírně a to hlavně v šířce, což ovlivňuje Q_{av} (1,28–1,44 u *R. klad 3* × 1,16–1,34 u *R. pseudotenuicula* ad int.). Tento znak může být díky relativně vysokému překryvu hodnot nápomocný determinaci jen v jistých případech. Tvar spor je u *R. klad 3* více variabilní, spory jsou si ale přesto u obou druhů v tomto znaku obvykle velmi podobné. Nejdůležitějším znakem je ornamentika spor. Zatímco u *R. klad 3* je ornamentika na všech sporách víceméně konstantní, velmi jemná, tvořená velmi nízkými bradavkami (cca do 0,2 μm), *R. pseudotenuicula* ad int. má spory výrazněji ornamentované bradavkami až ostny, přičemž ty nejdéší mohou být dlouhé 0,4–0,7, výjimečně až 0,9 μm . Ostny těchto rozměrů se ale vyskytují na sporách nepravidelně, u některých spor zcela chybí a u některých sběrů tohoto kladu jsou velmi vzácné. I přesto je ale ornamentika u *R. pseudotenuicula* ad int. vždy výraznější než u *R. klad 3*. Bazidie jsou v rozměrech prakticky totožné, ale výrazně se odlišují počtem sterigmat. Zatímco *R. klad 3* má na studovaném materiálu bazidie vždy tetrasporické a tenkostěnné, *R. pseudotenuicula* ad int. má obvykle v hymeniu přítomny tetrasporické, bisporické, monosporické a velmi vzácně i trisporické bazidie, přičemž bisporické a monosporické bazidie někdy dokonce převládají. Častý je také výskyt silnostěnných bazidií, které jsou někdy amyloidní. Jiné znaky, které by se daly využít k rozlišení obou druhů, jsem nenalezl.

V extrémně morfologicky variabilním kladu *Ramariopsis* klad 2 nalezneme sběry, které se morfologií blíží houbám z *R. klad 3* a *R. pseudotenuicula* ad int. (viz poznámky k *R. klad 2*).

Možná je i záměna *R. klad 3* s *R. rufipes*, který by měl mít obvykle robustnější a tmavší plodnice a vyšší hodnotu Q_{av} , ale někdy se mohou tyto znaky s *R. klad 3* překrývat. Dobrým rozlišovacím znakem jsou rozměry spor, které jsou u *R. rufipes* relativně výrazně vyšší (prům. 4,64–4,86 × 3,39–3,46 μm).

Také silně proměnlivý druh *Ramariopsis subtilis* může být v některých případech velice podobný. Týká se to především sběrů s nadprůměrně vyvinutou ornamentikou. V tomto případě je odlišení již složitější. *R. subtilis* má o něco vyšší hodnotu Q_{av} (1,3; 1,42; 1,66) a větší spory (4,13–4,79 × 3,02–3,43 μm), ale vzhledem k proměnlivosti a větší vzájemné překryvnosti mikro i makroskopických znaků těchto dvou taxonů je odlišení v extrémních případech velice obtížné. Většinou by však k úspěšnému rozlišení měly stačit téměř hladké spory *R. subtilis*., resp. jemně ornamentované spory *R. klad 3*.

Ramariopsis klad 4 je velmi podobný druh, který se liší především světlejšími plodnicemi a sporami, které jsou téměř vždy zřetelně méně ornamentované, než u *R.* klad 3, přesto je však záměna možná v případě, nadprůměrně světlých plodnic *R.* klad 3 se slaběji ornamentovanými sporami, než je obvyklé.

Nejvíce se *R.* klad 3 blíží charakteristiky druhů *Ramariopsis biformis* (G.F. Atk.) R.H. Petersen, *Ramariopsis tenuicula* (Bourdot & Galzin) R.H. Petersen a *Ramariopsis tenuiramosa* Corner. Morfologicky jsou si tyto tři druhy velice blízké a všechny jsou také ve svých popisech proměnlivé. Otázkou je, jestli je některý ze zmíněných druhů fylogeneticky identický s *R.* klad 3 či *R. pseudotenuicula* ad int. a jestli nejsou některé nebo všechny tyto zmíněné druhy navzájem synonymní. Společně s morfologickými rozdíly, které jsou mezi mnou zjištěnými klady a zmíněnými druhy je otázka možné synonymiky důvodem, proč jsem *R.* klad 3 neoznačil jedním ze zmíněných jmen.

Ramariopsis biformis, *R. tenuicula* i *R. tenuiramosa* jsou popisovány jako drobné houby, vysoké maximálně 40 mm, které jsou velmi řídké větvené a variabilní v barvě plodnic (Corner 1950; 1970; Petersen 1964; 1969). Druh *Ramariopsis tenuiramosa* je uváděn v barevném rozpětí od bílé, přes krémovou, bledě okrovou až žlutavě světle olivově hnědou (Corner 1950; 1970). Do tohoto barevného rozpětí lze začlenit *Ramariopsis biformis* i *Ramariopsis tenuicula* (Petersen 1964; 1969). Ostatní makromorfologické znaky jsou dle popisů zmíněných autorů navzájem téměř nebo zcela totožné a dle mého názoru je determinace na jejich základě vyloučena. Odlišnosti v mikroznacích existují, ovšem nejsou nijak výrazné. Hlavní rozdíly jsou v Q hodnotě spor a délce bazidií. Q hodnota spor holotypů je bohužel uváděna pouze v práci Pegler et Young (1985), přičemž o správnosti měření v této studii zaměřené primárně na buněčnou stěnu spor je nutno pochybovat (viz kapitola 5.3.3). Tato práce je však hodnotná díky přímému srovnání spor všech tří holotypů na perokresbách. Tyto kresby ukazují spory *R. biformis*, *R. tenuiramosa* i *R. tenuicula* jako téměř stejně veliké a tvarově i ornamentikou také velice podobné. Zvláštní je tedy rozpor mezi těmito nákresey a měřeními udávanými v této práci, které naznačují, že odlišnosti ve tvaru, minimálně mezi *R. biformis* (Q = 1,18–1,52) a *R. tenuiramosa* (Q = 1,09–1,23), by měly být zřetelné. Hodnota Q u *R. tenuicula* je zde uváděna jako 1,25, takže se blíží spíše *R. biformis*.

Dalším rozdílem je délka bazidií. Tento znak ale není jednoznačně interpretovatelný, neboť v popisu *R. tenuiramosa* (Corner 1950) je uveden jen nepřímou větou „bazidie stejné jako u *Ramariopsis kunzei*.“ To znamená, že bazidie *R. tenuiramosa* by měly být dlouhé 25–40 μm , zatímco *R. biformis* by měl mít bazidie dlouhé jen 15–25 μm (Petersen 1964).

Pokud ignoruji hodnoty spor v Pegler et Young (1985), pak se bude ze všech tří druhů nejvíce odlišovat *R. tenuicula* s bazidiemi do 20 μm a se sporami o délce cca 3,0–3,5 \times 2,2–3 μm (Corner 1950; Petersen 1969), které jsou tedy zhruba o 0,5–1 μm kratší než u *R. biformis* (Petersen 1964) i *R.*

tenuiramosa (Corner 1950). V tomto pojetí bych tedy mohl *R. tenuicula* pravděpodobně vyloučit jako možné jméno pro *R.* klad 3 i *R. pseudotenuicula* ad int.

Je zřejmé, že s jistotou nelze k *Ramariopsis* klad 3 ani *Ramariopsis pseudotenuicula* ad int. přiřadit ani jedno z diskutovaných jmen. I přes výraznou podobnost jsou v některých ohledech tyto klady morfologicky odlišné od popisů všech tří zmíněných druhů. Vzhledem k morfologické variabilitě mých sběrů v obou kladech, i k variabilitě morfologických znaků všech tří zmíněných druhů je však možné, že některé ze jmen náleží k některému z kladů. Toto lze ale s jistotou říci jen po molekulárně-fylogenetické analýze s využitím sekvencí holotypů všech tří druhů.

Studované sběry:

Česká republika. Střední Čechy, Čtyřkoly, zhruba dvakrát ročně kosená, mírně svažité louka u chatové osady na periferii obce, na jedné straně hraničící s lesní cestou a křovinami, na druhé se Zaječickým potokem, 49°52'25.309"N, 14°42'45.298"E, 300 m.n.m., 16. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0087). – Východní Čechy, CHKO Žďárské vrchy, Stružinec, malý, zřejmě sporadicky kosený palouk na periferii obce, poblíž vlakové zastávky, 49°43'51.449"N, 15°50'5.278"E, 658 m.n.m., v trávě a mechu, 10. XI. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0162). – Ibid. 10. XI. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0163).

Slovensko. CHKO Bílé Karpaty, Nová Bošáca – Blažejová, pravděpodobně nesekaná, nehnojená louka, 48°52'33.380"N, 17°49'4.300"E, 415 m.n.m., 7. XI. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0078). – Ibid. 23. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0130). – Bílé Karpaty, Chochoľná-Velčice, Kykula, na pastvině, 700 m.n.m., 24. X. 2013, leg. V. Kautman, det. J. Matouš (BRA CR20544, jako *Ramariopsis microspora*). – Turzovská Vrchovina, Korňa, u Žilov, pod lískami, 25. IX. 2014, leg. V. Kautman, det. J. Matouš (SKX2).

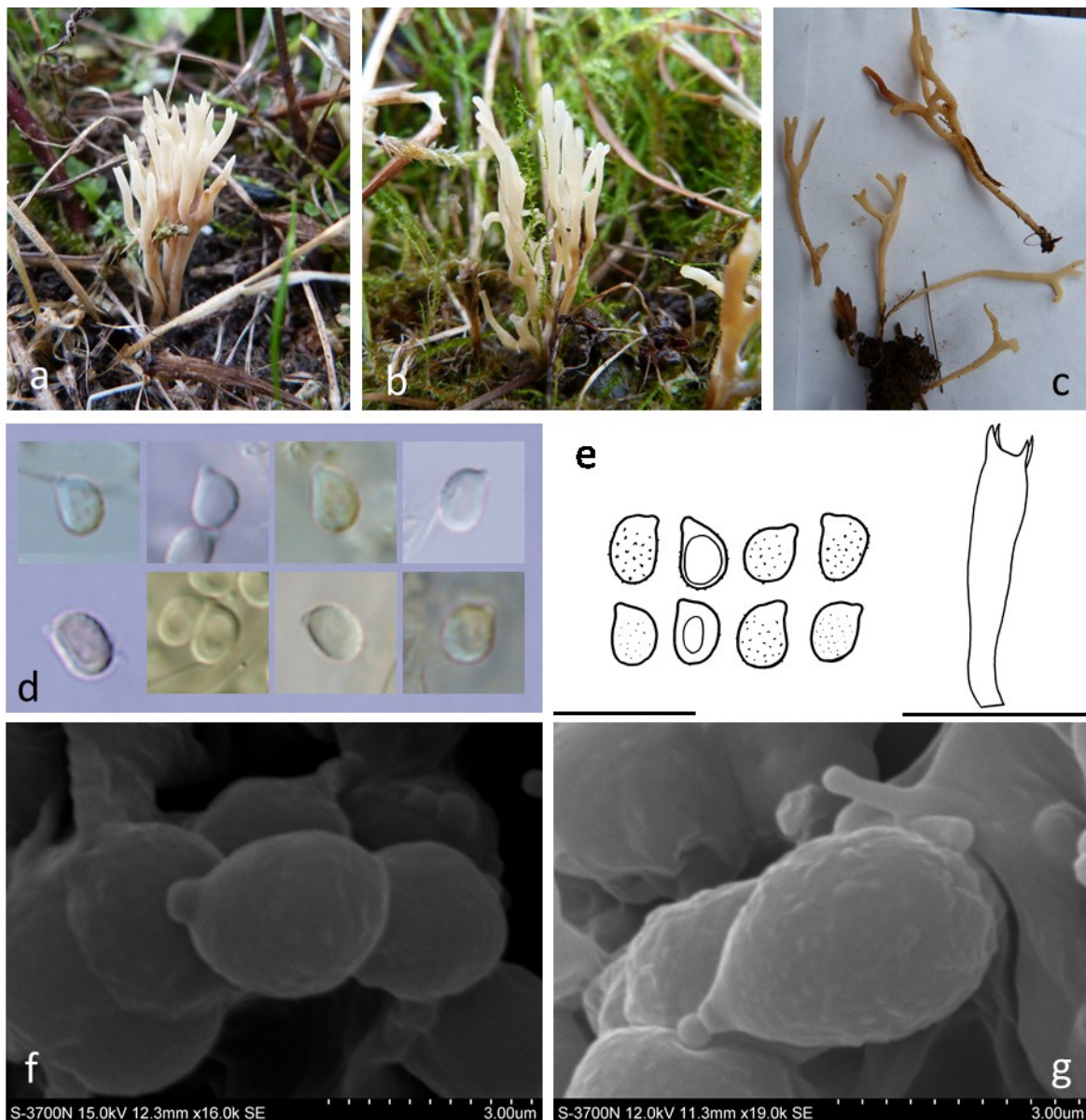


Fig. 11. *Ramariopsis klad 3*. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznaků (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: J. Matouš. Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μm . Měřítka pro kresby bazidií: 20 μm .

4.10 *Ramariopsis* klad 2 (aff. *avellaneoinversa*)

Diagnostické znaky: bez výraznějších diagnostických znaků

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo vzácněji v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 40 mm výšky a 20 mm šířky, řídce až relativně hustě větvené, barva ve spodních částech světle okrově šedá, vzácněji krémová, ve vyšších částech krémová až krémově bílá, po vyschnutí světle okrově šedá až okrově šedá. Větve do 1,0 mm tlusté, souběžné, 2–4× dichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 1,5 mm široké, válcovité, axily tvaru U, vrcholy větví oblé nebo mírně ostré, bílé. Sterilní část do 1,5 mm šířky, tvořící 1/6–1/5 celkové výšky plodnic, světle okrově šedá, vzácněji krémová, neodlišená od fertillní části. Dužnina mírně ohebná až křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,4)3,6–5,0(5,2) × (2,8)3,0–4,0(4,1) μm (prům. 3,93; 4,28; 4,48 × 3,22; 3,52; 3,75 μm), Q = 1,03–1,57, Q_{av} = 1,1; 1,22; 1,38, elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji kapkovité, obvykle s 1 kapkou, tenkostěnné, vzácněji mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, téměř hladké až jemně ornamentované tupými bradavkami až oblými ostny, vzácně i výrazně ornamentované s ostny dlouhými max. 0,4–0,7 μm, hilární apendix 0,5–1,3 μm, (prům. 0,76–0,88 μm). Bazidie 24,4–33,8 × 4,2–7,0 μm (prům. 27,4; 28,2; 29,1 × 5,25; 5,49; 6,08 μm), hyalinní, tenkostěnné, velmi vzácně mírně tlustostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,4–4,4 μm (prům. 3,3; 3,39; 3,49 μm). Hymenium 25,0–50,0 μm tlusté. Subhymenium 15,0–33,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o šířce 1,6–3,5 μm (prům. 2,39; 2,46; 2,55 μm), někdy nadmutými na pomezí subhymenia a tramy, do 12,5 μm, s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 1,7–7,8 μm (prům. 3,4; 3,93; 4,14 μm), vzácně nadmutými do 14,5 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 1,7–6,2 μm (prům. 3,18; 3,36; 3,51 μm), s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Všechny 3 studované sběry rostly na sporadicky kosených, nehnojených loukách mezi mechem trávou či bylinami v kolinním stupni.

Poznámky: *Ramariopsis* klad 2 v LSU stromě je kromě sekvencí níže vypsanych sběrů z České republiky a Slovenska tvořen také sekvencí sběru určeného jako *Ramariopsis biformis* a sekvencí holotypu *Ramariopsis avellaneoinversa* Petersen (KP399950). Jedná se o morfologicky velice variabilní skupinu bez výrazného jednotícího znaku. Je pravděpodobné, že s větším množstvím sekvencí by vzniklo několik subkladů, které by bylo možné daleko lépe morfologicky vymezit. V ITS stromě je *R.* klad 2 tvořen pouze jedinou sekvencí přítomnou i ve stromě LSU (MAT0129) a dále nepublikovanou sekvencí sběru z GenBank určeného jako *Ramariopsis* cf. *subtilis*.

Druh *Ramariopsis avellaneoinversa* byl popsán relativně nedávno z Nového Zélandu (Petersen 1988) a podobně jako o velkém množství zástupců čeledi Clavariaceae popsanych v této práci o něm

nejsou z pozdější doby v odborné literatuře zřejmě žádné zmínky. Je znám zřejmě pouze z jediného nálezu na stromové kapradině a popsán na základě barevné kombinace přecházející od špinavě bílé až bledě matně šedé na třeni po oříškově hnědou ve vyšších částech plodnice, elipsoidních, výrazně ornamentovaných spor (podobných sporám u *R. robusta*) a velmi výrazné makrochemické reakce hymenia a železitých solí, která způsobuje rychlé zčernání s velmi krátkou zelenou mezifází (Petersen 1988).

Na sběrech MAT0042, MAT0054 a MAT0129 nebyla bohužel provedena makrochemická zkouška, přesto se ale dají dobře odlišit od *R. avellaneoinversa* na základě barvy plodnice a méně výrazně ornamentovaných spor. MAT0129, jehož spory jsou nejvýrazněji ornamentované, se liší mj. tvarem spor, které jsou široce elipsoidní až téměř kulovité. Evidentně se tedy nejedná o tentýž druh.

Příslušnost sběrů MAT0042 a MAT0054 k druhu *R. biformis* je také nepravděpodobná. Oba sběry se navzájem relativně výrazně mikromorfologicky odlišují a zároveň se oba liší i od popisu *R. biformis*, kterému jsou podobné pouze makromorfologicky. MAT0042 má spory podobného tvaru a rozměrů ($3,4\text{--}5,2 \times 2,8\text{--}3,7 \mu\text{m}$), které jsou ale na rozdíl od *R. biformis* téměř hladké (někdy i zcela hladké). MAT0054 má sice jemně ornamentované spory, ovšem s hodnotou Q_{av} pouze 1,1, což je zcela mimo hodnoty u druhu *R. biformis*, který by měl mít rozpětí Q hodnot spor 1,18–1,52 (Pegler et Young 1985) – tato práce je ale v údajích o rozměrech spor a Q hodnotách nedůvěryhodná (viz diskuse). Je tedy pravděpodobné, že sběry MAT0042, MAT0054 a JMB10061006 jsou zástupci druhu značně variabilního ve tvaru a ornamentice spor, jehož některé sběry mohou silně připomínat podobné druhy *R. biformis*, *R. tenuicula*, *R. tenuiramosa* – proto je možná záměna i s *R. klad 3*, který je popisem těmito třem druhům nejbližší. Sběr *R. biformis* JMB10061006 (Birkebak et al. 2013) je zřejmě určen nesprávně.

Sběr MAT0129 je sesterský ke všem ostatním sběrům tohoto kladu a zároveň je od nich relativně odlišný na základě výrazněji ornamentovaných spor s ostny dlouhými výjimečně až $0,7 \mu\text{m}$ a plodnicemi bez tendence tmavnout směrem k bázi. Tento sběr je Q hodnotou (a tvarem spor) předělem mezi MAT0042 a MAT0054 a rozměry spor, bazidií a dalšími mikroznaky je s nimi totožný. Především kvůli výrazné ornamentice a rozměrům spor, Q_{av} hodnotě, rozměrům bazidií a téměř bílým plodnicím je tento sběr téměř neodlišitelný od *R. kunzei*. Sběr MAT0129 tak představuje zástupce potencionálního kryptického druhu, jehož rozšíření a diagnostické znaky bude možné zjistit jen na základě další molekulárně-fylogenetické studie podpořené větším množstvím jeho sekvencí a také srovnáním s neotypem *R. kunzei* po jeho ustanovení.

Studované sběry:

Česká Republika. Střední Čechy, Lštění, sporadicky kosená louka na pomezí listnatého lesa a mladého boru u kostela Sv. Klimenta, $49^{\circ}52'2.296''\text{N}$, $14^{\circ}43'39.199''\text{E}$, 365 m.n.m., na zemi mezi zbytky bylin a trávou, 14. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0042). – Střední Čechy, Senohraby, sporadicky kosená louka na periferii obce

vedle ulice „U Transformátoru“, 49°53'49.881"N, 14°43'10.623"E, 363 m.n.m., na zemi mezi řídkým porostem bylin, 22. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0054).

Slovensko. CHKO Bílé Karpaty, Nová Bošáca – Blažejová, pravděpodobně nesekaná louka, 48°52'33.380"N, 17°49'4.300"E, 415 m.n.m., na zemi mezi mechem a trávou, 23. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0129).

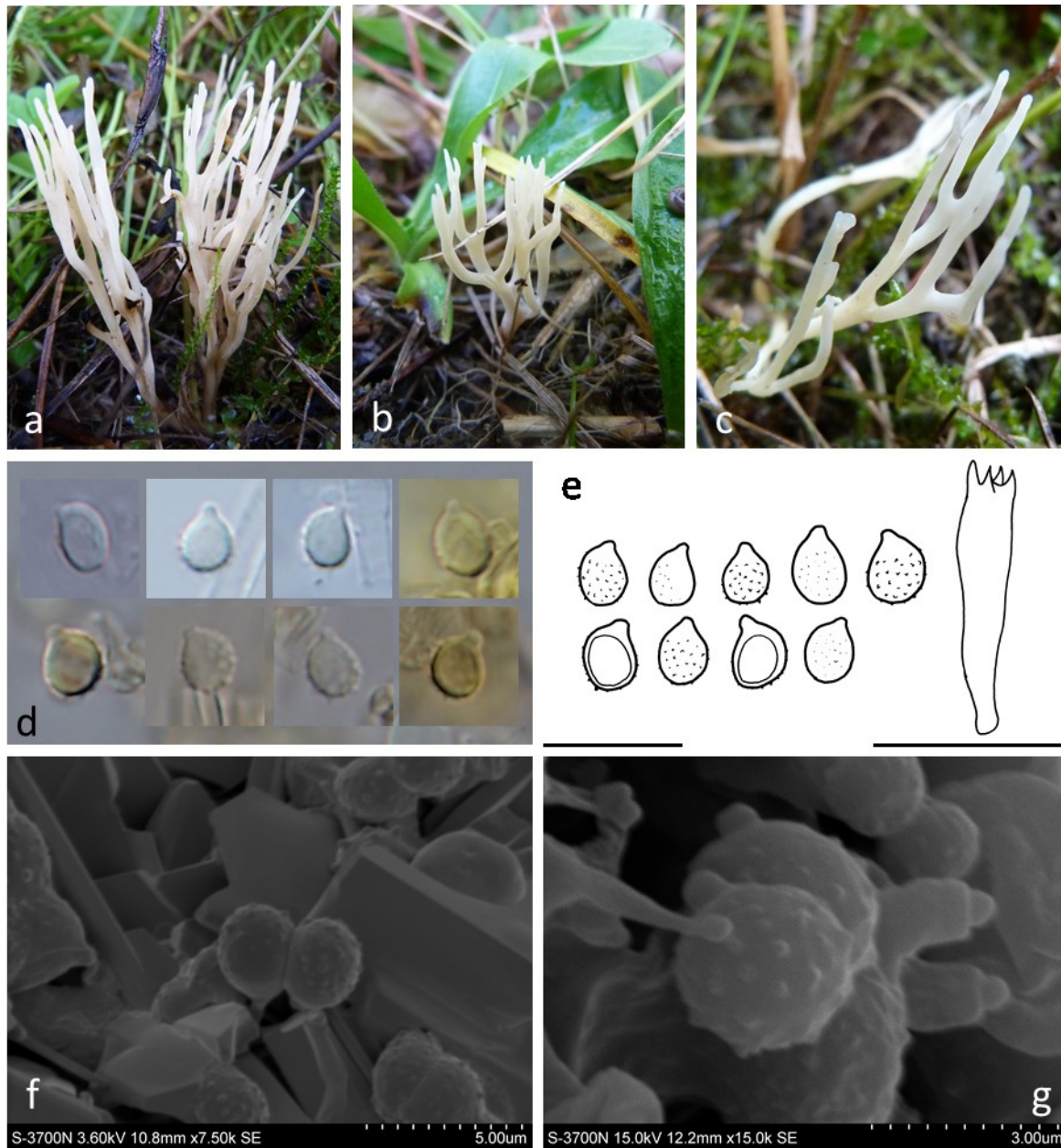


Fig. 12. *Ramariopsis* klad 2. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznačů (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: J. Matouš. Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 µm. Měřítka pro kresby bazidií: 20 µm.

4.11 *Ramariopsis constrictospora* Matouš ad int.

Diagnostické znaky: Taxon význačný v rámci rodu dlouhými (prům. 4,53–4,8 μm), téměř hladkými až jemně zdrsňelými sporami s vysokou hodnotou Q_{av} (1,42–1,57), které mají velice často nápadné centrální zúžení.

Popis: Plodnice do 21 mm výšky a 7 mm šířky, jednoduché až velmi řídké větvené, zřejmě bílé (čerstvé plodnice jsem neviděl), barva suchých plodnic světle krémově šedá až krémově naokrovělá. Větve do cca 1,0 mm tlusté, (0)1–2 × dichotomicky větvené. Třeň do 1 mm šířky, tvořící cca 1/5–1/2 celkové výšky plodnic.

Spory (3,9)4,1–5,5(5,7) × (2,6)2,7–3,6(3,9) μm (prům. 4,53; 4,7; 4,8 × 2,9; 3,2; 3,39 μm), $Q = 1,22–1,77$, $Q_{av} = 1,42; 1,47; 1,57$; úzce elipsoidní až elipsoidní, velmi často s nápadným centrálním zúžením (přítomným častěji u větších a vyvráležších spor), vzácněji válcovité či úzce vejčité, někdy s 1 kapkou, tenkostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, téměř hladké, častěji však velmi jemně zdrsňelé, hilární appendix 0,5–1,0 μm dlouhý (prům. 0,73–0,78 μm). Bazidie 25,1–30,5 × 4,9–5,5 μm (prům. 27,3; 28,1; 29,1 × 5,1; 5,19; 5,3 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,8–4,0 μm (prům. 3,28; 3,45; 3,73 μm). Hymenium 22,5–35,0 μm tlusté. Subhymenium 13,5–20,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o šířce 1,5–4,4 μm (prům. 2,53; 2,75; 2,92 μm), s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokýmiširokými 2,5–7,7 μm (prům. 3,75; 4,19; 4,52 μm), s přezkami. Hyfy třeně mírně propletené, s buňkami širokými 2,5–5,7 μm (prům. 3,59; 3,96; 4,24 μm), s přezkami.

Ekologie a rozšíření: 2 studované sběry rostly v listnatém lese (SKX3) a pravděpodobně na louce (BRA CR20425). Jedná se pravděpodobně o vzácný druh.

Diskuze: Klad *Ramariopsis constrictospora* ad int. je v obou fylogenetických stromech situován jako sesterský k *R. rufipes* a *R. pseudosubtilis*. V obou stromech je tvořen stejnými sekvencemi (viz Fig. 1, Fig 2.) a představuje pravděpodobně zatím nepopsaný druh. Bohužel oba studované sběry neobsahují téměř žádné údaje o makroskopických znacích a nejsou k dispozici ani jejich fotografie, proto je představa o jeho podobě kusá. K případnému popsání tohoto druhu bude zapotřebí minimálně jednoho, nejlépe však několika dalších, dobře zdokumentovaných nálezů.

Mikromorfologicky se jedná o druh podobný *R. subtilis* na základě téměř hladkých či jemně zdrsňelých, poměrně dlouhých spor s vysokou hodnotou Q_{av} . Stejně znaky ho spojují také s druhem *R. klad 4*, který se od *R. subtilis* téměř neliší. Podobnost můžeme nalézt i s *R. rufipes*, jehož plodnice jsou však téměř jistě o dost větší a tmavší a spory výrazněji ornamentované. Díky specifickému tvaru spor s centrálním zúžením a s velmi vysokou Q_{av} (1,42–1,57) je druh *R. constrictospora* ad int. dobře odlišitelný od všech zmíněných druhů (podrobněji viz poznámky k *R. rufipes* a *R. subtilis*).

Studované sběry:

Česká republika. Jižní Morava, Bílé Karpaty, Tvarožná Lhota, PR Čertoryje, 200 m.n.m., 14. XI. 2013, leg. I. Kautmanová, det. J. Matouš (BRA CR20425, jako *Ramariopsis tenuiramosa*).

Slovensko. Strážovské vrchy, Bojnice, Sv. Vendelín, v listnatém lese (lípa, dub, osika, líska, trnka), 450 m.n.m., 4. IX. 2014, leg. V. Kautman et S. Jankech, det. J. Matouš (SKX3).

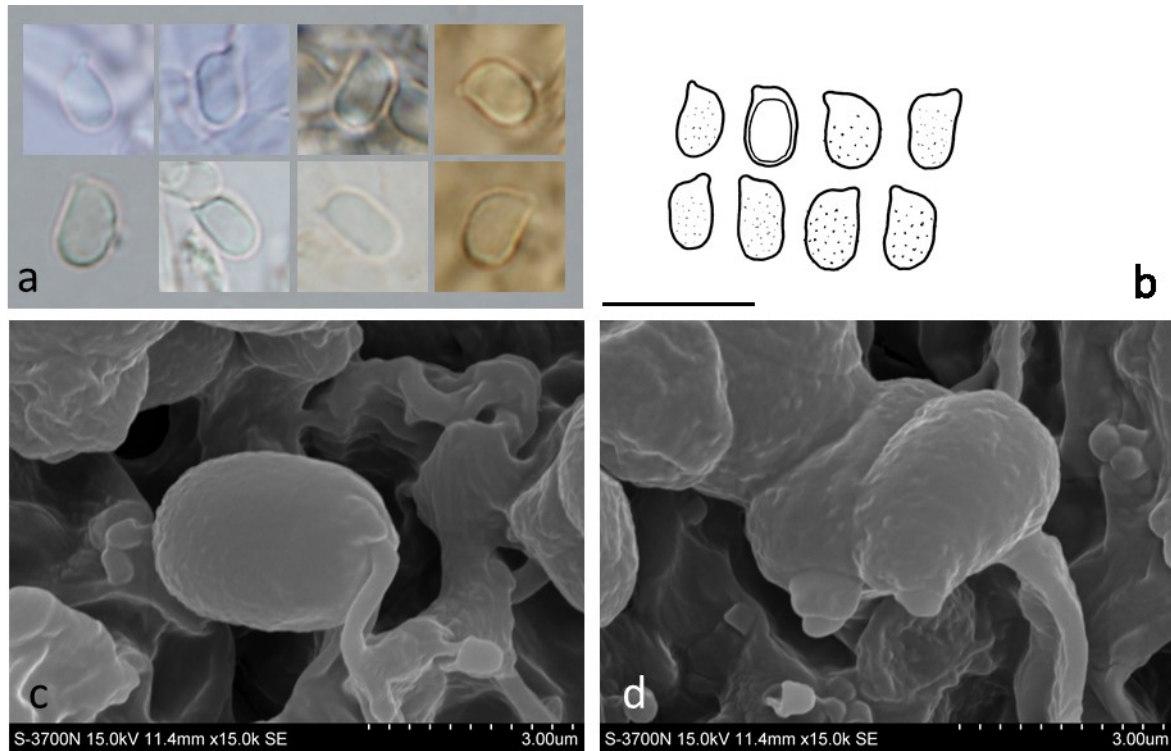


Fig. 13. *Ramariopsis constrictospora* ad int. Fotografie spor (a), kresby mikroznaků (b), SEM fotografie spor (c, d). Fotografie: J. Matouš. Měřítko pro fotografie i kresby spor: 10 μm.

4.12 *Ramariopsis rufipes* (G.F. Atk.) R.H. Petersen, Bulletin of the Torrey Botanical Club 91 (4): 274 (1964)

Basionym: *Clavaria rufipes* G.F. Atk., Annales Mycologici 6: 57 (1908)

Syn: *Clavulinopsis rufipes* (G.F. Atk.) Corner, Annals of Botany Memoirs 1: 386 (1950)

Diagnostické znaky: Druh dobře poznatelný podle poměrně velikých, hustěji větvených plodnic rostoucích ve skupinkách či shlucích, které jsou obvykle relativně tmavé, bledě okrové až okrové, někdy s jemnými tóny červené především ve spodních částech plodnic, a jemně, ale zřetelně

bradavčitých, elipsoidních spor s vysokou Q_{av} hodnotou (1,37–1,43) a většími rozměry (prům. 4,64–4,86 × 3,39–3,46 μm).

Popis: Plodnice rostoucí ve skupinkách nebo menších shlucích, jednotlivé plodnice do 65 mm výšky a 30 mm šířky, hustě větvené, barva krémově okrová až okrová, někdy s náznaky okrově hnědočervené především ve spodních částech plodnice, po vyschnutí krémově okrová až okrová. Větve do 3,0 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, 2–4(5) × dichotomicky nebo polytomicky větvené, v úžlabí větvení až 3,5 mm široké, válcovité, v úžlabí někdy mírně zploštělé, axily tvaru U, vrcholy větví oblé, vzácněji mírně zašpičatělé, krémově okrové až okrové, často tmavší než zbytek plodnice a tmavě okrové až okrově hnědé. Třeň do 5 mm šířky, tvořící 1/5–1/3 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený jako zbytek plodnice, nebo neostře odlišený a tmavší, často nahnědle či načervenalé okrový, někdy s bělavým tomentem. Dužina bledě okrová. Chuť a vůně nezjištěny.

Spory (4,1)4,4–5,3(5,5) × (3,0)3,1–3,7(3,9) μm (prům. 4,64; 4,79; 4,86 × 3,39; 3,41; 3,46 μm), $Q = 1,19–1,56$, $Q_{av} = 1,37$; 1,4; 1,43; elipsoidní, vzácněji široce elipsoidní, tenkostěnné, vzácně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, vzácně velmi slabě dextrinoidní, jemně bradavčité, hilární apendix 0,5–1,1 μm (prům. 0,66–0,82 μm). Bazidie 21,0–37,8 × 4,6–6,6 μm (prům. 27,5; 30,3; 34,8 × 5,5; 5,8; 6,2 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,5–5,0 μm (prům. 3,07; 3,45; 3,71 μm). Hymenium 20,0–42,0 μm tlusté. Subhymenium 14,0–28,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 2,0–3,8 μm (prům. 2,76; 2,87; 2,94 μm), vzácně nadmutými do 12,2 μm, s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,9–10,5 μm (prům. 4,8; 5,53; 6,45 μm), velmi vzácně nadmutými do 13,1 μm, s přezkami. Hyfy třeně souběžné až mírně propletené, s buňkami širokými 2,6–7,3 μm (prům. 4,19; 4,37; 4,54 μm), s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Všechny 3 studované sběry rostly na trávníku či louce, v planárním až kolinním stupni. Jedná se o vzácný druh.

R. rufipes se vyskytuje v jižní Evropě (Olariaga 2009) a v severní Evropě (Shiryayev 2009 jako *Clavulinopsis rufipes*). Z mimoevropských zemí je publikován z Kanady (Corner 1950) a USA (Corner 1950; Petersen 1964).

Z našeho území nebyl tento druh zatím publikován. Jedná se o první potvrzený výskyt nejen z území České republiky, ale zřejmě i z území střední Evropy.

Poznámky: *Ramariopsis rufipes* tvoří ve fylogenetickém stromě LSU dobře podpořený klad ze sekvencí tří sběrů, z nichž jedna je součástí i ITS stromu, kde tvoří klad se sekvencí GU187552, označenou jako *Ramariopsis kunzei* (Binder et al. (2010)). Pozice kladů v obou stromech je velmi podobná, spíše v odvozenějších částech stromů, se sesterským kladem *R. constrictospora* ad int., s nímž sdílí některé znaky.

Jedná se o druh původně popsáný ze Severní Ameriky jako *Clavaria rufipes* (Atkinson 1908). Dlouhou dobu byl s výjimkou jednoho nálezu z Francie považován především za americký druh (Corner 1950). Od roku 1998 byl opakovaně nalezen v Evropě (viz Ekologie a rozšíření). Jedná se všeobecně o málo známý druh a i kvůli tomu lze předpokládat vyšší možnost záměny s podobnými druhy.

Problematické je vymezení tohoto druhu především vůči některým sběrům *R. subtilis*, což je relativně proměnlivý taxon. Nejdůležitější rozdíl mezi oběma druhy je v ornamentice spor. Zatímco *R. rufipes* má spory jemně, ale zřetelně bradavčité, *R. subtilis* má spory hladké, nebo téměř hladké. Ukazuje se ale, že tento důležitý znak je u *R. subtilis* proměnlivý a některé sběry mohou mít spory podobně ornamentované jako *R. rufipes*. Odlišení je v tomto vzácném případě problematické, ale *R. rufipes* by měl mít i tak spory výrazněji ornamentované. Další rozdíly mezi těmito druhy jsou větší velikost, tmavší barva plodnic a větší spory u *R. rufipes*. Zmíněné znaky se ale u obou druhů prolínají a jejich diagnostická hodnota je nízká. Poměrně výrazným rozdílem je zde také šířka hyf třeně, které jsou silnější u *R. rufipes*. O významu tohoto znaku se ale dá pochybovat, vzhledem k jeho proměnlivosti u jednotlivých druhů a zároveň podobnosti u všech druhů rodu *Ramariopsis*.

Fylogeneticky blízký a mikromorfologicky do jisté míry podobný je taxon *Ramariopsis constrictospora* ad int. Oba druhy mají spory velmi podobné délky. *R. constrictospora* ad int. má však spory jen velice jemně ornamentované a užší, tudíž jeho Q_{av} je vyšší (1,42–1,57). Rozdíl v Q_{av} ale není natolik výrazný, aby se dal považovat za jasně vymežující znak. Především větší a vyztářejší spory *R. constrictospora* ad int. jsou uprostřed velice často viditelně zúžené, což je nejjednoznačnější rozlišovací mikroznak mezi těmito druhy. *R. constrictospora* ad int. je navíc pravděpodobně mnohem drobnější a světlejší než *R. rufipes*, toto však vyvozují pouze z charakteru sušených položek (jiné jsem u *R. constrictospora* neměl k dispozici). Někteří zástupci *Ramariopsis* klad 3 s podobně ornamentovanými sporami mohou mít neobvykle protažené spory s Q_{av} až do 1,44 a tím mohou být *R. rufipes* podobné. Tyto spory jsou i tak výrazně kratší (prům. 3,53–4,35 μm) a plodnice *R.* klad 3 jsou subtilnější a světlejší, především v horních částech.

Mezi nemnoha autory, kteří se *R. rufipes* zabývali (Petersen 1964; Pegler et Young 1985; Olariaga 2009), nepanují větší rozpory v názorech na vymezení tohoto druhu. Původní popis (Atkinson 1908) hovoří o hladkých sporách, které jsou velice úzké (2,5–3 μm). Petersen (1964) i Pegler et Young (1985) ovšem při studiu holotypu popsali spory jako jemně bradavčité až ostnitě o zcela shodné šířce 3,0–4,5 μm . Moje pozorování jsou téměř ve shodě s články Petersena (1964) i Olariagy (2009). Rozdílem je barva plodnic. Oba dva zmínění autoři popisují především mladší sběry a vyšší části plodnic jako zcela bílé až krémově bílé, což neodpovídá mnou studovaným sběrům, které nejsou takto světlé v žádné části plodnic. Oba autoři také uvádějí mírně větší spory, Petersen (1964) o rozměrech 4,3–6,2 x 3,0–4,5 μm a Olariaga (2009) o rozměrech (4)4,4–6,2(7) x 3,1–4,2 μm .

Studované sběry:

Česká republika. Střední Čechy, Hořovice, na trávníku v nemocničním parku, 360 m.n.m., v mechu, 1. XI. 2000, leg. O. Jindřich, det. J. Matouš (PRM 894347, jako *Clavulinopsis dichotoma*). – Severní Čechy, CHKO České středohoří, Povrly, hřbitov, cca 175 m.n.m, v trávě, 22. X. 2012, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 935665, jako *Ramariopsis tenuiramosa*). – Střední Čechy, CHKO Kokořínsko – Máchův kraj, Ráj, PR Kokořínský důl, louka mezi silnicí a říčkou Pšovkou, v trávě, 1. XI. 2009, leg. M. Kříž et S. Valda, det. J. Matouš (PRM 934826, jako *Ramariopsis kunzei*).

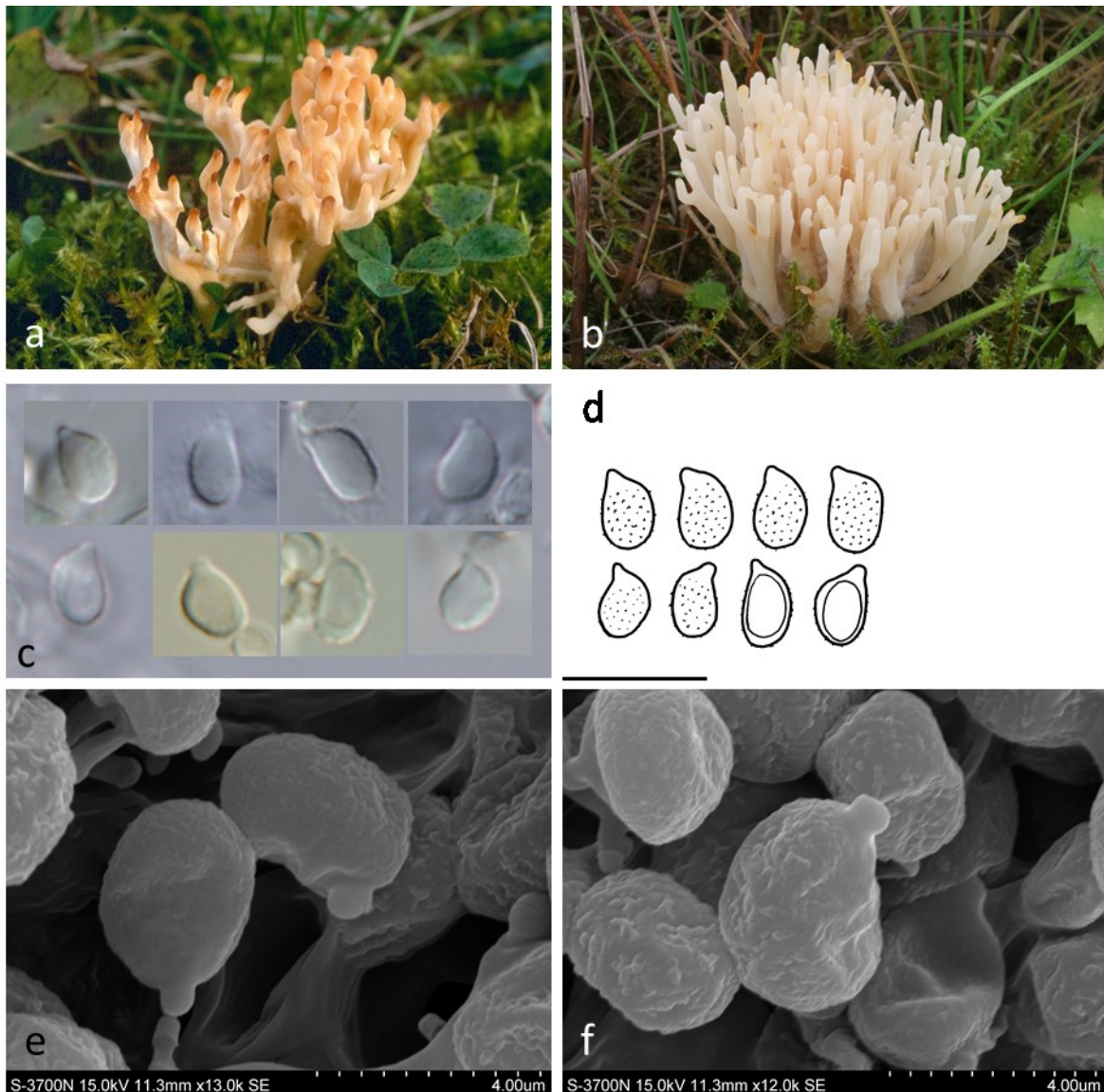


Fig. 14. *Ramariopsis rufipes*. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: O. Jindřich (a), M. Kříž (b), J. Matouš (c, e, f). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μ m.

4.13 *Ramariopsis* klad 4

Diagnostické znaky: Bez zřejmých diagnostických znaků

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 40 mm výšky a 20 mm šířky, řídce až relativně hustě větvené, vzácně nevětvené, barva bílá, krémová, vzácněji světle krémově naokrovělá především ve spodních částech plodnic, po vyschnutí šedookrová či tmavě okrově šedá až okrově hnědá. Větve do 3,0 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, (0)1–4 × dichotomicky větvené, v úžlabí větvení až 4 mm široké, válcovité nebo mírně zploštělé a s podélnou rýhou, axily tvaru U, vrcholy větví oblé nebo mírně zašpičatělé, často krátce bifurkáttní, bílé, vzácněji krémové. Třeň do 2 mm šířky, tvořící 1/4–4/5 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený jako fertilní část a neodlišený nebo neostře odlišený a mírně tmavší, světle krémově naokrovělý. Dužnina mírně ohebná až mírně křehká, vzácně křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,0)3,6–4,8(5,2) × (2,4)2,6–3,4(3,6) μm (prům. 3,84; 4,07; 4,34 × 2,76; 2,98; 3,25 μm), Q = 1,03–1,61, Q_{av} = 1,33; 1,37; 1,41; elipsoidní až široce elipsoidní, někdy s 1 kapkou, tenkostěnné, někdy mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, hladké, téměř hladké až velmi jemně zdrsňelé, hilární apendix 0,5–1,2 μm, (prům. 0,64–0,92 μm). Bazidie 21,1–35,4 × 4,5–6,0 μm (prům. 25,9; 27,7; 33,0 × 5,0; 5,11; 5,28 μm), hyalinní, tenkostěnné, úzce kyjovité až kyjovité, tetrasporické, výjimečně bisporické, přezky na bázi nepozorovány, sterigmata dlouhá 2,6–4,6 μm (prům. 3,3; 3,72; 4,3 μm). Hymenium 23,0–33,5 μm tlusté. Subhymenium 15,5–18,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,6–3,5 μm (prům. 2,25; 2,45; 2,56 μm), s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,3–8,7 μm (prům. 3,82; 4,42; 5,05 μm), vzácně mírně nadmutými do 12,0 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 2,0–5,8 μm (prům. 3,06; 3,17; 3,32 μm), s přezkami.

Ekologie a výskyt: Na základě šesti sběrů ze tří lokalit je možné shrnout, že *R.* klad 4 roste na extenzivně sekaných i nesekaných nehojených loukách, ale i loukách i horší kvality (bývalá pole), v kolinním stupni. Jedná se o vzácný druh.

Diskuze: *Ramariopsis* klad 4 tvoří ve fylogenetickém stromě ITS silně podpořený klad ze sekvencí šesti sběrů. Jeho pozice je v nejodvozenější části stromu a sesterská k *R.* klad 3 a *R. subtilis*, s nimiž sdílí veliké množství společných znaků. V LSU stromě není tento taxon zastoupen ani jednou sekvencí.

Tento taxon je téměř totožný s *Ramariopsis subtilis*, který má spory mírně větší spory (prům. 4,13–4,79 × 3,02–3,43) a Q_{av} (1,3–1,66) a velice podobný *Ramariopsis* klad 3, který má tmavší plodnice, a mírně menší spory (3,84–4,34 × 2,76–3,25 μm), které jsou obvykle výrazněji ornamentované (více viz poznámky k *R. subtilis* a *R.* klad 3). Další podobné taxony mají výrazněji ornamentované spory (*R.*

pseudotenuicula ad int.), spory s centrálním zúžením větších rozměrů a větší hodnotu Q_{av} (*R. constrictospora* ad int.), výrazně tmavší plodnice ve spodních částech a obvykle nižší hodnotu Q_{av} (*R. luteoohracea*) nebo drobnější plodnice se sporami odlišného tvaru a výrazně menších rozměrů a hodnoty Q_{av} (*R. minutula*, *R. minutissima* ad int.).

Studované sběry:

Česká republika. Střední Čechy, Lštěň, kostel Sv. Klimenta na Hradišti, pravděpodobně nesekaná, mírně svažité louka, v nižších partiích hraničící s křovinami a listnatým lesem, 49°52'2.296"N, 14°43'39.199"E, 365 m.n.m., na zemi v mechu a trávě, 10. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0044). – Ibid. 21. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0094). – Ibid. 21. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0095). – Střední Čechy, Mnichovice, nekosená louka na kopci mezi smíšeným lesem a soukromým pozemkem (sadem), 49°55'46.920"N, 14°43'40.077"E, 410 m.n.m, mezi trávou a travními zbytky, 9. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0024). – Ibid. 9. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0025). – Střední Čechy, Mezihoří, kosená louka, dříve pole, 49°49'59.982"N, 14°43'42.789"E, 415 m.n.m., 29. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0107).

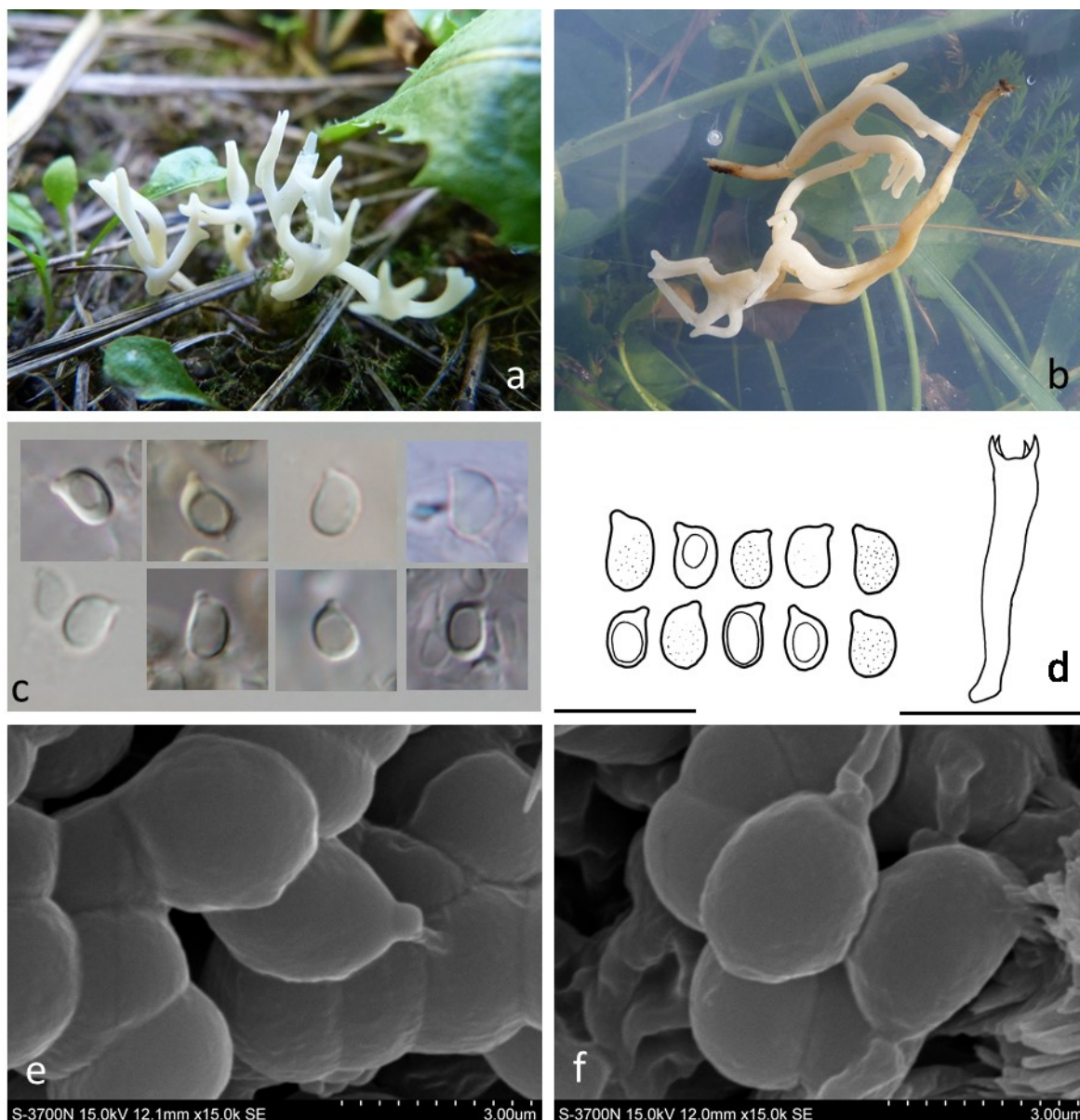


Fig. 15. *Ramariopsis* klad 4. Čerstvé plodnice (a, b), fotografie spor (c), kresby mikroznaků (d), SEM fotografie spor (e, f). Fotografie: J. Matouš. Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 μ m. Měřítka pro kresby bazidií: 20 μ m.

4.14 *Ramariopsis subtilis* (Pers.) R.H. Petersen, *Mycologia* 70 (3): 668 (1978)

Bazionym: *Clavaria subtilis* Pers., *Commentatio de Fungis Clavaeformibus*: 51, t. 4:2 (1797)

Syn: *Clavulinopsis subtilis* (Pers.) Corner, *Annals of Botany Memoirs* 1: 391 (1950)

Diagnostické znaky: *Ramariopsis subtilis* lze vymezit na základě relativně drobných (do 45 mm vysokých), krémových, šedavě okrových až hnědavě nebo okrově šedých plodnic v kombinaci s hladkými až téměř hladkými, vzácně velmi jemně ornamentovanými sporami o prům. rozměrech 4,13–4,79 × 3,02–3,43 μm, s O_{av} . mezi 1,35–1,45.

Popis: Plodnice rostoucí jednotlivě nebo vzácněji v malých skupinkách, jednotlivé plodnice do 45 mm výšky a 30 mm šířky, řídce až hustě větvené, barva šedavě bílá, krémová, světle krémově naokrovělá až světle okrově šedá, po vyschnutí krémově okrově šedá až okrová. Větve do 2,5 mm tlusté, souběžné až mírně rozbíhavé, 1–4(5) × dichotomicky nebo polytomicky větvené, v úžlabí větvení až 3 mm široké, válcovité, vzácně mírně zploštělé, axily tvaru U, vrcholy větví oblé až ostré, bílé či krémové, vzácně tmavší než zbytek fertilní části, tmavěji okrově šedé. Třeň do 2,5 mm šířky, tvořící 1/5–1/3 celkové výšky plodnic, stejně zbarvený nebo tmavší než fertilní část, světle okrově šedý až okrově nahnědlý, někdy s bělavým tomentem. Dužnina ohebná až mírně křehká. Chuť mírná, vůně nezřetelná.

Spory (3,5)3,9–5,1(5,5) × (2,4)2,5–3,6(4,1) μm (prům. 4,13; 4,37; 4,79 × 3,02; 3,11; 3,43 μm), $Q = 1,1–1,8$, $Q_{av} = 1,3; 1,42; 1,66$; elipsoidní, vzácněji úzce elipsoidní, široce elipsoidní či tvaru jádérka, výjimečně i válcovité, mírně ledvinité nebo vejčité, tenkostěnné až mírně tlustostěnné, hyalinní, neamyloidní, nedextrinoidní, hladké nebo téměř nezřetelně zdrsňelé, vzácně i jemně ornamentované velmi nízkými a jemnými bradavkami, hilární apendix 0,4–1,0 μm, (prům. 0,64–0,78 μm). Bazidie 21,0–38,0 × 4,0–6,5 μm (prům. 25,3; 30,8; 33,8 × 4,8; 5,4; 5,8 μm), hyalinní, tenkostěnné, vzácně tlustostěnné a slabě dextrinoidní, téměř válcovité, úzce kyjovité, vzácněji kyjovité, tetrasporické, velmi vzácně bisporické, s přezkou na bázi, sterigmata dlouhá 2,0–5,6 μm (prům. 2,73; 3,26; 3,8 μm). Hymenium 27,0–37,0 μm tlusté. Subhymenium 17,0–25,0 μm tlusté, tvořené propletenými hyfami o průměru 1,6–4,3 μm (prům. 2,09; 2,55; 3,22 μm), vzácně nadmuté do 13,2 μm, s přezkami. Hyfy větví souběžné, s buňkami širokými 2,4–8,4 μm (prům. 3,7; 4,18; 5,8 μm), vzácně nadmuté do 14,5 μm, s přezkami. Hyfy třeně propletené, s buňkami širokými 1,8–7,1 μm (prům. 2,81; 3,2; 3,82 μm), vzácně nadmuté do 8,5 μm, s přezkami.

Ekologie a rozšíření: Na základě studovaných 10 sběrů lze shrnout, že *R. subtilis* roste na extenzivně sekaných i nesekaných nehnojených loukách nebo na světlých místech v sadech či listnatých lesích, v kolinním až submontánním stupni. Je uvedený v Červeném seznamu (Holec et Beran 2006, jako *Clavulinopsis subtilis*) s kategorií ohrožení EX?, tedy nezvěstný. Moje pozorování však nasvědčují tomu, že se jedná o jeden z nejběžnějších druhů r. *Ramariopsis*, se širokou ekologickou valencí, nalézáný často na lokalitách, kde se dá očekávat výskyt spíše běžných až hojných druhů hub čeledi Clavariaceae. Vysvětlením mohou být chybná určení jeho nálezů a lze se domnívat, že, podobně jako u mnoha dalších druhů tohoto rodu, je i *R. subtilis* přehlížen. Stupeň ohrožení je třeba snížit nebo tento druh do příštího vydání Červeného seznamu nezařazovat.

Publikovaných nálezů z území České republiky či Slovenska je velmi málo (např. Pilát 1958, 1972, jako *Clavulinopsis subtilis*; Holec et Adamčík 2008). *R. subtilis* je dokumentován ze západní Evropy (McHugh et al. 2001, jako *Clavulinopsis subtilis*; Evans 2003; Oertel et. Fuchs 2001, jako *Clavulinopsis subtilis*), ze severní Evropy (Jordal et al. 2016; Larsson 2016, jako *Clavulinopsis subtilis*; Shiryayev 2009) a z jižní Evropy (Např. Olariaga 2009). Z mimoevropských zemí je znám z asijské části Ruska (Shiryayev et Agaphonova 2009) a ze severní Ameriky (Petersen 1968, jako *Clavulinopsis subtilis* – v tomto případě se ale pravděpodobně nejedná o totožný druh, viz poznámky).

Poznámky: *Ramariopsis subtilis* je ve fylogenetických stromech LSU i ITS situován na samém vrcholu, společně s *R. klad 3* a v ITS stromě také s *R. klad 4 S* těmito taxony má také nejvíce společných znaků. V LSU stromě je tento klad tvořen sekvencemi devíti sběrů, z nichž tři tvoří tento klad v ITS stromě, kde je doplňuje sekvence sběru PRM 860279, která také jasně zapadá do koncepce tohoto druhu. Klady *R. subtilis* v obou stromech se zcela shodují složením i fylogenetickou pozicí v rámci rodu *Ramariopsis*.

Ramariopsis subtilis je relativně známý, ale hůře vymezitelný druh. Důvodem jsou dvě odlišné koncepce (viz níže), které pravděpodobně vycházejí ze studia dvou odlišných druhů, velká proměnlivost v některých znacích a existence několika velmi podobných druhů. Vzhledem k tomu, že holotyp nebyl mikromorfologicky zkoumán a v současné době již zřejmě neexistuje (Olariaga 2009), nelze určit, která ze zmíněných koncepcí je správná. Obě koncepce se liší hlavně tím, jaký tvar spor udávají. Zatímco Lundell et Nannfeldt (1938) popisují široce elipsoidní až téměř vejčité spory o rozměrech 3,5–4,5 x 3–3,5 μm , Bourdot et Galzin (1928) uvádějí subglobózní spory o rozměrech 4–6 x 3,5–4,5 μm .

Větší část autorů (např. Corner 1970; Oertel et Fuchs 2001; Olariaga 2009) následuje první z koncepcí, kterou lze shrnout následovně: spory elipsoidní, široce elipsoidní či mandlovitě, 3,5–5,0(5,6) x (2,5)3–3,5(4,2) μm , Q_{av} 1,37–1,58; bazidie dlouhé 21–30 μm . Nejvýznamnějším představitelem druhé názorové linie je Petersen (1968), který uvádí subglobózní či vejčité spory (4,0)4,2–6,0(6,3) x (3,0)3,5–4,5(5,6) μm a bazidie dlouhé 25–45 μm , obvykle však delší než 30 μm . Q hodnotu neuvádí, lze se však domnívat, že je výrazně nižší než u první z koncepcí. Makromorfologicky se obě koncepce téměř neliší.

Rozhodl jsem se následovat koncepci Lundell et Nannfeldt (1938) z důvodů lepší shody s vlastními sběry a většinového příklonu ostatních autorů k tomuto pojetí. Corner (1970), Oertel et Fuchs (2001) a Olariaga (2009) si ve svých popisech *R. subtilis* téměř neodporují a lze se domnívat, že studovali stejný druh.

Je zřejmé, že *Ramariopsis subtilis* je značně variabilní druh. Mnou studované sběry, jejichž příbuznost je potvrzena ve fylogenetickém stromě, vykazují vyšší variabilitu v mikro i makroznacích, než kterou uvádějí zmínění autoři. Toto lze vysvětlit tím, že sběry s krajními hodnotami v určitých

znacích nemusejí být morfologicky určovány jako *Ramariopsis subtilis*. Největší rozdíly jsou v barvě, která přechází od téměř bílé až ke světle okrové a může, ale nemusí se měnit v rámci různých částí jedné plodnice, dále v celkové robustnosti plodnic, které mohou být jednou větvené a dorůst 10 mm, ale mohou být i bohatě větvené a vyšší než 40 mm. Spory jsou výrazně proměnlivé velikostí (prům. 4,13–4,79 × 3,02–3,43 μm), tvarem, který do jisté míry odráží hodnota Q_{av} (1,3–1,66), a také ornamentikou buněčné stěny, která přechází od hladké přes velice jemně zdrsňelou až po velmi jemně bradavčitou.

Kvůli této celkové morfologické variabilitě může být obtížné tento druh bezpečně určit.

Ramariopsis rufipes je podobným druhem na základě velikých spor (prům. 4,64–4,86 × 3,39–3,46 μm) a vysoké Q_{av} (1,37–1,43) a téměř totožných bazidií. Hlavními rozdíly je výraznější ornamentika spor u *R. rufipes* a také obvykle větší a tmavší plodnice, zbarvené do krémově okrové až okrové, někdy s náznaky okrově hnědočervené. Rozlišení těchto druhů ale může být obtížné, a to především v případech, kdy je zbarvení *R. subtilis* tmavší než obvykle a spory jsou jemně ornamentované. I v tomto případě však má hladší spory než *R. rufipes*. Nápomocné pro rozlišení těchto dvou druhů mohou být i rozměry spor, které jsou sice podobné, ale ve větším množství případů jsou spory *R. subtilis* menší.

Ramariopsis constrictospora ad int. je velice podobný *R. subtilis* malými plodnicemi a téměř hladkými až jemně zdrsňelými sporami, které jsou jen mírně delší (prům. 4,53–4,8 × 2,9–3,39 μm) a mají podobnou hodnotu Q_{av} (1,42–1,57). Jasným rozpoznávacím znakem je však jejich viditelné zúžení, zřetelné velice často především na větších a vyzrálejších sporách.

Dalším podobným druhem je *Ramariopsis luteoohracea*, který se podobá především malými plodnicemi a hladkými či téměř hladkými sporami. Jeho barva plodnic je ale obvykle tmavší, a to především ve spodních částech plodnic, navíc rozdíl mezi tmavou bází a světlými větvemi je u *R. luteoohracea* výraznější. Spory jsou menší (prům. 3,7–4,08 × 2,83–3,18 μm), obvykle s nižší hodnotou Q_{av} (1,24–1,35).

Makromorfologicky velice podobný *Ramariopsis* klad 3 se odlišuje výrazněji ornamentovanými sporami obvykle s nižší hodnotou Q_{av} . Bohužel u sběrů *R. subtilis* s podprůměrnou Q_{av} (cca 1,3–1,44) a jemně ornamentovanými sporami může snadno dojít k záměně za *R.* klad 3 s nadprůměrnou Q_{av} (cca 1,36–1,44). Jistým vodítkem mohou být i větší rozměry spor *R. subtilis*, ale i tento znak se do jisté míry mezi zmíněnými druhy prolíná. Ve většině případů by však k odlišení měly postačit hladké až téměř hladké spory *R. subtilis*.

Ramariopsis klad 4 je prakticky neodlišitelným druhem, který tvoří v ITS stromě fylogeneticky blízký, ale dobře podpořený klad. Tento taxon má velice podobné spory, které jsou jen mírně menší (3,84–4,34 × 2,76–3,25 μm) a mají nižší hodnotu Q_{av} (1,33–1,41). Téměř všechny ostatní mikroskopické i makroskopické znaky jsou velmi podobné nebo totožné. Pouze barva plodnic je u *R.*

cryptosubtilis ad int. často světlejší – vždy bílá, krémová nebo maximálně světle krémově naokrovělá a to jen ve spodních částech plodnic. Na tento znak ale nelze spoléhat, protože existují i velmi světlé plodnice *R. subtilis*. U *R* klad 4 také nebyly pozorovány přezky na bázích bazidií (ovšem to neznámá, že tam nejsou). Vzhledem k tomu, že tyto dva druhy jsou prakticky stejné, bylo otázkou, který z nich označit jménem *R. subtilis*, a pro který naopak zvolit provizorní jméno. Holotyp *R. subtilis* neexistuje (Olariaga 2009) a jiné hodnověrné indicie nemám. Rozhodnutí padlo díky lepší shodě v rozměrech mikroskopických znaků mých sběrů příslušného kladu (především větších rozměrů spor a vyšší Q_{av}) s většinou autorů (Lundell et Nannfeldt 1938; Oertel et Fuchs 2001; Olariaga 2009).

Speciálním případem je americký druh *Ramariopsis pseudosubtilis* R.H. Petersen, který je s *R. subtilis* sensu Lundell et Nannfeldt (1938) ve všech znacích prakticky totožný. Z originálního popisu tohoto druhu (Petersen 1966) lze dovodit, že rozdíly mezi těmito druhy jsou pouze v o něco tmavší třeňové části u starších plodnic, mírně tmavších (světle žlutohnědých) větvích a slepených hyfách a hymeniu u *R. pseudosubtilis*. Pokud uvážíme vysokou morfologickou variabilitu *R. subtilis*, není možné tyto druhy odlišit v terénu ani po mikroskopickém zkoumání. Jak bylo řečeno, Petersen (1969) pojímal druh *R. subtilis* v souladu s koncepcí Bourdot et Galzin (1928). Popsání *R. pseudosubtilis* tak z jeho pohledu dávalo smysl, protože *R. pseudosubtilis* a *R. subtilis* sensu Bourdot et Galzin (1928) se liší ve velikosti a tvaru spor a v délce bazidií. Za normálních okolností by tak bylo velmi dobře obhajitelné druhy *Ramariopsis pseudosubtilis* a *Ramariopsis subtilis* sensu Lundell et Nannfeldt (1938) synonymizovat pod jménem *Ramariopsis subtilis*. Molekulární výzkumy ale ukazují, že taxon *R. pseudosubtilis* přece jen existuje. Sekvence (LSU) holotypu tohoto druhu (Birkebak et al. 2013) je od kladu morfologicky téměř totožného druhu *R. subtilis* sensu Lundell et Nannfeldt (1938) fylogeneticky poměrně výrazně vzdálena. Petersen (1969) tedy zřejmě náhodou popsal kryptický druh, který by byl při neexistenci dvou odlišných druhových koncepcí *Ramariopsis subtilis* pravděpodobně odhalen a popsán až po nástupu molekulárně-fylogenetických studií. Bohužel, sběry kladu 4 nejsou ve stromě LSU zastoupeny ani jednou sekvencí a sekvence úseku ITS holotypu *R. pseudosubtilis* neexistuje.

Studované sběry:

Česká republika. Severní Čechy, Teplice, mezi Doubravkou a písčným vrchem, pod jírovcem, javory a jasany, 13. IX. 2010, leg. M. Kříž et E. Skála, det. M. Kříž (PRM 935102). – Severní Čechy, Teplice, mezi Písčným vrchem a Doubravkou, pod hlohy, jasany, třešněmi a javory, v mechu a trávě, 13. IX. 2010, leg. M. Kříž et E. Skála, det. M. Kříž (PRM 935103). – Střední Čechy, Čtyřkoly, zhruba dvakrát ročně kosená, mírně svažité louka, nahoře ohraničená křovisky a lesem, dole potokem, na periferii obce vedle chatové osady, 49°52'25.309"N, 14°42'45.298"E, 300 m.n.m., v trávě, 1. X. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0009). – Střední Čechy, Lštěň, kostel Sv. Klimenta na Hradišti, pravděpodobně nesekaná, mírně svažité louka, v nižších partiích hraničící s křovinami a listnatým lesem, 49°52'2.296"N, 14°43'39.199"E, 365 m.n.m., na zemi v mechu a trávě,

21. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (PRC 3979). – Střední Čechy, Mrač, louka na periferii obce vedle zahrad a listnatého lesa, nad zastávkou vlaku, 49°49'56.160"N, 14°41'50.855"E, 307 m.n.m., na zemi mezi trávou, 18. X. 2014, leg. et det. J. Matouš (PRM 945423). – Střední Čechy, Mezihoří, kosená louka, dříve pole, 49°49'59.982"N, 14°43'42.789"E, 415 m.n.m., 29. IX. 2014, leg. et det. J. Matouš (MAT0106). – Střední Čechy, Stará Boleslav, PP Černý orel, na zemi pod duby a hlohem, 10. VIII. 2011, leg. M. Kříž, det. J. Matouš (PRM 860279, jako *Ramariopsis tenuiramosa*).

Slovensko. CHKO Malé Karpaty, Sološnica, na louce, 500 m.n.m., 3. IX. 2008, leg. V. Kučera, det. J. Matouš (BRA CR13123, jako *Ramariopsis cinerea*). – CHKO Bílé Karpaty, Nová Bošáca, PP Blažejová, na sekané louce, 450 m.n.m., v trávě, 7. XI. 2013, leg. I Kautmanová, det. J. Matouš (BRA CR20526). – CHKO Bílé Karpaty, Nová Bošáca, PP Blažejová, na sekané louce u sadu, 48°52'26.1"N 17°49'05.4"E, 442 m.n.m., 7. XI. 2013, leg. et det. J. Matouš (MAT0074).

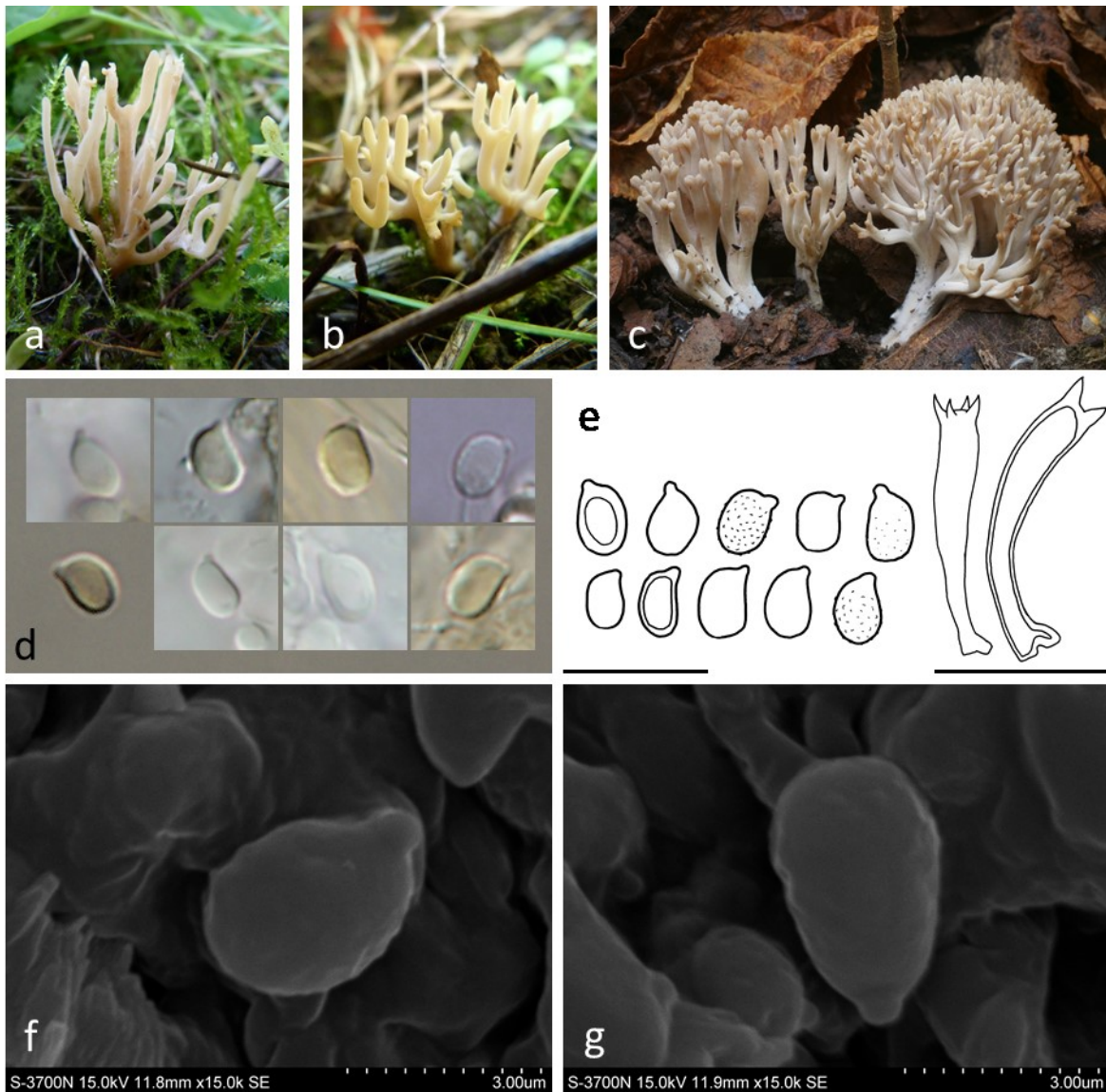


Fig. 16. *Ramariopsis subtilis*. Čerstvé plodnice (a, b, c), fotografie spor (d), kresby mikroznaků (e), SEM fotografie spor (f, g). Fotografie: J. Matouš (a, b, d, f, g), M. Kříž (c). Měřítka pro fotografie i kresby spor: 10 µm. Měřítka pro kresby bazidií: 20 µm.

5 Diskuse

5.1 Potvrzené středoevropské druhy rodu *Ramariopsis*

V mé práci jsem pro území střední Evropy potvrdil osm druhů rodu *Ramariopsis* (*R. kunzei*, *R. robusta*, *R. luteoochracea*, *R. crocea*, *R. minutula*, *R. pulchella*, *R. rufipes*, *R. subtilis*). Kromě nich jsou z území střední Evropy uváděny (Schild 1971) další 2 druhy, které v práci nejsou zahrnuty, protože jsem nenalezl jejich plodnice (*R. citrina* Schild, *R. luteonana* Schild). *Ramariopsis subarctica* jsem nestudoval (viz kapitola 2.1). Další tři druhy uváděné ze střední Evropy – *R. bififormis*, *R. tenuicula*, *R. tenuiramosa* (např. Pilát 1958, 1972; Oertel et Fuchs (2001); Holec et Adamčík 2008) velmi pravděpodobně reprezentují *R.* klad. 3.

5.2 Fylogenetické vztahy v rodu *Ramariopsis* a skrytá diverzita

Fylogenetické vztahy v rodu *Ramariopsis* nebyly doposud hlouběji studovány. V posledních dvanácti letech bylo publikováno několik studií, ve kterých je rod *Ramariopsis* spíše vymezován vůči nejpříbuznějším nebo morfologicky nejpodobnějším rodům a jeho fylogeneze není nikdy hlavním tématem práce. Některé z těchto studií obsahují pouze malé množství sekvencí tohoto rodu, přičemž vždy jen malá část z nich je v dané práci publikována nově [(García-Sandoval et al. 2005; Kautmanová et al. 2012; Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016)]. Výjimkou je strom v práci Birkebak et al. (2013), ve kterém je sice zastoupeno relativně velké množství sekvencí tohoto rodu, zásadní část z nich jsou ale izoláty či druhy nejisté určené a z hlediska fylogeneze tohoto rodu tak má i tato práce jen nízkou vypovídající hodnotu. Z tohoto důvodu je velice obtížné diskutovat mé výsledky týkající se fylogeneze rodu *Ramariopsis* s dalšími autory. Taxonomické koncepce níže zmiňovaných druhů jsou podrobně diskutovány v taxonomické části.

Fylogenetické stromy (Fig. 1, fig. 2) ukazují, že existují rozdíly mezi bazálními a odvozenými klady. Zatímco sběry představující bazální klady vykazují množství společných znaků a nízkou míru morfologické variability, odvozené klady jsou v morfologii znatelně variabilnější a sběry do nich patřící jsou si navzájem více podobné, a tudíž vykazují vyšší míru kryptické diverzity. Tento trend zesiluje od báze stromu k odvozeným skupinám.

Na bázi stromu jsou tři klady reprezentující velice podobné a ve svých znacích relativně konzervativní druhy: *Ramariopsis kunzei*, *Ramariopsis atlantica* a *Ramariopsis robusta*. Jejich

společným znakem jsou především zcela bílé až téměř bílé plodnice a výrazně ornamentované spory. Již zde je ve fylogenetickém stromě LSU patrný první možný náznak skryté diverzity. Dva sběry označené jako *Ramariopsis* aff. *kunzei* mohou pravděpodobně představovat druh podobný třem zmíněným ancestrálním druhům. V této skupině kladů byla přitom část skryté diverzity odhalena popsáním nového druhu *R. robusta* Matouš et Holec 2017, určovaného doposud jako *R. kunzei* (Matouš et al. 2017).

Další klady představují těžce zaměnitelné druhy – oranžový *Ramariopsis crocea* a okrově-hnědobílý *Ramariopsis luteoochracea*. Oba tyto druhy vykazují (podobně jako zástupci výše popsaných kladů) minimální proměnlivost znaků. *Ramariopsis crocea* má stále relativně výraznou ornamentiku spor, zatímco *Ramariopsis luteoochracea* má spory téměř hladké a vykazuje tendenci tvořit dvě geneticky mírně odlišné linie, avšak morfologické rozdíly mezi nimi nejsou patrné. Pozice těchto dvou druhů se mezi LSU a ITS stromy téměř neliší.

Poblíž zmíněných kladů jsou pak situovány druhy *R. pulchella* s výrazně ornamentovanými sporami a také dvojice velice drobných bílých taxonů – *R. minutula* (jehož sekvence v ITS stromu chybí) a *R. minutissima* ad int. Oba tyto bílé druhy jsou od všech ostatních druhů velice dobře odlišitelné a jeví se jako morfologicky stálé. *Ramariopsis minutissima* ad int. je velmi pravděpodobně kryptickým druhem, doposud neodlišovaným od *R. minutula*. Zároveň se ale jedná o taxon, jehož znaky se jeví jako natolik diagnosticky význačné, že bude pravděpodobně možné ho v budoucnosti oficiálně popsat jako dobrý nový druh.

Náznak podobné topologie s ancestrálními klady z blízkosti *Ramariopsis atlantica* je patrný již v práci Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016), podobně jako blízká příbuznost druhu *R. crocea* k těmto taxonům. V další části stromu publikovaného v této práci už se ale odděluje pouze malá skupina taxonů, tvořená převážně sekvencemi publikovanými ve starších studiích (Kautmanová et al. 2012; Birkebak et al. 2013).

V další úrovni stromu se odděluje rozsáhlá a odvozenější skupina taxonů, jejichž zástupci jsou si navzájem v mnoha ohledech velice podobní, některé jejich znaky jsou proměnlivé a často je velice složité je přiřadit k některému z popsaných druhů. Jedná se o druhy většinou bez výrazných diagnostických znaků a s vyšší mírou skryté diverzity než v bazálnějších částech rodu. Sekvence těchto taxonů se v pracích ostatních autorů pravděpodobně nevyskytují [např. Kautmanová et al. 2012; Araujo-Neta et al. (in Hyde et al. 2016)] nebo není možné jejich přítomnost potvrdit v důsledku určení větší části sekvencí pouze do rodu (Birkebak et al. 2013). Žádné sekvence získané z GenBank, kromě holotypu *R. pseudosubtilis*, nebyly v mých stromech přiřazeny do těchto odvozených kladů.

V této odvozené skupině jsou tři klady, jejichž zástupci jsou stále ještě relativně dobře morfologicky vymezitelní - *Ramariopsis rufipes*, *R. constrictospora* ad int. a *R. pseudotenuicula* ad int. Taxony představující ostatní klady - *Ramariopsis* klad 2 (aff. *avellaneoinversa*), *R.* klad 3 (aff. *biformis*,

tenuicula, *tenuiramosa*), *R. subtilis* a *R. klad 4* (aff. *subtilis*) jsou již výrazně morfologicky variabilní a/nebo jsou od sebe navzájem obtížně rozlišitelné nebo téměř nerozlišitelné. Kryptických druhů je zde hned několik. Sám *Ramariopsis klad 2* zřejmě představuje komplex minimálně dvou velice podobných a zároveň morfologicky variabilních druhů, z nichž jeden, zastoupený sekvencí sběru MAT0129, je téměř totožný s *R. kunzei*, přičemž jediným rozdílem je mírně tmavší báze plodnice. Jedna sekvence je velmi málo na vytváření domněnek, ale poměrně vzdálená pozice tohoto taxonu od *R. kunzei* v obou fylogenetických stromech naznačuje konvergentní vývoj dvou nepříbuzných druhů. Druhá část *Ramariopsis klad 2* zahrnuje zatím nepublikovanou sekvenci holotypu *R. avellaneoinversa* (KP399950) a další subklad, morfologicky nejpodobnější *R. kladu 3*.

Ramariopsis pseudotenuicula ad int. je také pravděpodobně kryptickým druhem, i když je možné, že se jedná o dosud nepoznanou variabilitu v rámci nejpodobnějšího druhu *Ramariopsis tenuicula*, který je ale odlišný hned v několika znacích (viz poznámky k *R. pseudotenuicula* ad int. v taxonomické části práce).

Ramariopsis klad 3 představuje morfologicky variabilní taxon, který se ale nedá označit za kryptický. Problémem v tomto kladu je skutečnost, že existují hned tři druhová jména, kterými by se daly sběry tohoto kladu označit – *Ramariopsis biformis*, *R. tenuicula* a *R. tenuiramosa*. Znaky studovaných sběrů ale plně neodpovídají koncepci žádného z těchto tří druhů a *Ramariopsis klad 3* také v jistých morfologických aspektech zahrnuje a překlenuje morfologické charakteristiky všech tří zmíněných druhů, jejichž popisy jsou si navíc natolik podobné, že se pravděpodobně jedná o synonymní druhy (viz poznámky k *R. klad 3*). K vyřešení problematiky by byla nutná sekvence jejich typů a všestranné studium většího počtu sběrů, což přesahuje rámec mé diplomové práce.

Ramariopsis constrictospora ad int. je taxon obsahující sběry velmi podobné druhu *R. subtilis*, od něhož je ale odlišitelný jiným, charakteristickým tvarem spor. *Ramariopsis klad 4* je od *R. subtilis* již prakticky neodlišitelný, podobně jako *Ramariopsis pseudosubtilis*, zastoupený ve fylogenetickém stromě LSU publikovanou sekvencí holotypu (Birkebak et al. 2013). I zde se jedná o skrytou diverzitu, která byla v případě *R. pseudosubtilis* odhalena náhodou, díky odlišnému chápání koncepce *R. subtilis* (viz poznámky k *R. subtilis*). Situaci navíc ztěžuje fakt, že *R. subtilis* je velmi variabilní hned v několika znacích. I proto bude popsání kryptických druhů z jeho okruhu velice složité.

Vysoká morfologická variabilita (a tudíž skryté diverzity) a pozice zmíněných odvozených kladů ve fylogenetickém stromě LSU naznačuje, že tato část rodu *Ramariopsis* podléhá recentním speciálním procesům, vedoucím postupně ke vzniku nových druhů.

5.3 Morfologické znaky, jejich diagnostická hodnota a proměnlivost

Nejdůležitější studované znaky a jejich diagnostická hodnota jsou shrnuty v Tab. 4. V rámci mého studia jsem potvrdil, že v tomto rodě existuje pouze velmi malé množství diagnosticky významných znaků. Další znaky pak mohou být za některých okolností použity při odlišení druhů.

Z makromorfologického hlediska je nejdůležitější barva v různých částech plodnic, rozměry plodnic a větvení. Z mikromorfologického hlediska jsou nejdůležitějšími znaky velikost, tvar a povrch spor, Q hodnota, délka bazidií a počet sterigmat.

5.3.1 Makromorfologické znaky

5.3.1.1 Barva plodnic

Barva plodnic je dobrým diagnostickým znakem u mnou studovaných druhů jen výjimečně. Jedná se o žlutooranžový až oranžový *Ramariopsis crocea* a fialový *R. pulchella*. V těchto dvou případech je barva dostačujícím znakem pro úspěšné rozlišení druhu. I zde je ale zapotřebí zkušenost s určováním kyjankovitých hub, neboť hrozí záměna s druhy jiných rodů (viz poznámky k *R. crocea* a *R. pulchella*). Dalším evropským druhem, u něhož je možné do jisté míry spoléhat na zbarvení je *R. luteoochracea* s výrazným přechodem od tmavé, okrově hnědé až hnědé bazální části ke krémovým až téměř bílým větvím. Hodnota tohoto znaku je zde ale již nižší kvůli podobným, i když slabším tendencím k podobným barevným přechodům u dalších druhů, např. *R. biformis*, *R. tenuiramosa*, *R. subtilis*. V názorech na význam tohoto znaku a jeho podobu u zmíněných druhů nejsou mezi mnou a ostatními autory žádné rozpory (např. Corner 1950; Olariaga 2009; Knudsen et Vesterholt 2012). U ostatních druhů, které jsem studoval, je barva už jen čistě doplňujícím údajem, který může sloužit pouze k odfiltrování několika barevně odlišných taxonů, nemůže už ale sloužit jako znak pro odlišení od nejpodobnějších druhů. Důvodem je častá existence několika téměř stejně zbarvených taxonů (např. *R. klad 3*, *R. pseudotenuicula ad int.*, *R. subtilis*) nebo vyšší proměnlivost tohoto znaku v rámci některých druhů, především v kladech *Ramariopsis klad 3* a *Ramariopsis subtilis*. U těchto taxonů je v důsledku vysoké proměnlivosti barva jakožto odlišovací znak naprosto nepoužitelná. U *R. subtilis* je variabilita v tomto znaku způsobená mimo jiné tzv. hysterochroickými změnami (Petersen 1978a; Olariaga 2009). Plodnice hysterochroických druhů obsahují pigmenty způsobující tmavnutí plodnic během jejich stárnutí (Olariaga 2009). Některé druhy (např. *R. pulchella*) mohou naopak stářím blednout (Olariaga 2009). Přesto, že oba výše zmínění autoři uvádějí výskyt hysterochroických pigmentů u *R. subtilis*, oba shodně popisují tento druh jako velmi světlý (Petersen 1968; Olariaga 2009), což je v rozporu s mým pozorováním plodnic někdy výrazně tmavších, než je uváděno, a to i v případě mladých plodnic, kde by vliv hysterochroických barviv neměl být patrný.

5.3.1.2 Velikost plodnic

Velikost plodnic, respektive celková robustnost či subtilnost plodnic, je znak obecně proměnlivý a dá se využít jako pomůcka pro odlišení druhu jen v několika málo případech. Nejlepším příkladem je *R. robusta*, jehož plodnice jsou celkově největší, s nejširšími větvemi v rámci rodu a je tedy možné ho odlišit ve většině případů od všech ostatních druhů pouze na základě celkové velikosti (viz poznámky k *R. robusta*). I zde však existují výjimky a proto je pro správné určení nutné mikroskopování. Opakem jsou druhy *R. minutula*, *R. minutissima* ad int. a *R. pseudotenuicula* ad int., které se vyznačují extrémně drobnými plodnicemi (obvykle nepřekračujícími 25 × 15 mm). Ve všech třech případech je ale nutné mikroskopické studium sběrů, které vyloučí záměnu s podprůměrně vzrostlými nebo mladými plodnicemi podobných druhů, případně vzájemnou záměnu – především u *R. minutula* a *R. minutissima* ad int., které se liší hlavně mikroskopicky. Někteří autoři považují za význačný znak malý vzrůst u *R. subtilis* – do cca 20 mm výšky (např. Olariaga 2009). Mnou studované sběry tohoto druhu však v tomto znaku vykazují vysokou variabilitu a některé měřené plodnice dorůstaly až do 45 mm výšky, což dobře souhlasí např. s hodnotami udávanými v Oertel et Fuchs (2001).

5.3.1.3 Ostatní makromorfologické znaky

Ostatní makromorfologické znaky jsou často značně proměnlivé a proto taxonomicky méně použitelné. Toto se týká větvení, které může být u plodnic stejného druhu různě vyvinuté a někdy může dokonce zcela chybět (*R. luteoochracea*, *R. pseudotenuicula* ad int.), zakončení větví, které někdy přechází od ostrého až po oblé, odlišení třeně, který může být někdy mírně tmavší nebo jinak zbarvený, ale u plodnic stejného druhu může být i zcela nerozlišený.

Potencionálně zajímavý znak jsou makrochemické reakce, které nejsou u tohoto rodu příliš využívané a v mé práci nebyly použity. Zdá se ale, že v některých případech by mohly makrochemické znaky mít jistou hodnotu (Petersen 1978b; Petersen 1988; Olariaga 2009).

5.3.2 Mikromorfologické znaky

5.3.2.1 Spory

Mé studium ukázalo, že hlavním a nejdůležitějším znakem jsou spory (viz Tab. 4). V první řadě jde o jejich rozměry, Q hodnotu a ornamentiku. Délka a šířka spor jsou u většiny druhů obvykle relativně stabilní a jejich rozmezí často dovoluje s vysokou pravděpodobností vyloučit větší množství podobných druhů. Tento znak je důležitý zejména u *R. robusta*, *R. minutula*, *R. rufipes* a *R. constrictospora* ad int. Naopak u *R. subtilis*, který je v tomto znaku nejvariabilnější, má délka spor význam jen v kombinaci s ornamentikou spor a Q_{av} hodnotou. Také u druhů se sporama o rozměrech pohybujících se okolo celorodového průměru je význam tohoto znaku nižší. V tomto ohledu se moje

pozorování shodují s většinou ostatních autorů, kteří přikládají význam délce spor u stejných druhů (např. Petersen 1964, 1969; Corner 1970; Olariaga 2009).

Problém může nastat u druhů, které jsou variabilní v počtu sterigmat (např. *R. kunzei*, *R. pseudotenuicula* ad int.), kde existuje závislost rozměrů spor na množství sterigmat – bisporické a monosporické bazidie mohou produkovat větší spory než tetrasporické. Tento fakt se při zkoumání sběrů někdy těžko zohledňuje a to obzvláště v případech, kdy je bazidií v hymeniu málo, či jsou abortované a obtížně se hledají.

Ukázalo se, že taxonomicky důležitý je poměr délky a šířky spor – tzv. Q hodnota, jejíž rozptyl je u většiny druhů poměrně široký, ale její průměrná hodnota (Q_{av}) může být u některých druhů směrodatná. Jedná se hlavně o druhy, u kterých dosahuje tato hodnota výraznějších odchylek od hodnot typických pro tento rod (cca 1,27). Jedná se např. o druhy *R. kunzei*, *R. minutula*, *R. rufipes*, *R. constrictospora* ad int. a *R. subtilis*. Hodnotu Q_{av} je však vždy nutné pro odlišení druhu používat v kombinaci s jinými znaky. Tento znak byl však bohužel často opomíjen a v mnohých důležitých studiích není uváděn, a pokud ano, není považován za důležitý a používán pro vymezení druhů (např. Corner 1950, 1967, 1970; Petersen 1964, 1966, 1969; Knudsen et Vesterholt 2012). Současní autoři již tento znak obvykle využívají, i když mu zatím není většinou přikládán příliš velký význam (Oertel et Fuchs 2001; Olariaga 2009; Furtado et al. 2016).

Q hodnota je do jisté míry projevem tvaru spor, ale tento znak je nutné zohledňovat zvlášť. Studované sběry vykazují elipsoidní, široce elipsoidní až téměř kulovité spory, což jsou základní tvary v tomto rodu, které by bylo zhruba možné Q hodnotou zohlednit. Není už ale možné jakýmkoliv způsobem vyjádřit touto hodnotou méně obvyklé tvary spor, které se u některých druhů mohou vyskytnout (např. vejčité, obvejčité, kapkovité, jadérkovité či s uprostřed zúžené). Druhů, u kterých má typický tvar spor výraznější diagnostickou hodnotu, je ovšem málo a obvykle se jedná jen o nepříliš důležité vodítko, které má jen podpůrnou hodnotu. Nejvýraznějším příkladem, a svým způsobem výjimkou potvrzující pravidlo, je v této práci odhalený a zatím nepopsaný druh *Ramariopsis constrictospora* ad int., jehož spory byly u obou studovaných sběrů velmi často uprostřed zúžené. Tvar spor je v tomto případě hlavním rozlišovacím znakem. Dále se jedná např. o *R. luteoohracea*, který má spory obvykle elipsoidní až široce elipsoidní, ale velmi často také tvaru jadérka. Jedná se ovšem o druh, jehož ostatní znaky jsou natolik průkazné, že tvar spor nehraje příliš velkou roli. Jedná se ale o vhodný doplňující znak, který zmiňuje také Corner 1950, zatímco ostatní autoři uvádějí jiné tvary (Pilát 1959; Petersen 1966), nebo uvádějí spory stejného tvaru (dle kreseb), ale jejich tvar popisují jinak (Olariaga 2009).

Velice důležitým znakem je ornamentika spor, která hraje důležitou roli prakticky u všech druhů a obvykle je i jedním z diagnostických znaků (také je ale zapotřebí ji aplikovat v kontextu jednoho nebo více jiných znaků). Tento znak považují za důležitý také ostatní autoři, kteří se tímto rodem zabývali a

to nejen z hlediska vymezení jednotlivých druhů tohoto rodu, ale i jako jeden ze základních znaků pro vymezení od nejpodobnějšího rodu *Clavulinopsis* (např. Corner 1950; Petersen 1969). V první řadě je ovšem důležité brát v potaz proměnlivost ornamentiky v různých fázích jejich vývoje. Mladé spory mají ornamentiku obvykle nižší, často dokonce žádnou a až s dozráváním spory se ornamentika vyvíjí do konečné podoby. Tento jev je samozřejmě patrnější u druhů, jejichž spory mají po dozrání výraznější ornamentiku. V této práci jsou z hlediska povrchu spor hodnoceny a komentovány pouze vyzrálé spory s vyvinutou ornamentikou. Při srovnávání spor sběrů jednoho druhu nebo různých druhů je tedy nutné vyzrállost spor zohlednit.

Druhy rodu *Ramariopsis* mají spory přecházející od hladkých až po velmi výrazně ornamentované, přičemž tento znak je relativně konzervativní v rámci druhu. Neplatí to ale vždy. U *R. kunzei* se mohou vyskytovat ostny dlouhé výjimečně až 1 μm , ale obvykle nepřesahují délku 0,5 μm . *R. robusta* je typický ostny dlouhými 1–1,5 μm , které se vyskytují u všech sběrů, na mnoha sporách mohou ale zcela chybět a u některých sběrů mohou být tyto ostny jen na malém procentu spor. *Ramariopsis* klad 2 zahrnuje sběry, které jsou si podobné makromorfologicky, ale navzájem se velmi odlišují povrchem spor – u některých sběrů (MAT0042) jsou spory téměř hladké, zatímco u dalších (MAT0129) jsou naopak výrazně ornamentované. *Ramariopsis subtilis*, nejvariabilnější druh studovaný v této práci, byl vždy popisován se sporami hladkými nebo téměř hladkými (Corner 1950; Petersen 1968; Oertel et Fuchs 2001; Olariaga 2009). Moje výsledky ale ukazují, že je v tomto znaku variabilnější než se soudilo a vzácně se mohou vyskytnout i sběry s jemně ornamentovanými sporami, připomínajícími spory druhů jako např. *R. biformis*, *R. rufipes* či *R. tenuiramosa*. Obzvláště v konfrontaci s *R. rufipes*, který má jemně ornamentované spory podobného tvaru a Q hodnoty, je tato variabilita problematická, neboť ornamentika spor by měla být hlavním rozlišovacím znakem *R. subtilis* a *R. rufipes*.

V některých případech je úrovni ornamentiky spor přiřkládán tak vysoký význam, že jsou na základě tohoto znaku odlišovány i druhy, které jsou v tomto ohledu téměř totožné. Například Corner (1970) odlišuje druhy *Ramariopsis tenuiramosa* se sporami výrazněji ornamentovanými než *Ramariopsis biformis*. Při přímém srovnání ornamentiky spor holotypů těchto dvou druhů v práci Peglera et Younga (1985) ale vyšlo najevo, že oba mají spory prakticky totožné. Má pozorování naznačují, že tyto dva druhy jsou pravděpodobně synonymní (viz poznámky *R.* klad 3) a rozdílné vnímání ornamentiky spor těchto druhů (např. Petersen 1964; Corner 1970) odráží proměnlivost tohoto znaku.

Existují i další charakteristiky spor, mé výsledky ale ukázaly, že nemají praktický význam pro vymezení nebo identifikaci druhu. Jedná se například o délku hilárního apendixu, který je u většiny sběrů velmi podobný a jeho extrémní průměrné délky v rámci rodu byly pozorovány u druhů, s větším množstvím lepších diagnostických znaků (*R. minutula*, *R. robusta*). Tento znak použil Petersen

(1978a) pro reorganizaci rodu *Clavulinopsis*, jehož některé druhy byly přemístěny do rodu *Ramariopsis* mimo jiné na základě i tohoto znaku (viz kapitola 1.4).

Spory některých druhů mohou být velmi vzácně dextrinoidní, ale jen velmi slabě až nezřetelně, navíc ne všechny spory u jednoho sběru tuto reakci vykazují (*R. kunzei*, *R. luteoochracea*, *R. rufipes*). Opět se navíc jedná o druhy s jinými dobrými diagnostickými znaky. Nezaznamenal jsem, že by kterýkoliv ze zmiňovaných autorů považoval výše uvedený znak za důležitý.

5.3.2.2 Bazidie

Podrobná měření bazidií ukázala, že jejich rozměry mohou být jen znakem doplňujícím, neboť se obvykle mezi jednotlivými druhy příliš neliší a rozptyl jejich hodnot, převážně délek, bývá značný. Dobrým znakem je délka bazidií např. při odlišení *R. kunzei* s rozmezím průměrných délek bazidií u mnou studovaných sběrů 19,5–26,7 μm a *R. robusta* s bazidiemi dlouhými v průměru 27,4–35,9 μm . Specificky krátké bazidie (prům. 16,4–18,1 μm) byly pozorovány u *R. minutula* – v tomto případě se může jednat o dobrý znak při vymezení od *R. minutissima* ad int. s bazidiemi dlouhými průměrně 22,5–25,1 μm . Vzhledem k malému počtu studovaných sběrů obou druhů lze ale předpokládat, že reálný rozptyl hodnot délek bazidií může být vyšší a tudíž tento znak nemusí mít tak výraznou hodnotu.

Délka bazidií by také měla být jedním z hlavních rozlišovacích znaků mezi *R. biformis* s bazidiemi dlouhými 15–25 μm (Petersen 1964) a *R. tenuiramosa* s bazidiemi dlouhými 25–40 μm (Corner 1950). Mé výsledky naznačují, že tomu tak není, protože strom jasně ukazuje dva klady, které jsou těmto druhům morfologicky velmi blízké, přičemž oba dva mají rozpětí délek bazidií velké a vzájemně se překrývající. *Ramariopsis* klad 3 má bazidie dlouhé 20–34 μm , *R. pseudotenuicula* ad int. 22,5–37,0 μm . V každém ze zmíněných kladů najdeme sběry s bazidiemi různých délek, jedná se tedy o proměnlivý znak. *R. biformis* a *R. tenuiramosa* jsou možná synonyma a pravděpodobně se jedná o taxon v této práci nazývaný *R. klad 3* (viz poznámky k *R. klad 3*).

5.3.2.3 Ostatní mikromorfologické znaky

Další hodnotitelné znaky na bazidích již nemají význam pro vymezení či rozpoznání druhu. Všechny druhy mají bazidie s přezkou (výjimkou je *R. kunzei* var. *bispora*). Šířka bazidií je u všech druhů velmi podobná. Přítomnost tlustostěnných bazidií je proměnlivý znak, který hraje roli pouze u vymezení *R. pseudotenuicula* ad int. s často přítomnými tlustostěnnými bazidiemi vůči *R. klad 3*, který má bazidie vždy tenkostěnné. Podobný stav je i u kladů *R. minutula* s občas přítomnými tlustostěnnými bazidiemi a *R. minutissima* ad int., u kterého jsem na studovaném materiálu pozoroval pouze tenkostěnné bazidie. U ostatních druhů se obvykle vyskytují zároveň sběry pouze s tenkostěnnými bazidiemi, ale také sběry se vzácně nebo běžně přítomnými tlustostěnnými bazidiemi. Zástupci

některých dalších kladů mají pouze tenkostěnné bazidie, ale vzhledem k proměnlivosti tohoto znaku nelze přítomnost tlustostěnných bazidií vyloučit ani u taxonů, kde nebyly zatím pozorovány (*R.* klad 3 a *R. minutissima* ad int). Můj názor na hodnotu těchto znaků se neliší od názorů ostatních autorů (např. Petersen 1966; Corner 1970; Olariaga 2009)

Ve vzácných případech může být důležitým znakem počet sterigmat. Toto se týká především vymezení *R.* kladu 3 s výhradně tetrasporickými bazidiemi a *R. pseudotenuicula* ad int. se sběry, u nichž lze obvykle najít jak tetrasporické, tak bisporické a monosporické (a velmi vzácně i trisporické) bazidie, přičemž bi- a monosporické bazidie někdy převládají. U většiny ostatních druhů existují sběry s tetrasporickými bazidiemi a zároveň i sběry s menším podílem bisporických, vzácněji i monosporických bazidií, které se vyskytují nepříliš vzácně, ale nepravidelně. Počet sterigmat je tedy znak obvykle mírně variabilní u většiny druhů. Další výjimkou s pravděpodobně značnou variabilitou v tomto znaku je *R. kunzei*, který je popisován s bazidiemi převážně tetrasporickými a vzácně bisporickými (Corner 1950; McAffe et Grund 1981; Knudsen et Vesterholt 2012) nebo pouze tetrasporickými (Olariaga 2009), přičemž existuje *R. kunzei* var. *bispora*, vymezená mimo jiné podle přítomnosti výhradně bisporických bazidií (Schild 1971). Tato varieta byla nedávno povýšena na úroveň druhu jako *Ramariopsis bispora* (Olariaga et Salcedo 2013). V kladu *R. kunzei* byly studovány sběry s bazidiemi čistě tetrasporickými (MAT0149), sběry s výskytem převážně tetrasporických, ale vzácně i bisporických a monosporických bazidií (BRACR15092, BRACR17281), sběry s převážně bisporickými a monosporickými a vzácně i tetrasporickými bazidiemi (BRACR15077), a nakonec také zmíněný sběr s čistě bisporickými bazidiemi a dalšími znaky odpovídajícími *R. kunzei* var. *bispora* (SKX5). Je tedy zřejmé, že *R. kunzei* je v tomto znaku oproti předchozím popisům značně variabilní a *R. bispora* je spíše projevem vnitrodruhové variability *R. kunzei*. Jistotu v této otázce by ale přinesla pouze sekvence typu *R. bispora* a studium většího počtu sběrů *R. kunzei*.

Ostatní mikroskopické znaky, které jsem studoval, již nemají význam pro ohraničení druhů ani pro jejich determinaci. Jedná se převážně o charakteristiky hyf v různých částech hymenia. Šířka hyf je v subhymeniu, v tramě větví i v tramě třeně velmi podobná u všech studovaných taxonů. Zřejmě jediným případem, kdy je možné tento znak použít, je odlišení podobných druhů *R. rufipes* s prům. šířkou hyf třeně 4,19–4,54 μm a *R. subtilis* s prům. šířkou 2,81–3,82 μm . I vzhledem k malému počtu studovaných sběrů v kladu *R. rufipes* je ale hodnota tohoto znaku sporná, pokud je vůbec nějaká.

Nadmuté hyfy, které se jsou ve sběrech r. *Ramariopsis* často přítomny, také nejsou stálým znakem. Podobně jako u tlustostěnných bazidií je totiž jejich výskyt velmi variabilní u většiny kladů a to jak v rámci různých částí plodnice jednoho sběru, tak mezi jednotlivými sběry – někdy jsou přítomny hojně, jindy u sběru stejného kladu zcela chybí. U některých taxonů jsem zatím nadmuté hyfy nepozoroval (viz Tab. 4), ale vzhledem k tomu, že se jedná vždy o klady s velmi malým počtem sběrů, je pravděpodobné, že by byly při jejich rozsáhlejší studiu objeveny. I jejich šířka je velmi

variabilní a pro delimitaci druhů zcela nepoužitelná. Ostatní autoři (např. Corner 1950; Petersen 1964; Petersen 1969; Olariaga 2009) tento znak uvádějí v popisech druhů, ale nijak ho nekomentují a nepovažují ho tedy za důležitý. Jako diagnostický znak používá hyfy v určitém smyslu pouze Petersen (1966, 1969, 1988), který vymezuje některé druhy (např. *R. pseudosubtilis* a *R. agglutinata*) mimo jiné na základě nahlučených (agglutinated) hyf a/nebo hymenia. Corner (1970) považuje tento znak jen za důsledek vysychání plodnic. Na mnou studovaném materiálu jsem nahlučené hyfy v tomto smyslu nezaznamenal a nepovažuji tento znak za hodnotný, podobně jako Olariaga (2009).

Olariaga (2009) považuje za důležitý znak absenci nebo přítomnost krystalů v tramě. Uvádí tři typy krystalů, které by měly mít vysokou hodnotu jako diagnostický znak (bipyramidální, diskoidní, tyčovitě). Tyto krystaly v menší míře zmiňují i další autoři (např. Corner 1950; Schild 1971; Petersen 1988). Ve svém materiálu jsem žádné krystaly nezaznamenal a domnívám se, že jejich význam je z praktického hlediska nízký, vzhledem k jejich obtížnému nalezení a vyhodnocení.

5.3.3. Elektronová mikroskopie spor

Ve studii Pegler et Young (1985) bylo studováno metodami TEM (transmisní elektronová mikroskopie) a SEM (skenovací elektronová mikroskopie) 10 druhů rodu *Ramariopsis*. Hlavním cílem této studie bylo charakterizování buněčné stěny a ornamentiky spor konkrétních druhů. Většinou se jedná o studium na typovém materiálu nebo pečlivě vybraných zástupcích druhů, jejichž typový materiál neexistoval. Jako vedlejší výsledky byly publikovány i rozměry spor těchto sběrů, včetně Q hodnot.

Bohužel se domnívám, že rozměry spor v této práci publikované nejsou založené na zcela přesných měřeních. Tato domněnka vychází ze srovnání měření spor typového materiálu publikovaného v této práci a zároveň v několika dalších, starších studiích jiných autorů (viz dále). Spory větší části druhů udávají Pegler et Young (1985) výrazně delší, než spory téhož sběru studovaného v jiných pracích (holotypů i netypových položek), zatímco šířka zůstává stejná nebo jen o mírně větší. Z tohoto důvodu je také vyšší Q hodnota. Důvodem může být buď přesnější měření jiných autorů nebo naopak chybné měření Peglera a Younga – zřejmě kvůli započítání délky hilárního apendixu do celkové délky spor, a v případě šířky spor měření nejen z boku, ale i z čelního pohledu. Domnívám se, že tito autoři měřili spory odlišně než ostatní autoři, kteří stejné položky studovali v předchozích pracích (Corner 1950; 1970; Petersen 1964; 1966; 1969).

Vzhledem k tomu, že v práci Pegler et Young (1985) není žádná zmínka o tom, jak byla měření prováděna, není možné tuto hypotézu ověřit.

Vzhledem k tomu, že měření v této práci se v naprosté většině případů liší nejen od měření zmíněných autorů, ale i pozdějších autorů, kteří se těmito druhy zabývali (např. Oertel et Fuchs 2001;

Olariaga 2009), považují rozměry spor a Q hodnoty udávané v této práci za méně důvěryhodné a přikládám jim nižší význam.

Přes zmíněný nedostatek je však tato práce velmi důležitá díky přímému srovnání kreseb spor holotypů a také výraznému přispění k poznání buněčné stěny a hlavně ornamentiky spor, tedy velice důležitého znaku v rodu *Ramariopsis*.

Spory všech taxonů studovaných v této práci byly pozorovány v řádkovacím elektronovém mikroskopu (SEM, viz Taxonomická část). Oproti světelnému mikroskopu je zde lépe patrný rozdíl mezi mladými sporami se špatně vyvinutou ornamentikou a zralými, výrazněji ornamentovanými sporami (viz kapitola 5.3.2.1; Fig. 17).

Při pozorování vyzrálých spor ve světelném mikroskopu při 1000-násobném zvětšení je velmi často možné při proostřování zaznamenat jemné nerovnosti nebo zdrsnění povrchu spor, které se na první pohled jeví jako hladké. Toto se týká především spor druhů *Ramariopsis luteoochracea*, *R. minutula*, *R. klad 4* a některých sběrů *R. klad 3* a *R. subtilis*. Studium spor těchto taxonů v SEM potvrdilo předchozí pozorování ze světelného mikroskopu – ve všech případech byla patrná velice jemná ornamentika charakteru extrémně nízkých a tupých bradavek či velice jemného zdrsnění. Zcela hladké spory se nevyskytují u žádného ze studovaných taxonů, i když některé se tak mohou ve světelném mikroskopu jevit. Jako nejhladší se ukázaly být spory druhů *R. minutula* a *R. minutissima* ad. int.

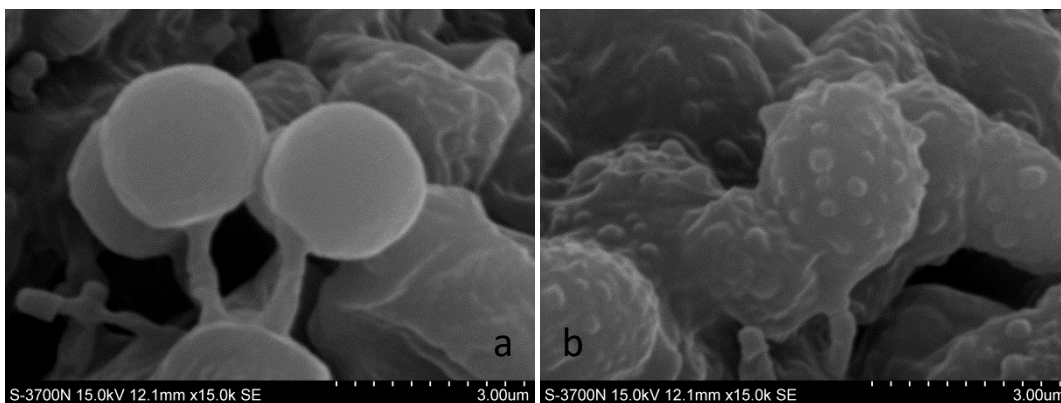


Fig. 17. Rozdíl mezi ornamentikou na nezralých (a) a zralých sporách (b) u druhu *Ramariopsis crocea*

Tab. 4 Shrnutí některých znaků studovaných taxonů a jejich diagnostická hodnota

KLAD	1. prům. d. sp.	2. prům. vs. d.	3. prům. s. sp.	4. prům. vs. š.	5. roz. Q ₉₀	6. prům. vs. O ₇	7. ornam.	8. roz. prům. hil. a	9. tvar spor							
<i>R. robusta</i>	4,25-4,92	4,63	3,33-4,04	3,68	1,2-1,32	1,26	4	0,76-0,97	elipsoidní, široce elipsoidní, vzácně až téměř kulovité či kapkovité							
<i>R. kunzei</i>	4,00-4,82	4,24	3,5-3,92	3,69	1,09-1,23	1,15	3-4	0,76-0,99	téměř kulovité až široce elipsoidní, vzácně elipsoidní, vzácně s výraznější subhliálními depresi							
<i>R. crocea</i>	3,21-3,82	3,35	2,76-3,02	2,98	1,1-1,16	1,13	3	0,61-0,73	široce elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji kulovité či vejčité							
<i>R. klade 1</i>	X	3,71	X	2,92	X	1,28	2-3	0,70	elipsoidní, široce elipsoidní nebo protáhle kapkovité							
<i>R. pulchella</i>	3,71-3,89	3,78	2,86-3,21	3,05	1,18-1,34	1,24	3	0,63-0,71	elipsoidní až široce elipsoidní, vzácně elipsoidní či téměř kulovité nebo vejčité							
<i>R. minutissima ad int.</i>	3,60-3,74	3,67	2,94-3,11	3,02	1,21-1,23	1,22	1(2)	0,62-0,82	elipsoidní až téměř kulovité, vzácněji obvejčité či široce kapkovité							
<i>R. minutula</i>	2,88-3,20	3,08	2,58-2,85	2,70	1,12-1,19	1,14	1	0,50-0,61	široce elipsoidní, široce kapkovité až téměř kulovité							
<i>R. luteoochracea</i>	3,70-4,08	3,92	2,83-3,18	3,12	1,24-1,35	1,30	1	0,56-0,65	elipsoidní až široce elipsoidní, někdy kapkovité či tvaru jádřka, vzácněji až téměř kulovité či obvejčité							
<i>R. rufipes</i>	4,64-4,86	4,79	3,39-3,46	3,41	1,37-1,43	1,40	2	0,66-0,82	elipsoidní, vzácněji široce elipsoidní							
<i>R. constrictospora ad int.</i>	4,33-4,48	4,28	3,22-3,75	3,20	1,42-1,57	1,47	1(2)	0,73-0,78	úzce elipsoidní, velmi často s nápadným centrálním zúžením, vzácněji válcovité či úzce vejčité							
<i>R. klade 2</i>	3,53-4,35	4,07	2,82-3,27	3,01	1,28-1,44	1,35	2	0,68-0,80	elipsoidní, široce elipsoidní, vzácně téměř kulovité							
<i>R. klade 3</i>	3,84-4,34	4,07	2,76-3,25	2,98	1,33-1,41	1,37	1	0,64-0,92	elipsoidní až široce elipsoidní							
<i>R. pseudotenacuata ad int.</i>	3,62-4,29	4,06	3,0-3,7	3,22	1,16-1,34	1,26	3	0,65-0,81	elipsoidní, široce elips. až téměř kulovité, vz. válcovité, úzce elipsoidní nebo kapkovité							
<i>R. subtilis</i>	4,13-4,79	4,37	3,02-3,43	3,11	1,3-1,66	1,42	1-2	0,64-0,78	elipsoidní, vzácněji úzce či široce elips. či tvaru jádřka, výjimečně i válcovité, mírně ledvinité či vejčité							
KLAD	10. prům. d. bazíí	11. prům. vs. š.	12. prům. s. bazíí	13. prům. vs. š.	14. prům. d. st.	15. prům. vs. d.	16. počet sterilií	17. tloušťka BS	18. prům. s. h	19. prům. vs. h	20. prům. vs. h	21. prům. vs. h	22. prům. s. h	23. prům. vs. h	24. nadmuté hyfy	25. makromorfologie
<i>R. robusta</i>	27,4-35,9	34,00	5,20-6,28	5,70	2,85-4,40	3,62	4, vz. 2	TE, velmi vz. TL	3,71-5,44	4,69	3,3-5,48	4,17	2,67-3,23	3,03	vz. HV; č. HT	
<i>R. kunzei</i>	19,5-26,7	24,60	5,40-5,80	5,61	2,28-4,18	3,23	4, vz. 2, 1	TE, velmi vz. TL	3,28-5,15	4,21	3,38-4,45	3,92	2,49-3,42	2,78	vz. HV; HT; HS	
<i>R. crocea</i>	20,3-23,5	21,70	4,35-4,80	4,58	2,40-2,72	2,54	4, vz. 2	TE	3,93-5,39	4,51	3,03-3,50	3,26	2,24-2,41	2,37	vz. HV	
<i>R. klade 1</i>	X	25,40	X	5,26	X	3,23	4, vz. 2	TE	X	4,97	X	2,35	X	2,57	NE	
<i>R. pulchella</i>	22,8-25,2	23,10	4,65-4,90	4,70	2,80-2,93	2,91	4, vz. 2(1)	TE, vz. TL	3,08-4,61	4,17	3,12-3,53	3,29	2,45-2,53	2,44	obč. HV, vz. HT; HS	
<i>R. minutissima ad int.</i>	22,5-25,1	23,01	4,73-4,88	4,84	2,91-2,93	2,92	4, vz. 2	TE	3,18-4,49	3,73	3,5-4,29	3,73	2,63-2,65	2,64	NE	
<i>R. minutula</i>	16,4-18,1	17,70	4,00-5,00	4,70	1,88-2,79	2,50	4, vz. 2, 1	TE či TL	2,51-3,96	3,31	2,18-2,79	2,42	2,15-3,1	2,48	NE	
<i>R. luteoochracea</i>	25,3-28,5	26,50	4,60-5,30	5,00	2,84-4,07	3,17	4, vz. 2	TE, vz. TL	3,76-5,19	4,22	2,22-3,84	2,96	2,39-3,06	2,62	vz. HV; HT; HS	
<i>R. rufipes</i>	27,5-34,8	30,30	5,50-6,20	5,80	3,07-3,71	3,45	4	TE	4,8-6,45	5,53	4,19-4,54	4,37	2,76-2,94	2,87	vz. HV; HS	
<i>R. constrictospora ad int.</i>	27,3-29,1	28,10	5,10-5,30	5,19	2,28-3,73	3,45	4	TE	3,75-4,52	4,19	3,59-4,24	3,96	2,53-2,92	2,75	NE ?	
<i>R. klade 2</i>	27,4-29,1	28,20	5,25-6,08	5,49	3,30-3,49	3,39	4	TE, velmi vz. TL	3,4-4,14	3,93	3,18-3,51	3,36	2,39-2,55	2,46	někdy HS; vz. HV	
<i>R. klade 3</i>	24,7-31,9	27,00	4,33-5,54	5,1	3,33-3,83	3,63	4	TE	4,46-5,05	4,6	2,48-4,46	3,33	2,4-2,76	2,58	obč. HS; HV; vz. HT	
<i>R. klade 4</i>	25,9-33,0	27,70	5,00-5,28	5,11	3,30-4,30	3,72	4, vel. vz. 2	TE	3,82-5,05	4,42	3,06-3,32	3,17	2,25-2,56	2,45	vz. HV	
<i>R. pseudotenacuata ad int.</i>	25,5-32,0	29,10	5,04-5,85	5,43	2,95-4,45	3,72	4, 2, 1, vz. 3	TE či TL	3,18-5,84	4,58	3,0-5,31	3,71	2,16-3,01	2,47	obč. HS; HV; vz. HT	
<i>R. subtilis</i>	25,3-33,8	30,80	4,80-5,80	5,4	2,73-3,80	3,26	4, vel. vz. 2	TE, vz. TL	3,7-5,8	4,18	2,81-3,82	3,2	2,09-3,22	2,55	vz. HV; HT; HS	

Tab. 4: grafické rozlišení úrovně diagnostické hodnoty znaků při srovnání s nejpodobnějšími druhy

	znak jednoznačně vymežující daný druh
	znak vymežující daný druh v kombinaci s jedním, nebo více dalšími znaky
	znak, který může být v jistých situacích nápomocný lepšímu rozlišení druhu

- 1. – rozmezí průměru délek spor
- 2. – průměr všech délek spor
- 3. – rozmezí průměrů šířek spor
- 4. – průměr všech šířek spor
- 5. – rozmezí hodnot Q₉₀
- 6. – průměr všech Q₉₀
- 7. – úroveň ornamentiky spor
- 8. – rozmezí průměrů hilárního apendixu
- 9. – tvar spor
- 10. – rozmezí průměrů délek bazíí
- 11. – průměr všech délek bazíí
- 12. – rozmezí průměrů všech šířek bazíí
- 13. – průměr všech šířek bazíí
- 14. – rozmezí průměrů délek sterigmat
- 15. – průměr všech délek sterigmat
- 16. – počet sterigmat
- 17. – tloušťka buněčné stěny
- 18. – rozmezí průměrů hyf větví
- 19. – průměr všech šířek hyf větví
- 20. – rozmezí průměrů šířek hyf třeně
- 21. – průměr všech šířek hyf třeně
- 22. – rozmezí průměrů šířek hyf subhymenia
- 23. – průměr všech šířek hyf subhymenia
- 24. – přítomnost nadmutých hyf
- 25. – makromorfologie

6 Závěry

Na základě studia 45 mých sběrů a 43 herbářových položek jsem na území střední Evropy, reprezentované sběry z České republiky a Slovenska, potvrdil kombinací morfologických a molekulárně-fylogenetických metod (na základě úseků LSU a ITS) osm druhů známých v taxonomické literatuře, tři zatím nepopsané druhy, dobře podpořené klady ve stromech a morfologicky rozlišitelné (v práci jsou popsány provizorně jako druhy ad int.), a 4 klady, jejichž interpretace je zatím nejistá

Fylogenetické stromy LSU a ITS jsou tvořeny stejnými, navzájem velmi dobře si odpovídajícími klady, které reprezentují 9 druhů popsáných v taxonomické literatuře (včetně tropického druhu *Ramariopsis atlantica*) a 7 kladů, jimž nebylo možné přiřadit druhové jméno - většina těchto kladů představuje kryptické druhy, které tvoří v obou stromech významný podíl všech sekvencí. Některé z těchto kryptických taxonů ohraničitelné i morfologickými znaky byly označeny provizorními jmény, vyjadřujícími jejich specifický znak nebo podobnost k jinému druhu. Jedná se o *Ramariopsis minutissima* Matouš ad int., *R. constrictospora* Matouš ad int., a *R. pseudotenuicula* Matouš ad int. Tyto tři taxony bude po získání dalších dat možné pravděpodobně popsat jako nové druhy.

Další část taxonů, které se jeví jako kryptické – tedy, takové, které nemají vyhraněné morfologické znaky nebo takové, které jsou dokumentovány malým počtem sběrů a sekvencí, byla označena pouze číslem jejich kladu. Jedná se o *Ramariopsis* klad 1 aff. *kunzei*, který je zastoupen pouze jediným sběrem, *Ramariopsis* klad 2 aff. *avellaneoinversa*, který je morfologicky velice variabilní a není možné stanovit jeho diagnostické znaky ani ho připodobnit k žádnému dosud popsánému druhu a *Ramariopsis* klad 4 aff. *subtilis*, který je ve všech ohledech téměř nebo zcela totožný s *Ramariopsis subtilis*.

Specifickým případem je *Ramariopsis* klad 3 aff. *biformis*, *tenuicula*, *tenuiramosa*, k němuž by bylo možné přiřadit hned několik (výše vypsáných) druhových jmen. Část skryté diverzity v rodu *Ramariopsis* jsem už během práce vyřešil popsáním nového druhu *Ramariopsis robusta* Matouš et Holec, který byl v minulosti určován jako *R. kunzei*.

Kombinací molekulárně-fylogenetických a morfologických metod byla odhalena vysoká vnitrodruhová morfologická variabilita v některých taxonech. U *R. kunzei* byla zjištěna vyšší variabilita v počtu sterigmat. Kromě toho byla jedna sekvence sběru, identifikovaného jako *Ramariopsis bispora*, identifikována jako součást kladu *R. kunzei* v LSU stromě. Na základě této příslušnosti je *Ramariopsis bispora* chápán jen jako varieta *R. kunzei*, tedy tak, jak byl původně popsán.

Velice variabilním taxonem je i *Ramariopsis* klad 2, který je ovšem pravděpodobně tvořen několika druhy. Sběry, jejichž sekvence jsou v tomto kladu zastoupeny, jsou si natolik odlišné, že není možné shrnout je žádným jednotícím znakem ani kombinací více znaků.

Nejvariabilnějším druhem byl zjištěn *Ramariopsis subtilis*. Jednotlivé sběry se liší makromorfologicky, v délce bazidií, v rozměrech spor a hodnotě Q_{av} a také v ornamentice spor. Tento znak je přitom pro *R. subtilis* udáván jako zásadní; objevená variabilita tudíž snižuje jeho diagnostickou hodnotu.

R. klad 3, který je morfologicky velice blízký druhům *Ramariopsis biformis*, *R. tenuicula* a *R. tenuiramosa*, se ukázal být variabilní v rozměrech spor, hodnotě Q_{av} a v délce bazidií, čímž zhruba překlenul morfologické charakteristiky zmíněných druhů. Z tohoto důvodu je zatím nemožné ho jedním z těchto jmen označit. Na základě studia taxonomické literatury docházím také k závěru, že *Ramariopsis biformis* a *Ramariopsis tenuiramosa* jsou synonymní druhy. S velkou pravděpodobností je synonymem i *R. tenuicula*. Bez studia holotypů ale nebylo možné udělat definitivní závěry.

Na základě studované literatury a mnou studovaných sběrů docházím k závěru, že *Clavulinopsis microspora* Corner je synonymem k *Ramariopsis luteoochracea* (Cavara) R.H. Petersen.

V této práci byly také identifikovány taxony, které nebyly zatím na území České republiky a Slovenska uváděny. Jedná se o *Ramariopsis kunzei* var. *bispora* a *Ramariopsis rufipes*, pravděpodobně prvnález i pro širší oblast střední Evropy.

7 Literární zdroje

- Adamčík S., Kautmanová I. (2005): *Hygrocybe* species as indicators of natural value of grasslands in Slovakia. – *Catathelasma*. 6: 25–34.
- Araujo-Neta L.S., Silva G.A., Gibertoni T.B. In Hyde K.D. et al. (2016): Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. – *Fungal Divers.* 80: 217, 226–227.
- Aron A., Kahr H., Michelitsch S., Pidlich-Aigner H., Prelicz D. (2005): Vorläufige Rote Liste gefährdeter Großpilze der Steiermark. - *Joannea Bot.* 4: 45–80.
- Atkinson G.F. (1908): Notes on some new species of fungi from the United States. – *Ann. Myc.* 6: 54–62.
- Bickford D., Lohman D.J., Sodhi N.S., Ng P.K.L., Meier R., Winker K., Ingram K.K. & Das I. (2007): Cryptic species as a window on diversity and conservation. – *Trends in Ecology & Evolution* 22: 148–155.
- Binder M., Larsson K.H., Matheny P.B., Hibbett D.S. (2010): *Amylocorticiales* ord. nov. and *Jaapiales*

- ord. nov.: Early diverging clades of agaricomycetidae dominated by corticioid forms. – *Mycologia* 102: 865–880.
- Birkebak J.M., Mayor J.R., Ryberg K.M., Matheny P.B. (2013): A systematic, morphological and ecological overview of the *Clavariaceae* (*Agaricales*). – *Mycologia* 105: 896–911.
- Bourdot H., Galzin A. (1928): Hyménomycètes de France. – 761 p. Sceaux, Paris
- Cavara (1892): Fungi Longobardiae exsiccati sive Mycetum specimina in Longobardia collecta, exsiccata et speciebus novis vel criticis, iconibus illustrata. – *Pug.* 2: 51–100.
- Coker W.C. (1923): The Clavarias of the United States and Canada. – The University of North Carolina Press, New York: Dower Publications. 209 s.
- Corner E.J.H. (1950): A monograph of *Clavaria* and allied genera. – *Ann. Bot. Mem.* 1: 1–750.
- Corner E.J.H. (1967): Clavarioid fungi of the Solomon Islands. – *Proc. Linnean Soc. Lond.* 178: 91–106.
- Corner E.J.H. (1970): Supplement to „A monograph of *Clavaria* and allied genera“. – *Nova Hedwigia* 33: 1–299.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. (2012): jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. – *Nat. Methods* 9: 772.
- Daun R., Nitare J. (1987): A contribution to the knowledge of *Ramariopsis subarctica*. – *Windahlia* 16: 89–96.
- Donk M.A. (1933): Revision der niederländischen Homobasidiomycetae-Aphyllloporaceae II: 89. – *Mededeel. Bot. Mus. Herb. Rijksuniv. Utrecht* 9: 1–278.
- Evans S. (2003): British waxcap-grassland cross-off list. *Field Mycology* 4: 123–125.
- Fadnes P. (2013): Nye lokaliteter og nye funn av sopp i kulturlandskapet i Sunnhordland og Nord-Rogaland 2011-2012. Oppdatering og status. – HSH Rapport 2013/3.
- Fries E.M. (1821): *Systema mycologicum*. Vol. 1. Gryphiswaldiae: Sumptibus Ernesti Mauritzii. 522 s.
- Furtado A.N.M., Daniëls P.P., Neves M.A. (2016): New species and new records of *Clavariaceae* (*Agaricales*) from Brazil. – *Phytotaxa*. 253: 1–26.
- García-Sandoval R., Villegas M., Cifuentes J. (2002): New records of *Ramariopsis* from Mexico. – *Mycotaxon* 82: 323–333.
- García-Sandoval R., Cifuentes J., De Luna E., Estrada-Torres A., Villegas M. (2005): A phylogeny of *Ramariopsis* and allied taxa. – *Mycotaxon*. 94: 265–292.
- Halama M., Pech P., Shiryayev A.G. (2017): Contribution to the knowledge of *Ramariopsis subarctica* (*Clavariaceae*, *Basidiomycota*). – *Polish Botanical Journal* 62: 123–133.
- Holec J., Adamčík S. (2008): Zajímavé a vzácné houby travních společenstev, zejména kyjankovitě, nalezené během setkání mladých mykologů na Kokořínsku v říjnu 2007. – *Mykologické Listy*. 104: 13–20.

- Holec J., Beran M., eds. (2006): Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. – Příroda, Praha. 24: 1–282.
- Jindřich O. (2007): *Clavaria rosea* – kyjanka růžová, vzácný druh evropské mykoflóry, nalezena u Brna. – Mykologické Listy. 101: 7–8.
- Jordal J.B., Evju m., Gaarder G. (2016): Habitat specificity of selected grassland fungi in Norway. – *Agarica* 37: 5–32.
- Jülich W. (1981): Higher Taxa of Basidiomycetes. – Cramer, Vaduz. 485 s.
- Jülich W. (1984): Die Nichtblatterpilze, Gallertpilze und Bauchpilze, Aphylophorales, Heterobasidiomycetes, Gasteromycetes. – In: Gams H., ed., *Kleine Kryptogamenflora*, Vol. IIb/1, pp. 1–626. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Kautmanová I. (2012): Taxonomy of Central-European representatives of the genus *Clavaria* (Basidiomycetes, Clavariaceae). – Dizertační práce. Univerzita Komenského, Přírodovědecká fakulta, Bratislava. 162 s.
- Kautmanová I. (2014): *Clavaria roseoviolacea* R. H. Petersen (Basidiomycetes, Clavariaceae), new for Europe. – *Acta Rer. Natur. Mus. Nat. Slov.* 60: 50–53.
- Kautmanová I., Adamčík S., Lizoň P., Jančovičová S. (2012): Revision of taxonomic concept and systematic position of some Clavariaceae species based on material collected in Slovak grasslands. – *Mycologia*. 104: 521–539.
- Knudsen H., Shiryayev A.G., Kautmanova I., Boertmann D., Vesterholt J. (2012): *Clavariaceae* Chevall. – In: Knudsen H., Vesterholt J., eds., *Funga Nordica, Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera*, 2nd ed., pp. 242–251. Nordsvamp, Copenhagen.
- Kotiranta H., Shiryayev A.G., Spirin V. (2016): Aphylophoroid fungi (Basidiomycota) of Tuva Republic, southern Siberia, Russia. – *Folia Cryptog. Estonica*. 53: 51–64.
- Kotlaba F. (1984): Zeměpisné rozšíření a ekologie chorošů (Polyporales. I.) v Československu. – Academia, Praha.
- Kučera V., Kautmanová I. (2011): Contribution to the knowledge of macrofungi of the Muránska planina National Park and adjacent areas. – *Reussia* 6: 87–96.
- Kunttu P., Kulju M., Kekki T., Pennanen J., Savola K., Helo T., Kotiranta H. (2016): Extensions of known geographic distribution of aphylophoroid fungi (Basidiomycota) in Finland. – *Mycosphere* 7: 333–357.
- Larsson S. (2016): Biologisk mångfald i jordbrukslandskapet – En karthistorisk studie över markanvändningen på Uppsala läns 5 artrikaste ängssvampsmarker. – Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. 71 s.
- Lundell S., Nannfeldt J.A. (1938): *Fungi Exsiccati Suecici*. Fasc. 11-12: 501–600.
- Matouš J., Holec J., Koukol O. (2017): *Ramariopsis robusta* (Basidiomycota, Clavariaceae),

- a new European species similar to *R. kunzei*. – 69: 51–64.
- McAfee B.J., Grund D.W. (1981): The Clavarioid fungi of Nova Scotia. - Proc. Nova Scotian Inst. Sci. – 32: 1–73.
- McHugh R., Mitchel D., Wright M., Anderson R. (2001): The Fungi of Irish Grasslands and Their Value for Nature Conservation. – P. Roy. Irish Acad. B. – 101: 225–243.
- Nitare J. (2015): Fjällfingersvamp (*Ramariopsis subarctica*) – ett litet porträtt. – Svensk Mykologisk Tidskrift 36: 55–57.
- Oertel B., Fuchs H.G. (2001): Pilzfloristische Beobachtungen auf Magerwiesen und Halbtrockenrasen im linksrheinischen Mittelgebirge: Clavariaceen sowie weitere bemerkenswerte Asco- und Basidiomyceten. – Z. Mykol. 67: 179–212.
- Olariaga I. (2009): The order *Cantharellales* in the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. – Disertační práce. University of the Basque Country, Leioa.
- Olariaga I., Salcedo I. (2013): New combinations and notes in clavarioid fungi. – Mycotaxon 121: 37–44.
- Pegler D.N., Young W.K. (1985): Basidiospore structure in *Ramariopsis* (*Clavariaceae*). T. Br. Mycol. Soc. – 84: 207–214.
- Petersen R.H. (1964): Notes on clavarioid fungi. II. Corrections in the genera *Ramariopsis* and *Clavaria*. – Bull. Torrey Bot. Club 91: 274–280.
- Petersen R.H. (1966): Notes on clavarioid fungi. V. Emendation and additions to *Ramariopsis*. – Mycologia 58: 201–207.
- Petersen R.H. (1968): The genus *Clavulinopsis* in North America. – Mycol. Mem. 2: 1–39.
- Petersen R.H. (1969): Notes on clavarioid fungi. X. New species and type studies in *Ramariopsis*, with a key to species in North America. – Mycologia 61: 549–559.
- Petersen R.H. (1978a): Notes on Clavarioid fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*, *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. – Mycologia 70: 660–671.
- Petersen R.H. (1978b): The genus *Ramariopsis* in South-eastern Australia. – Austr. J. Bot. 26: 425–431.
- Petersen R.H. (1988): The clavaroid fungi of New Zealand. – Science Information Pub. Centre, Dept. of Scientific and Industrial Research, Wellington.
- Pilát A. (1958): Přehled hub kyjankovitých-*Clavariaceae* se zvláštním zřetelem k československým druhům. – Sborn. Nár. Mus. v Praze, Řada B, Přír. Vědy 14: 129–255.
- Pilát A. (1959): Clavariaceae e montibus Tatra Belaensis Carpatorum centralium. – Sborn. Nár. Mus. v Praze, Řada B, Přír. Vědy 15: 111–122.
- Pilát A. (1971): Species nova turficola generis *Ramariopsis* (Donk) Corner: *Ramariopsis subarctica* sp. nov. – Česká Mykol. 25: 10.

- Pilát A. (1972): Beitrag zur Kenntnis der tschechoslowakischen Clavariaceen sensu ampl. – Sborn. Nár. Mus. v Praze, Řada B, Přír. Vědy 27: 1–173
- Pilát A. (1974): *Ramariopsis subarctica* Pilát in Montibus Corconticis Sudetorum lecta. – Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon, Num. Spéc. 43: 339–342.
- Posada D. (2008): jModel test: phylogenetic model averaging. Mol. Biol. Evol. – 25: 1253–1256.
- Rambaut A. (2014): FigTree 1.4.2 software. – Institute of Evolutionary Biology, Univ. Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rattan S.S., Khurana I.P.S. (1978): The Clavarias of the Sikkim Himalayas. – Cramer, Vaduz.
- Ronquist F., Teslenko M., Van Der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M.A., Huelsenbeck J.P. (2012): MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. – Syst. Biol. 61: 539–542.
- Senn-Irlet B., Bieri G., Egli S. (2007): Liste rouge des espèces menacées en Suisse. L'environnement pratique no 0718. – Office fédéral de l'environnement, Berne, et WSL, Birmensdorf. 18: 1–94.
- Shiryayev A.G. (2009): Diversity and distribution of clavarioid fungi in Estonia. – Folia Cryptog. Estonica. 45: 65–80.
- Shiryayev A.G. (2013): The Clavarioid Mycobiota of Northern Fennoscandia: Is it a Tundra or a Boreal Structure? – Trudy Karel'skogo Nauchnogo Tsentra Rossiyskoy Akademii Nauk, Biogeografiya. – 2: 55–64.
- Shiryayev A.G., Agaphonova N.N. (2009): Diversity and distribution of Clavarioid fungi in boreal forests of Tomsk region. – Mikol. Fitopatol. 43: 544–555.
- Shiryayev A.G., Mikhalyova L.G. (2013): Aphyllophoraceous fungi (Basidiomycetes) in the tundra and forest-tundra of the Lena River Delta and Novosibirsk Islands (Arctic Yakutia). – Novosti Sist. Nizsh. Rast. 47: 155–166 (v Ruštině s anglickým abstraktem).
- Schild E. (1971): Fungorum Rariorum Icones Coloratae, Vol. 5. *Clavariales*. – Cramer, Vaduz.
- Stearn W.T. (2004): Botanical Latin, 4th edition. – Timber Press, Portland. 546 p.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. – Molecular Biology and Evolution 30: 2725–2729.
- Vašutová M., Dvořák D., Beran M. (2013): Rare macromycetes from raised bogs in the Hrubý Jeseník Mts. (Czech Republic). – Czech Mycology. 65: 45–67.