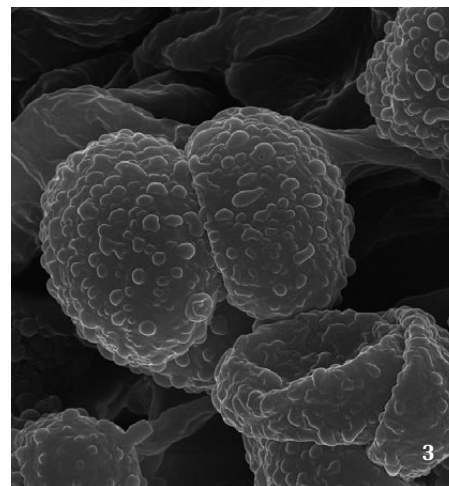
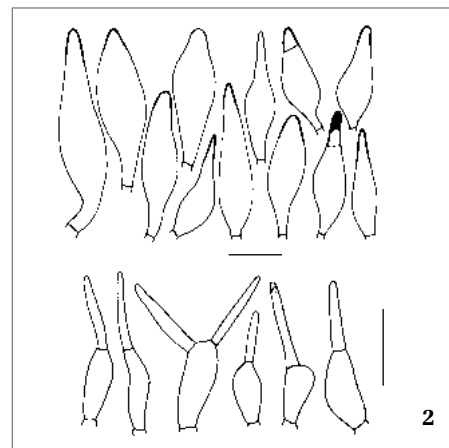


# Tmavobělky, opomíjené lupenaté houby

Poznání taxonomie a biodiverzity hub tvořících nápadné plodnice (makromycetů) výrazně zaostává za poznáním makroskopických živočichů a rostlin. Dokonce i u řady nápadných a ekologicky zajímavých druhů hub nejsou dostatečně známy jejich ekologické vazby, geografické rozšíření a vývojové vztahy k evolučně příbuzným druhům a rodům. Tato skutečnost je dána skrytým způsobem života. I makromycety rostou během převažující části životního cyklu v podobě mycelia prorůstajícího substrát, a jejich morfologické struktury a životní projevy tak unikají pozornosti. Důvodem je rovněž nízký počet erudovaných mykologů, který je výrazně nižší než u botaniků a zoologů, i nedostatečná finanční podpora základního taxonomického výzkumu na národní i evropské úrovni. Cílem našeho článku je představit výsledky více než desetiletého systematického výzkumu evropských druhů rodu tmavobělka (*Melanoleuca*), lupenatých stopkovýtusných hub (Basidiomycota) zprvu řazených do čeledi čirůvkovitých (Tricholomataceae, Singer 1986), později do štítovkovitých (Pluteaceae, Vizzini a kol. 2021) a podle nejnovějších poznatků patřících do vlastní čeledi tmavobělkovitých (Melanoleucaceae, Vizzini a kol. 2024).



Tmavobělky jsou lupenaté houby s typickým tvarem, tj. kloboukaté s centrálním třeněm a lupenitým hymenoforem (pilocieciem), které jsou poměrně velké – klobouk měří obvykle mezi 40 a 125 mm v průměru, ale např. u tmavobělky rýhonohé (*M. grammopodia*, obr. 1) může dosahovat až 260 mm – a pozornosti terénních mykologů tak neunikají. Závažným problémem pro určování tmavobělek do druhu je ale nedostatek mikroskopických znaků, které by pomáhaly odlišit jednotlivé druhy. Znaky se velice často překrývají. Z tohoto důvodu bylo v minulosti druhové pojetí rodu založeno převážně na makroskopických znacích plodnic, na velikosti klobouku a třeně, jejich barvě, charakteru povrchu klobouku, barvě lupenů, tvaru báze třeně a zbarvení

dužniny v bázi třeně, které bohužel nejsou příliš stabilní a jejich použití pro identifikaci je problematické. Někteří autoři v historii si navíc zakládali na popisu velkého počtu nových druhů tmavobělek, vycházejícím z relativně malých morfologických rozdílů a taxonomická hodnota takto vymezených druhů je pak sporná. Prvním autorem, který při vnitrododové klasifikaci tmavobělek postavil mikroskopické znaky na úroveň znaků makroskopických, byl Marcel Bon (1978), později jeho členění převzal Teun Boekhout (1988). Současná literatura člení tmavobělky do dvou podrodů – *Melanoleuca* a *Urticocystis* – lišících se morfologií cystid, tedy tvarově nápadných buněk v hymeniu (obr. 2). Podrod *Melanoleuca* zahrnuje druhy s vyvinutými

makrocystidami (nápadnými cystidami větvenovitými nebo lahvicovitými tvaru) a *Urticocystis* druhy s urtikoidními cystidami (podobnými žahavým trichomům u kopřivy – *Urtica*) nebo bez vyvinutých cystid. Ekologicky jsou tmavobělky většinou vázané na travnatá společenstva – pastviny, stepní a horské trávníky, lemy a palouky lesních porostů i vyložené synantropní stanoviště. Jejich ekologický vztah k okolním rostlinám však není jasný, předpokládá se, že by mohlo jít o houby mykorrhizní (symbiotické s kořeny rostlin) nebo saprotrofní (rozkladače rostlinného opadu), ale nelze vyloučit ani biotrofní (parazitickou) vazbu na byliny, jako v případě voskovek (*Hygrocybe*). Přičemž tyto ekologické vazby jsou zpravidla v rámci rodu stabilní.

## Taxonomická revize evropských tmavobělek

Při našem dlouholetém výzkumu jsme prováděli taxonomickou revizi všech evropských druhů tmavobělek; v nejnovějším klíči před naší revizí bylo uváděno kolem 80 druhů a vnitrodruhových taxonů (Bon 1991). Kromě studia znaků makroskopických (velikosti, tvaru a barvy plodnice a jejich částí) i mikromorfologických, k nimž patří rozměry bazidiospor, přítomnost či nepřítomnost, tvar a rozměry cystid v hymeniu i na třeni, charakter pokožky klobouku a třeně, byla také analyzována DNA. U hub se pro taxonomické a determinační účely běžně provádí sekvenace ITS (Internal Transcribed Spacer) oblasti ribozomálního RNA genu a s určitými výhradami se tato sekvenace u stopkovýtusných hub používá jako univerzální DNA marker neboli barkód, který by měl každý druh jedno-





**1** Tmavobělka rýhonohá (*Melanoleuca grammopodia*). Národní park Podyjí, Mašovice, Mločí údolí. Foto V. Antonín

**2** Tvar cystid u rodu tmavobělka. Urtikoidní typ na příkladu tmavobělky světlemedové (*M. strictipes*, nahoře, orig. S. Jančovičová) a makrocystidioidní typ u t. Julianniny (*M. juliannae*, dole, orig. V. Antonín). O typech cystid blíže v textu. Měřítko 20  $\mu$ m

**3** Výtrusy tmavobělek na příkladu tmavobělky Julianniny. Maďarsko, národní park Kiskunság, Orgovány. Snímek ze skenovacího elektronového mikroskopu. Foto L. Ilkovic

**4** Tmavobělka světlemedová. Moravskoslezské Beskydy, Staré Hamry – Jamník. Foto V. Antonín

**5** Tmavobělka *M. variabilis*. Chráněná krajinná oblast Český kras, Srbsko, Kubrychtova bouda. Foto J. Burel

**6 a 7** Tmavobělka Friesova (*M. friesii*). Vysoké Tatry, Podbanské (obr. 6) a Itálie, Castelluccio (7).

Foto O. Ďuriška (obr. 6) a V. Antonín (7)

značně identifikovat (více v Živě 2023, 6: 287–290). Tato oblast DNA sice na rozdíl od některých kódujících genů vyskytujících se v genomu v jedné kopii (Single-copy genes) vede k horšímu rozlišení druhů ve fylogenetických stromech, ale daleko lépe se získává z ne vždy ideální genomové DNA izolované ze starších herbářových položek. Celkem jsme během více než desetiletého výzkumu získali sekvence z více než 500 vlastních sběrů i vypůjčených herbářových položek převážně z různých částí Evropy, v menší míře i ze Severní Ameriky a východní Asie. U většiny položek byla

sekvencována jen ITS oblast, u taxonomicky významného materiálu pak byly analyzovány sekvence dalších dvou genů používaných s úspěchem v jiných taxonomických studiích u stopkovýtrusných hub – translačního elongačního faktoru 1-alfa (tef1) a druhé podjednotky DNA-dependentní RNA-polymerázy (rpb2). Specifickým problémem je ověření identity starých herbářových položek, u kterých bývá DNA často degradovaná v důsledku nevhodných metod sušení houbových plodnic a v minulosti používaného ošetřování herbářů sirouhlíkem. U položek uchovávaných v tekutinách obsahujících formaldehyd se extrakce DNA nepodařila vůbec. V případě starých položek je získání sekvencí jiných genů než ITS za pomoci běžně dostupných metod extrakce DNA a polymerázové řetězové reakce (PCR) obtížné, zvláště když hrozí riziko kontaminací DNA z čerstvého materiálu. Při zpracovávání vzorků o nízké koncentraci DNA totiž může dojít ke kontaminaci cizorodou DNA ze vzorků s její vyšší koncentrací. Kontaminace je obzvláště nepříjemná, když jde o blízké příbuzný druh organismu. Cizorodá DNA se do vzorků může dostat ve formě aerosolů, které vznikají při běžné laboratorní manipulaci. Toto riziko lze výrazně snížit dobrou laboratorní praxí, např. odděleným zpracováním starých a recentních položek, používáním zvláštní sady chemikálií a pomůcek určených pouze pro zpracování starých položek apod.

ITS oblast se nakonec ukázala pro rozlišení druhů a rutinní identifikaci tmavobělek jako poměrně spolehlivý barkód. U některých druhů podrodu *Melanoleuca* jsou však rozdíly v ITS mezi jednotlivými druhy malé, a naopak u jiných druhů na-

cházáme poměrně vysokou vnitrodruhovou molekulární diverzitu, a tak k rozhodnutí, zda jde o rozdíly vnitrodruhové nebo mezidruhové, posloužily sekvence druhého a třetího markeru (rpb2 a tef1).

Na základě morfologických studií a výsledků analýz sekvencí DNA bylo potvrzeno oprávněné členění rodu *Melanoleuca* na podrody *Melanoleuca* a *Urticocystis*. Výjimkou je druh tmavobělka žlutavá (*M. cognata*) s makrocystidami, který podle sekvencí DNA patří do podrodu *Urticocystis*, a přítomnost makrocystid je tak v rámci tohoto podrodu apomorfním znakem (tedy znakem, který se nevyskytoval u předků tmavobělky žlutavé). Výsledky našeho výzkumu prokázaly v Evropě výskyt 35 druhů. Z nich 11 zahrnuje taxonomické a nomenklatorické novinky, ať už šlo o druhy dosud nerozlišované, druhy, jejichž typová herbářová položka patřila ve skutečnosti k odlišnému taxonu, nebo druhy založené na neplatně publikovaném typu. Do podrodu *Melanoleuca* náleží v Evropě 11 druhů, z nichž 7 roste i v České republice (*M. albomarginata*, *M. bataillei*, *M. cavipes*, *M. friesii*, obr. 6 a 7, *M. pallidicutis*, *M. strictipes*, obr. 4, a *M. variabilis*, obr. 5). Do podrodu *Urticocystis* patří zbývajících 24 druhů, z nichž 14 se vyskytuje i u nás (*M. brachyspora*, *M. castaneofusca*, obr. 9, *M. cognata*, *M. excissa*, *M. graminicola*, *M. grammopodia*, obr. 1, *M. humilis*, *M. juliannae* var. *decolorans*, *M. luteolosperma*, *M. malenconii*, *M. monticola*, *M. stepposa*, obr. na 1. str. obálky, *M. tristis* a *M. verrucipes*, obr. 8). Převážná část dosud nemá česká jména. Česká jména hub jsou známa především u druhů ekonomicky nebo ochraňářsky významných nebo morfologicky





**8** Tmavobělka bradavčitá (*M. verrucipes*). Slavkovský les, mezi Kladskou a Prameny. Foto J. Borovička  
**9** Tmavobělka *M. castaneofusca*. Osek u Hořovic, Vystrkov. Foto O. Jindřich  
**10** Nominální varieta t. Julianniny. Maďarsko, Rakospalota. Foto I. Rimoczi

*cutis*) je naopak vázaná na vlhká až podmáčená stanoviště, s tmavobélkou *M. castaneofusca* (obr. 9) se setkáme na silně ovlivněných až ruderalních místech (skleníky, hřbitovy, botanické zahrady apod.) a zřejmě se může šířit se substrátem pro pěstování rostlin. Na podobných lokalitách, ale také v lesích a na jejich okrajích, roste i t. nízká (*M. humilis*). Tmavobělka pískomilná (*M. ammophila*, dříve *M. cinerifolia*) je v Evropě vázaná na písčité duny s kamýšem písečným (*Calamagrostis arenaria*, syn. *Ammophila arenaria*) ve Francii a Itálii, ale byla např. nalezena i v Indii (v Ladaku) ve výšce asi 4 000 m n. m. na alpské pastvině jaků. Některé druhy tmavobělek se vyskytují zase jen ve vysokohorských oblastech (*M. acystidiata*, *M. galbuserae*) a na území České republiky je nenajdeme. Mezi druhy naopak s nejširším rozsahem stanovišť se řadí tmavobělka světlemedová, vyskytující se jak na horských až alpských trávnících, tak v listnatých a smíšených lesích, obvykle na jejich okrajích. Rozmezí nadmořských výšek lokalit má extrémní – od 190 do 2 280 m.

Údaje o rozšíření a ekologických nárocích většiny evropských druhů tmavobělek jsou ale značně neúplné kvůli obtížnosti jejich určování. Protože nejde o houby atraktivní pro studium, většina terénních mykologů, převážně amatérů, preferuje jiné skupiny hub. Z toho vyplývá, že zájmu amatérských mykologů lze pro výzkum diverzity tmavobělek v Evropě využít pouze částečně. Lze proto jen doufat, že sekvence DNA z našeho výzkumu v kombinaci s rozvojem iniciativ vedoucích k získávání baringových dat a také projektů zabývajících se biodiverzitou organismů pomohou přispět k dalšímu poznání tohoto opomíjeného rodu lupenatých hub.

*Práce prvního autora byla financována na základě institucionální podpory dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace poskytované Ministerstvem kultury (DKRVO, MK000094862).*

Použitá literatura uvedena na webu Živý.

nápadných a důležitých pro sběr hub a popularizaci houbaření. Většina tmavobělek do těchto skupin bohužel nepatří.

Mezi nemnoho morfologicky snadno určitelných druhů patří např. tmavobělka bradavčitá (*M. verrucipes*, obr. 8) s bělavým kloboukem a výrazně tmavohnědě až černohnědě šupinatým třeněm, rostoucí na člověkem ovlivněných stanovištích, nebo dva výše zmíněné druhy tmavobělka žlutavá s krémově okrovými, okrově hnědými, oranžově okrovými nebo lososovými lupeny a vyvinutými makrocystidami i t. rýhovaná s robustními plodnicemi a výrazně vláknitě rýhovaným třeněm. Dále jde o nominální varietu t. Julianniny (*M. juliannae* var. *juliannae*, obr. 10) s tmavomodrou, šedomodrou nebo fialově šedou dužninou v bázi třeně, či t. světlemedovou (*M. stricipes*, obr. 4) s kožovitě žlutavým až téměř krémovým, pouze na středu hnědavým kloboukem a bělavým třeněm. S trochou praxe lze určit rovněž tmavobělku stepní (*M. stepposa*) se špinavě šedožlutým nebo žlutohnědým kloboukem a tmavě šedoohnědou dužninou v bázi třeně. Odlišení tmavobělek podle morfologických znaků je v případě řady druhů nemožné nebo omezené na optimálně vyvinuté plodnice. Extrémním případem je dvojice druhů tmavobělka Friesova (*M. friesii*, obr. 6 a 7) a t. Batailleova (*M. bataillei*) z podrodu *Melanoleuca*, které od sebe bezpečně odlišíme pouze sekvencemi DNA. Vznik mezidruhových genetických rozdílů a variabilita morfolo-

gických znaků zde nijak nekoreluje, což není u lupenatých hub ojedinělé. Např. u pečárek (*Agaricus*) je v současnosti doporučeno používat pro spolehlivou identifikaci některých kryptických druhů (např. *A. moelleroides* a *A. laskibarii*) pouze ITS sekvence jako vhodný barkód. Další případy kryptických, morfologicky obtížně odlišitelných, druhů stopkovýtusných hub by se daly najít např. u václavky (*Armillaria*), vláknice (*Inocybe*) nebo různých chorošů (ohňovce – *Phellinus*, troudnatce – *Fomes*). Evoluce DNA sekvencí a morfologických znaků mají zjevně odlišná evoluční omezení (evolutionary constraints), a proto nemusejí být ve vzájemné korelaci.

U rodů stopkovýtusných hub paraziticky nebo ektomykorhizně vázaných na dřeviny však lze kryptické druhy často poměrně spolehlivě odlišit podle hostitelské dřeviny nebo stanoviště, dochází zde k vertikální vikarizaci – preferenci biotopů nížinných, nebo horských poloh u jednotlivých kryptických taxonů. U tmavobělek se obdobné ekologické preference vyskytují jen u menšiny druhů. Většina evropských zástupců tohoto rodu roste, často společně (sympatricky), na obdobných stanovištích v lesích a na jejich okrajích, u cest nebo v různých trávnících a na pastvinách. K ekologicky vyhraněným patří tmavobělka stepní, popsána z jižní Moravy, která je průvodcem pastvin a xerothermních trávníků, a to i na místech silně ovlivněných člověkem. Tmavobělka bleďá (*M. pallidi-*