Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Botanika
Studijní obor: N-BOTAAL

Bc. Veronika Veselá

Něco je ve vzduchu:

Diverzita lišejníkových symbiontů v aeroplanktonu

There is something in the air:
Diversity of lichen symbionts in the aeroplankton

Diplomová práce

Školitel: doc. Mgr. Pavel Škaloud, Ph.D.
Konzultantka: Veronica Malavasi, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení

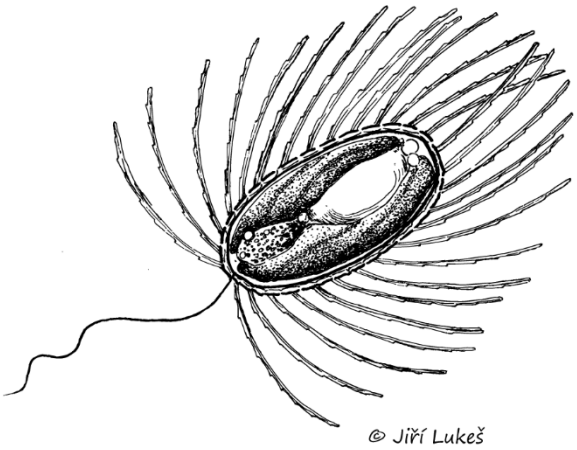
Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 10. 8. 2023

……

Veronika Veselá

Věnuji své babičce Marii Bartuškové, na kterou jsem při každých odběrech, s každým pohledem na České středohoří, s láskou vzpomínala.



Poděkování

Děkuji Pavlovi Škaloudovi za jeho neutuchající přátelskou podporu a téměř nekonečnou trpělivost, jejíž hranice jsem mnohokrát testovala, zřídkakdy však na ně narazila. Vděčná jsem mu i za možnost zpracovávat skvělé téma, prostřednictvím kterého mi dal „přičichnout“ ke skutečné vědě. Veronice Malavasi a Ivaně Černajové jsem zavázána za jejich obětavou pomoc během krušných začátků práce v laboratoři, v terénu i za počítačem a za to, že mi nikdy neváhaly poradit ani v jiných aspektech studia i života. Janu Jindrovi ze společnosti Středočeské vodárny, a.s. děkuji za zajištění přístupu k výzkumným plochám a asistenci při odběrech. Mé největší poděkování však patří všem členům, skvělým kamarádům a kolegům, našeho týmu a algologického i lichenologického oddělení. Jen díky nim byly tyto dva roky studia nádherným dobrodružstvím, na které nikdy nezapomenu.

Přestože si uvědomuji, že je to poněkud nestandardní, chtěla bych vyjádřit své díky i řasám, které mě na tuto cestu přivedly.

Anotace

Lišejníky využívající převážně sexuálního způsobu rozmnožování jsou závislé na dostupnosti jejich symbiontů v okolí. Bez kontaktu vláken klíčící spory se vhodnou symbiotickou řasou nemůže nikdy vzniknout nová lišejníková stélka. Výsledky předchozích prací však přítomnost fotobiontů na lišejníky kolonizovaných substrátech mnohdy zamítají. Cílem této práce bylo vyhodnocení různých typů prostředí (kůra, půda, kámen i umělé substráty) včetně vzduchu coby možných zdrojů symbiotických řas. Pro získání co nepodrobnějšího vhledu do diverzity zelených řas na dlouhodobě studované středočeské lokalitě byl využit Illumina MiSeq metabarcoding ITS2 rDNA regionu doplněný o klasické sekvenování řasové ITS rDNA lišejníkových stélek a morfologická pozorování. Těmito metodami se podařilo získat 1313 OTU a celkem 283 linií na úrovni druhu, z nichž mnoho patřilo k nepopsaným druhům i vyšším taxonomickým jednotkám. Všechny druhy fotobiontů asociující na lokalitě výhradně se sexuálními druhy lišejníků se podařilo nalézt i v okolí lišejníkových stélek. Substrát tak může sloužit jako zdroj symbiotických řas, stejně tak jako vzduch, ve kterém se tyto řasy rovněž vyskytovaly. Mnoho symbiontů asociujících striktně s asexuálními druhy lišejníků se naopak na lokalitě nepodařilo nikdy detekovat mimo lišejníkové stélky. Hypoteticky by někteří z nich mohli patřit k druhům s vyšší mírou závislosti na přítomnosti symbiotické houby či dokonce k obligátním symbiontům. Ve vzduchu bylo zachyceno 44 druhů patřících ke 13 popsaným rodům zelených řas. Většina readů patřila známým druhům fotobiontů. Nejpodobnější druhové složení měly vzorky získané z kůry a vzorky lišejníkových stélek, což naznačuje, že právě epifytické lišejníky jsou nejpravděpodobnějším zdrojem řasových bioaerosolů.

Klíčová slova: lišejníky, zelené řasy, Trebouxiophyceae, *Trebouxia*, diverzita, fotobiont, mykobiont, symbióza, vzduch, bioaerosol, metabarcoding

Abstract

Lichens that reproduce primarily sexually rely on the presence of their symbionts in the environment. A new lichen cannot develop without direct contact between the filaments of the germinating spore and a compatible symbiotic alga. However, the results of earlier studies do not provide solid evidence for photobiont presence on lichen-colonized substrates. The objective of this thesis was to assess various environmental types (air, bark, soil, stone, and artificial substrates) as potential sources of symbiotic algae. To achieve in-depth understanding of the diversity of green algae at a long-studied Central Bohemian study-site, Illumina MiSeq metabarcoding of the ITS2 rDNA region was combined with traditional sequencing of lichen algal ITS rDNA and morphological observations. The methods used revealed 283 species-level lineages and 1313 OTUs, many of which belonged to unknown species or higher taxonomic categories. All photobiont species associating solely with sexual lichens at the site could also be found in the vicinity of lichen thalli. As a result, both the substrates and the air, where these symbiotic algae occurred as well, may act as photobiont sources. In contrast, many symbionts that associate only with asexual lichen species, were never found at the site outside of lichen thalli. Hypothetically, some of them could belong to species that show a higher degree of dependence on the presence of symbiotic fungi or even obligate symbionts. Forty-four species belonging to 13 described genera of green algae were collected from the air. The majority of the Illumina reads came from known photobiont species. The most similar species composition was found in samples taken from lichen thalli and bark, indicating that epiphytic lichens are the most likely source of algal bioaerosols.

Keywords: lichens, green algae, Trebouxiophyceae, *Trebouxia*, diversity, photobiont, mycobiont, symbiosis, air, bioaerosol, metabarcoding

Obsah

1 Úvod 15
2 Přehled literatury 16
2.1 Symbiotický vztah 16
2.2 Rozmnožování a šíření lišejníků 17
2.2.1 Rozmnožování lišejníků 17
2.2.2 Šíření lišejníků 19
2.3 Raný vývoj lišejníků 20
2.4 Zdroje fotobiontů 22
3 Cíle práce 25
4 Metodika 26
4.1 Charakteristika studované oblasti 26
4.1.1 Výzkumné plochy 26
4.1.2 PP Vinařická hora 26
4.2 Metodika odběrů a zpracování vzorků 27
4.2.1 Vzorky vzduchu a meteorologické parametry 27
4.2.2 Kolonizace sterilizované půdy 28
4.2.3 Kruhový transekt 29
4.2.4 Ostatní substráty 30
4.3 Izolace DNA 31
4.3.1 Extrakce DNA z lišejníků 31
4.4 Sangerovo sekvenování 32
4.5 Illumina metabarcoding 33
4.6 Fylogenetické analýzy 34
4.7 Další zpracování dat 35
5 Výsledky 38
5.1 Diverzita lišejníků 38
5.2 Diverzita endosymbiotických řas 38
5.3 Diverzita řas na substrátech 40
5.4 Diverzita řas ve vzduchu 41
5.5 Srovnání diverzity substrátů a aeroplanktonu 45
5.6 Srovnání výskytu endosymbiotických řas v lišejníkových stélkách a okolí 48
5.7 Vliv meteorologických parametrů na diverzitu řas v aeroplanktonu 51
5.8 Srovnání diverzity řas v aeroplanktonu a širším okolí lokality 53

6 Diskuse 56
6.1 Celková řasová diverzita lokality 56
6.2 Na stopě zdrojům symbiotických řas 59
6.3 O původu řasových bioaerosolů 63
7 Závěr 67
8 Seznam literatury 68
9 Přílohy 92
9.1 Elektronické přílohy 115

1 Úvod

„*The black rock was sharp-edged, hot, and hard as corundum; it seemed not merely alien but impervious to life. Yet on the southern face of almost every rock the lichens grew, yellow, rusty-brown, yellow-green, like patches of dirty paint daubed on the stone*."

— Abbey 1992

Lišejníky jsou spolu s bakteriemi a řasami jedny z nejhouževnatějších organismů vůbec. Porůstají nejrůznější přírodní i umělé substráty a osidlují téměř všechna možná zákoutí naší planety: od spalujících pouští, přes arktické pustiny po mořská pobřeží i sladké vody. Jejich důmyslné morfologické i fyziologické adaptace jim umožňují nejen ovládat značnou část zemského povrchu (až 10 %; Nash 1996), ale činí z nich zároveň potenciální kolonizátory extraplanetárního prostředí (Armstrong 2017; Brandt et al. 2016; Noetzel et al. 2018) a také jedny z posledních možných obyvatel Země v případě planetární katastrofy (Stephenson 2010). Je tak možné, že lišejníky budou nejen prvními organismy, které Zemi úspěšně opustí, ale zároveň i posledními organismy, které na ni přežijí a budou svědky jejího zániku. Možná právě tato neobyčejná odolnost dělá z lišejníků tak úspěšnou životní strategii – asi polovina všech známých vřeckovýtrusných hub je lichenizovaná (Nash 1996).

Lišejníky jsou notoricky známé pro svou schopnost vytvářet a stabilizovat půdu, poskytovat potravu a úkryt mnoha živočichům i pro spolupodílení se na chodu biogeochemických cyklů – např. vody, uhlíku, dusíku, síry, nebo fosforu (Asplund & Wardle 2017). Méně známá už je např. jejich schopnost pohlcovat biogenní těkavé organické látky (např. isoprenoidy), které mohou ovlivňovat klima (Edtbauer et al. 2021). Lišejníky jsou užitečné i pro lidstvo. Produkují mj. množství unikátních chemikálií, které se využívají např. v medicíně (Huneck 1999) a neustále dochází k objevům nových látek s nečekanými vlastnostmi. Nedávno tak některé *in vitro* studie prokázaly, že lišejníkové proteázy jsou schopné degradovat nebezpečné priony – infekční proteiny (Johnson et al. 2011). Lišejníky jsou významné i pro své využití v biomonitoringu (Anderson et al. 2022).

Výčet všech důležitých a zajímavých vlastností a funkcí lišejníků by vydal na samostatnou knihu. Přesto je jim nadále věnováno jen málo pozornosti (Ahmadjian 1995). Možná právě proto stále dochází k přelomovým objevům, které nám umožňují nahlédnout do tajů jejich fungování (Spribille et al. 2016) a dá se předpokládat, že mnoho dalších záhad teprve čeká na své objasnění.

2 Přehled literatury

2.1 Symbiotický vztah

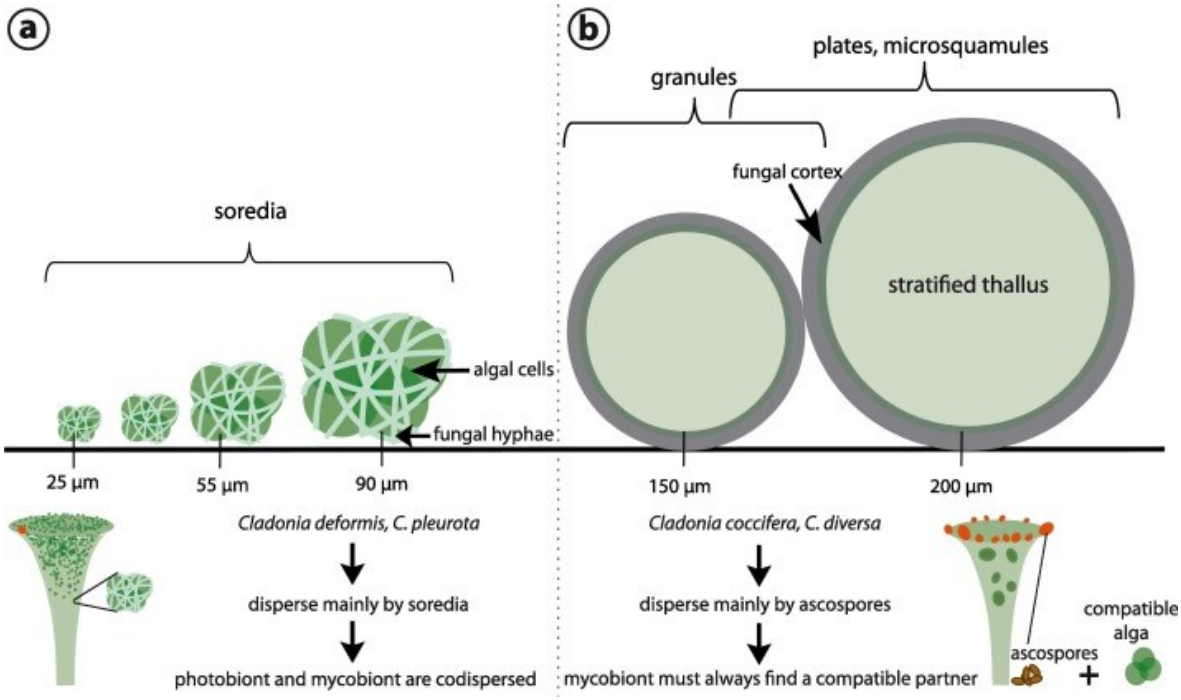
Bylo by příliš zjednodušující na lišejníky pohlížet jako na individua. Hawksworth a Grube (2020) je považují za miniaturní ekosystémy tvořené interakcemi dominantní houby, jednoho nebo více fotosyntetizujících partnerů a nedefinovaného počtu dalších mikroorganismů. Těmito mikroorganismy mohou být např. bakterie, nebo tzv. endolichenické houby (Grube et al. 2009; U'Ren et al. 2012). Jedna lišejníková stélka může běžně obsahovat množství různých genotypů (Muggia et al. 2013), druhů, a dokonce i vzdáleně příbuzných rodů fotobiontů (Moya et al. 2020; Vančurová et al. 2020). Tuto poměrně vágní definici mohou splňovat i některé asociace řas a hub, které však běžně za lišejníky nepovažujeme (Skuja 1943; Videv et al. 2017).

Soustředíme-li se pro tuto chvíli pouze na dva nejdůležitější aktéry (primární mykobiont a fotobiont), můžeme lišejník popsat jako spleť houbových hyf, které většinou objemově převažují, a buněk fotobionta, které mohou být ve stélce volně rozptýlené, anebo, častěji, tvoří na průřezu jasně diferencovanou vrstvu. Oba partneři spolu navazují velice intimní fyzický kontakt – v případě chlorolišejníků (primárním fotobiontem je zde zelená řasa) hyfy dokonce většinou prorážejí buněčnou stěnu řas pomocí haustorií. Další formou kontaktu jsou zploštělé hyfy obklopující buňky fotobionta, tzv. apresoria (Nash 1996). Tento jev vedl některé autory k názoru, že vztah obou partnerů je ve skutečnosti příkladem parazitizmu. Zatímco Schwendener, objevitel duální podstaty lišejníků, přirovnával fotobionty k nevolníkům, Ahmadjian viděl ve vztahu symbiontů analogii zemědělství – farmáře (mykobionta) pěstujícího hlávky salátu za účelem vlastní obživy (Ahmadjian 1993, 2001; Schwendener 1869). Dnes považujeme lišejníkovou asociaci spíše za příklad oboustranně prospěšného soužití (Allen & Lendemer 2022), ze kterého mykobiont získává především asimiláty – u cyanolišejníků (fotobiontem je sinice) v podobě glukózy, u chlorolišejníků v podobě polyolů (Drew & Smith 1967; Richardson, Smith & Lewis 1967). Alternativní hypotézou k „výživovému modelu" je model „anhydrobiotický", podle kterého je primární funkcí těchto polyolů ochrana mykobionta před stresy spojenými s periodickou desikací a zvlhčením, nikoli jeho výživa (Smith 1979). Fotobiont na oplátku získává ochranu před nejrůznějšími negativními vlivy prostředí – např. před predací a nadměrným zářením (Beckett et al. 2021; Černajová & Svoboda 2014).

2.2 Rozmnožování a šíření lišejníků

2.2.1 Rozmnožování lišejníků

Rozmnožování fototrofních partnerů lišejníků je většinou poměrně přímočaré. Odehrává se nejčastěji pomocí buněčného dělení, autospor, aplanospor, nebo pohyblivých zoospor, které však byly ve stélkách lišejníku zaznamenány jen zřídka (Nash 1996; Slocum, Ahmadjian & Hildreth 1980). Ještě vzácnější jsou pozorování sexuálního rozmnožování fotobiontů, které bylo do nedávna považováno za takřka nemožné (s výjimkou řádu Trentepohliales; Nash 1996). Bylo však zaznamenáno např. u rodu *Asterochloris* v kultuře (Škaloud et al. 2015). U stejného rodu byla navíc potvrzena i přítomnost genů specifických pro meiózu (Armaleo et al. 2019).



Obrázek 1: Různé reprodukční mody lišejníků na příkladu několika zástupců rodu *Cladonia.* (a) Převážně asexuální druhy šířící se pomocí symbiotických propagulí – soredií. (b) Převážně sexuální druhy produkující askospory a stratifikované výrůstky stélky (Steinová et al. 2019).

U mykobiontů je pohlavní rozmnožování přítomno téměř vždy. Většina lišejníkových hub k dokončení sexuálního cyklu však potřebuje asistenci řasového partnera (Honegger 1993). Askospory jsou nejběžnějším typem sexuálních propagulí lišejníků. Vznikají ve vřeckách, která jsou uložena v plodnicích nejrůznějších tvarů a mohou být jednobuněčné, ale i mnohobuněčné s přehrádkami. Nepohlavním ekvivalentem těchto struktur jsou konidie. K nepohlavnímu rozmnožování může docházet jak prostou fragmentací stélky, tak produkcí speciálních útvarů obsahujících oba symbionty – mezi ně patří nejčastěji soredie, mikroskopické balíčky hyf a řas, a izídie, jejichž anatomická struktura se podobá struktuře

lišejníkové stélky (Obrázek 1; Nash 1996; Steinová et al. 2019). Mnoho lišejníků kombinuje oba výše zmíněné mody reprodukce (Bowler & Rundel 1975; Dal Grande et al. 2012), jindy jeden výrazně převažuje (Cao et al. 2015; Wornik & Grube 2010). U lišejníků kombinujících sexuální i asexuální rozmnožování může docházet k potlačení životaschopnosti u jednoho typu propagulí ve srovnáním s blízce příbuznými druhy, které mají jen jeden známý způsob reprodukce (Molina et al. 2013).

Typ rozmnožovací strategie lišejníků má mnoho významných důsledků. Ovlivňuje přímo například způsob šíření fotobionta. Při nepohlavním rozmnožování cestují oba partneři v propaguli pospolu – dochází tak k tzv. vertikálním přenosu fotobionta z mateřského lišejníku na dceřinou stélku. U horizontálního přenosu musí askospora zpravidla po přistání na substrát objevit vhodného partnera ve svém okolí (Dal Grande et al. 2012). Někdy se však spory šíří společně s fotobiontem, který se uvolní z epihymeniální vrstvy plodnice (Sanders & Brisky 2022). Způsob rozmnožování (respektive přenosu fotobionta) je nejvýznamnějším prediktorem množství fotobiontů, se kterými je mykobiont schopný asociovat (specificita). Jeho efekt se ukázal dokonce být silnější než efekt typu houbového partnera (Steinová et al. 2019). Většinou platí, že vyšší specificita vůči fotobiontům je spojena s asexuálním rozmnožováním lišejníků (Cao et al. 2015; Otálora et al. 2013; Steinová et al. 2019). Wornik & Grube (2010) však tento efekt nezaznamenali. Svá pozorování si vysvětlují tím, že fotobiont v symbiotické propaguli (soredie) slouží pouze k usnadnění přežívání mykobionta a později, po dopadnutí na vhodný substrát, je nahrazen fotobiontem jiným. Asexuální rozmnožování teoreticky snižuje riziko nenalezení vhodného partnera, usnadňuje rychlé obsazení nového prostředí a umožňuje koevoluci symbiontů. Nepohlavní propagule jsou však v podstatě identické s mateřskou stélkou a genetická diverzita populace bývá snížena (Otálora et al. 2013; Wornik & Grube 2010). Tyto fenomény jsou dále spojeny s předpoklady užší ekologické niky vedoucí k omezenějšímu areálu rozšíření (Steinová et al. 2019).

Pohlavní rozmnožování je naopak spojeno s nižší specificitou mykobiontů (Cao et al. 2015; Otálora et al. 2013; Steinová et al. 2019) a navíc umožňuje lišejníku inkorporovat do své stélky lokálně adaptovaného symbionta (Werth & Sork 2014). Může být rovněž způsobem, pomocí kterého lze uniknout parazitům (Seymour, Crittenden & Dyer 2005). Rozmnožovací strategie lišejníků má vliv i na efektivitu šíření. Vzhledem ke svým menším rozměrům a efektivnějšímu oddělování od stélky jsou askospory tradičně považovány za výhodnější při šíření na dlouhou vzdálenost (Buschbom 2007; Walser 2004). Ve skutečnosti je „šířící

potenciál“ propagulí velmi variabilní a nepohlavní propagule mohou být efektivnější (Hestmark et al. 2011; Miadlikowska et al. 2011; Otálora et al. 2013; Wornik & Grube 2010).

2.2.2 Šíření lišejníků

Šíření lišejníků začíná v okamžiku osvobození propagule z mateřské stélky, ke kterému může u askospor dojít aktivním vystřelením (až do vzdálenosti 50 mm od plodnice), u jiných typů propagulí spíše díky působení vody, větru či jiného mechanického impulzu. Oddělení propagulí od stélky lišejníku mohou usnadňovat některé vyvýšené morfologické struktury (například stopkaté plodnice a podetia), které napomáhají šíření větrem, nebo miskovité útvary (apothecia, mnohá podetia), které usnadňují šíření deštěm (Nash 1996). Tvorbu a uvolňování propagulí ovlivňují i externí vlivy jako světlo, teplota, vlhkost, rychlost větru, vlastnosti substrátu, nebo míra znečištění (Pyatt 1973). Odlišné typy propagulí mohou reagovat na tyto podmínky zcela opačně. Šíření askospor se zdá být např. efektivnější ve vlhčích podmínkách, jako následek zvýšení turgoru ve vřecku (Hamlett et al. 2011). Šíření soredií se naopak daří při suchém počasí, zejména pokud mu předchází období vlhčí, při kterém se soredie kumulují na stélce (Armstrong 1991). Tato tvrzení jsou v souladu s poznatky Škvorová et al. (2022), kteří pozorovali výrazně menší zastoupení soredióznich druhů ve stabilním a vlhkém klimatu. Produkce soredií probíhá zřejmě i pod sněhem a jeho roztání může vést k rychlému uvolnění velkého množství propagulí (Marshall 1996).

Nejvýznamnějším prostředkem disperze lišejníků je pravděpodobně vzduch, který často umožňuje šíření soredií (Armstrong 1987; Marshall 1996; Tormo et al. 2001; Werth et al. 2006), případně i větších fragmentů jako izídií, anebo částí stélek (Armstrong 1987; Harmata & Olech 1991). Převládající proudění větru může mít dokonce větší význam pro floristické složení ekosystému, než geografická vzdálenost (Muñoz 2004). Šíření vzduchem je závislé zejména na pohybu vzdušných mas, turbulenci a termální konvekci. Vlastnosti transportovaných částic (velikost, tvar, hustota a typ povrchu) by měly mít relativně menší význam (Lacey & West 2006).

Zejména velikost větrem šířených propagulí je však v literatuře velmi často skloňována (Belinchón, Yahr & Ellis 2015; Norros et al. 2014; Walser 2004) a má nejspíše velmi výrazný vliv na vzdálenost, na jakou mohou být propagule odneseny. Wilkinson et al. (2012) udávají jako horní hranici mezikontinentálního šíření stanovenou pomocí modelů velikost 20 µm, nicméně vzácně mohou tyto vzdálenosti překonat i objekty do 60 µm. Tato skutečnost by významně favorizovala některé druhy sexuálních lišejníků, protože velikost jejich spor nepřevyšuje několik µm (Pyatt 1973) a i další nepřímé důkazy svědčí pro jejich schopnost překonávat dlouhé vzdálenosti téměř bez omezení (Ronnas et al. 2017). Přesto

jsou přímá pozorování askospor ve vzorcích vzduchu velmi vzácná (Favero-Longo et al. 2014; Marshall 1996). Oproti tomu soredie, které dosahují většinou velikosti v řádu desítek μm (Romeike et al. 2002), podle empirických pozorování „létají“ až několik stovek metrů (Werth et al. 2006). Někteří autoři dokonce spekulují o možnosti LDD (=long distance dispersal) u makroskopických izídií (Ohmura et al. 2006) a existují i přímé důkazy pro efektivní přenos velkých lišejníkových fragmentů větrem (Armstrong 1987; Harmata & Olech 1991). Zdá se tedy, že přímá pozorování přírodních dějů jsou v příkrém rozporu s běžnými očekáváními a statistickými modely a sex lišejníkům, pokud jde o šíření, nepřináší žádnou výhodu. Je však nutno podotknout, že raritní pozorování pohlavních spor lišejníků ve vzduchu může být zapříčiněno nemožností tyto propagule morfologicky odlišit od nelichenizovaných askomycet, a to ani při použití kultivace (Favero-Longo et al. 2014). Uspokojivé řešení tohoto problému tak může přinést jen kombinace pečlivých morfologických pozorování a molekulárních přístupů nezávislých na kultivaci.

Dalším známým vektorem lišejníků je voda, která snadno transportuje menší i větší fragmenty stélky (Armstrong 1981). Dále ptáci, kteří mohou přenášet lišejníky na svých končetinách (Bailey & James 1979), peří (Johansson, Kaasalainen & Rikkinen 2021) anebo v zobáku během stavby svých hnízd (Graves & dal Forno 2018). Na disperzi lišejníků se podílejí i bezobratlí, kteří je využívají jako kamufláž (Henderson & Hackett 1986), nebo potravu (McCarthy & Healy 1978; Stubbs 1995). Vzdálenosti překonávané pomocí těchto vektorů se však zdají být velmi malé, téměř zanedbatelné (Stubbs 1995).

Šíření fotobiontů, kterému byla doposud věnována snad ještě menší pozornost, se pravděpodobně nejčastěji uskutečňuje pomocí symbiotických propagulí (Romeike et al. 2002) a využívá všechny již zmíněné vektory (Armstrong 1981; Johansson et al. 2021; Marshall 1996; Stubbs 1995). Fotobionti se v přírodě přirozeně vyskytují i ve volně žijícím stavu (Barberousse et al. 2006; Rindi & Guiry 2003; Suutari et al. 2010; Tschermak-Woess 1978) a byli nalezeni například ve vzorcích vzduchu (Genitsaris, Moustaka-Gouni & Kormas 2011; North & Davis 1988; Parrando & Davis 1972; Singh, Wade & Sherwood 2018). Bez přímých morfologických pozorování (bez kultivace) však nelze s jistotou říci, zda byly tyto řasy skutečně ve volně žijícím stavu. Nelze opomenout ani možnost aktivního šíření fotobiontů pomocí bičíkatých zoospor (Slocum et al. 1980).

2.3 Raný vývoj lišejníků

Vznik nové lišejníkové stélky není podmíněn jen efektivním šířením propagulí, ale i jejich úspěšným uchycením na nové lokalitě (Werth et al. 2006). Na uchycení mají vliv jak

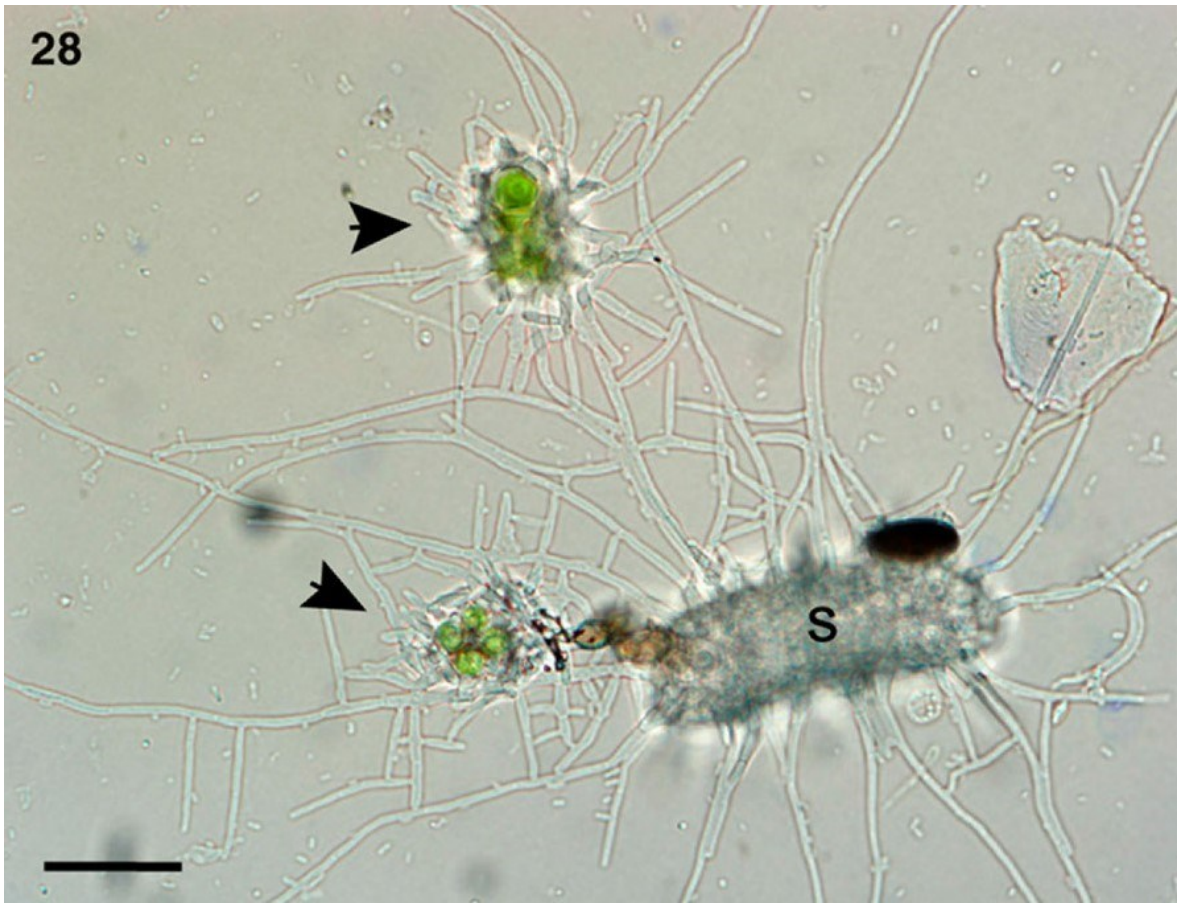
abiotické podmínky stanoviště – např. typ a mikrotopografie substrátu (Armstrong 1981, 1990; Roturier et al. 2007) nebo disturbance způsobená požárem (Miller, Root & Safford 2018), tak biotické faktory, mezi které patří dostupnost fotobiontů (Hedenås, Blomberg & Ericson 2007; Werth 2011), množství vyprodukovaných propagulí (Gravel, Beaudet & Messier 2008), nebo kompetice s jinými lišejníky (Armstrong 1986).

Pokud jsou podmínky na novém stanovišti příhodné, může propagule začít růst. V případě vegetativních úlomků dochází napřed k „rozpuštění" (dediferenciaci) jejich původní struktury (Schuster 1985). Někdy se však úlomek vyvine přímo v novou stélku (Sanders 2002). Následuje „arachnoidní stadium", během kterého dochází k nezávislému růstu obou symbiontů, a to téměř bez jakýchkoli interakcí. Nediferencovaná masa buněk fotobionta a hyf („sorediózní pole"), ve které partneři opět navazují kontakt, je následována primordiálním stadiem, které se postupně stratifikuje na novou stélku (Černajová & Škaloud 2020).

U askospor (u konídií je vývoj obdobný), které se většinou šíří aposymbioticky (Sanders & Brisky 2022), je situace poněkud komplikovanější a riskantnější. Po dopadnutí na substrát, během procesu lichenizace, musí spora nalézt, rozpoznat a kontaktovat kompatibilního symbiotického partnera ve svém nejbližším okolí (Galun 1988). V první fázi „prekontaktu" se partneři ještě fyzicky nedotýkají, ale již si začínají vyměňovat informace pomocí chemické signalizace, jejíž podstata dosud nebyla objasněna. Zdá se však, že významnou roli (alespoň u lišejníků s trebouxioidní řasou) by zde mohl hrát ribitol (Meeßen & Ott 2013). Následuje fáze kontaktu partnerů, obalení buněk fotobionta hyfami, formace nediferencované prvotní stélky („pre-thallus") a stratifikace ve zralou stélku (Athukorala, Huebner & Piercey-Normore 2014; Galun 1988; Meeßen & Ott 2013). Prekontaktní fáze vede k fyziologickým a morfologickým změnám u obou symbiontů. Mykobiont zrychlí svůj růst a hyfy se uspořádají v „radiální formaci". U fotobionta byla pozorována zvýšená produkce slizu, která pokračuje až do dalších fází rané lichenizace a je charakteristická pro specifické rozpoznání symbiontů (Meeßen & Ott 2013). I samotný kontakt je morfologicky specifický – hyfy mykobionta se bohatě větví, zkracuje se jejich délka a tvoří se apresoria. Při interakcích s inkompatibilními řasami k této odpovědi nedochází (Athukorala et al. 2014).

Další fáze již takto specifická není – mykobiont je schopen obalit hyfami jakýkoli objekt podobného tvaru a velikosti, jaký má jeho cílová řasa (nebo sinice). Může takto reagovat na inkompatibilní druhy řasy, ale i na skleněné kuličky (Joneson & Lutzoni 2009). Počáteční stadia vývoje lišejníků byla podrobně zkoumána jak v řadě kultivačních studií (Ahmadjian

& Jacobs 1981; Athukorala et al. 2014; Joneson & Lutzoni 2009; Meeßen & Ott 2013), tak přímo v přírodě pomocí elegantní série pokusů provedených na plastových krycích sklíčkách (Obrázek 2; Sanders 2001, 2005, 2014; Sanders & Lücking 2002).



Obrázek 2: Klíčící askospora (S) obtáčí hyfami dělící se klastry řasových buněk (černé šipky). Měřítko 25 µm (Sanders 2014).

Některé lišejníky jsou v počátečních stádiích života velmi nespecifické a dokáží parazitovat jiné řasy, lišejníky, mechy, nebo dokonce semenné rostliny (Ahmadjian & Jacobs 1981; Gaßmann & Ott 2000). Výběr fotosyntetického partnera v pozdějších stádiích vývoje se však řídí určitými pravidly (Škvorová et al. 2022). Často používaný termín specificita označuje taxonomické rozpětí kompatibilních symbiontů. Selektivita znamená situaci, kdy symbionti upřednostňují interakci s jednou skupinou organismů (Bubrick, Frensdorff & Galun 1985; Yahr, Vilgalys & Depriest 2004). Na výběr partnerů má vliv reprodukční styl lišejníků, identita mykobionta, vlastnosti substrátu a klimatické a geografické faktory (Škvorová et al. 2022; Steinová et al. 2019; Vančurová et al. 2021).

2.4 Zdroje fotobiontů

Dostupnost fotobiontů na lokalitě je neodmyslitelným předpokladem úspěšné lichenizace a může významně ovlivňovat distribuci sexuálních druhů lišejníků (Nash 1996; Werth 2011).

Mykobiont má v zásadě jen několik možných strategií, kterými může tuto podmínku naplnit: „ukrást“ fotobionty lišejníkům stejného, nebo jiného druhu (Hestmark, Lutzoni & Miadlikowska 2016), získat je od jiných organismů (Cornejo & Scheidegger 2016; Fernández-Martínez et al. 2013), nebo z volně žijící populace řas (Hedenås et al. 2007). Pokud se mu toto z nějakého důvodu nepodaří, může na kompatibilního partnera „čekat“ ve volně žijícím stavu (Etges & Ott 2001), nebo parazitovat jiné autotrofní organismy (Gaßmann & Ott 2000). Problematika dostupnosti fotobiontů se dost možná týká i vegetativně se množících druhů. Rostoucí propagule totiž hypoteticky může svého původního fotobionta odmítnout a vyměnit ho za jinou, lokálně dostupnou řasu (Ohmura et al. 2006). Lišejník zřejmě může do své stélky přidávat další fotobionty i během pozdějších stádií života (Sanders 2014).

Společenstva lišejníků vyskytujících se na menším, víceméně homogenním území, sdílí většinou jen několik genotypů fotobiontů (Bačkor et al. 2010; Dal Grande et al. 2014; Doering & Piercey-Normore 2009). Protože na fotobionty můžeme pohlížet jako na energetický zdroj mykobiontů (Allen & Lendemer 2022), lze takto propojené lišejníkové komunity označit za guildy (Rikkinen 2003). Mezi členy těchto seskupení může docházet k nejrůznějším interakcím. Rikkinen (2003) vypracoval „core-fringe species“ teorii, podle které asexuální lišejníky a jejich propagule („core species“) slouží jako zdroj fotobiontů pro pohlavně se množící druhy („fringe species“) a mohou jim tak usnadňovat přežívání i kolonizaci nových stanovišť. Z tohoto soužití může profitovat i fotobiont – pokud je na jedné lokalitě přítomen ve stélkách několika různých, nepříbuzných druhů, může být lépe chráněn před predátory a parazity (Rikkinen 2003). Tato teorie nachází nepřímou oporu jak ve studiích zabývajících se cyanolišejníky (Belinchón et al. 2015; Rikkinen, Oksanen & Lohtander 2002), tak chlorolišejníky (Dal Grande et al. 2014; Yahr et al. 2004). Belinchón et al. (2015) například prokázali, že sexuální druh (*Nephroma laevigatum*) kolonizuje se statisticky větší pravděpodobností stromy, které už byly obsazeny asexuálním druhem obsahujícím kompatibilního symbionta (*N. parile*).

Přímé experimentální důkazy vzájemného „vykrádání“ lišejníků však většinou chybí (Hestmark et al. 2016). Peksa et al. (2022) navíc ve své studii poukázali na to, že zásobníky (pools) fotobiontů sexuálních a asexuálních druhů se nemusí překrývat a facilitace ze strany core species tak zákonitě nemůže fungovat. Core-fringe species teorie také nedokáže vysvětlit existenci pionýrských seskupení tvořených pouze sexuálními druhy, které jsou zcela izolované od core species populací i přísunu jejich symbiotických propagulí. V těchto

případech jsou zjevně jediným možným zdrojem fotobiontů jejich volně žijící populace (Beck, Friedl & Rambold 1998; Peksa et al. 2022).

Dlouhou dobu se zdálo, že lišejníkové řasy (zejména zástupci řádu Trebouxiales) nejsou v přírodě schopné vytvářet samostatné, dlouhodobě přetrvávající populace (Ahmadjian 1967, 1988, 2001). V článcích zaměřených na diverzitu volně žijících řas se s nimi však můžeme setkat poměrně často a někdy dokonce tvoří dominanty řasových společenstev (Veselá, Malavasi & Škaloud 2023). Jejich významná role v kortikolních řasových komunitách byla odhalena i pomocí environmentálního sekvenování (Dreyling, Schmitt & Dal Grande 2022). Jen velmi malé množství studií si však kladlo otázku, zda tyto volně žijící populace skutečně mohou sloužit jako zdroje fotobiontů. Většina z nich navíc zabývala pouze cyanolišejníky (Cardós et al. 2019; Hedenås & Ericson 2004; Oksanen et al. 2002; Rikkinen et al. 2002; Vančurová et al. 2020; Zúñiga et al. 2017). Výsledky těchto studií jsou však rozporuplné. Některé z nich odhalily jistý překryv diverzity volně žijících fotobiontů a fotobiontů z lišejníkových stélek (Rikkinen et al. 2002; Zúñiga et al. 2017). Jinde se tento překryv omezoval jen na některé lokality nebo genotypy fotobiontů (Cardós et al. 2019; Vančurová et al. 2020), anebo nebyl vůbec detekován (Oksanen et al. 2002).

Absenci, nebo raritu fotobiontů v okolí lišejníkových stélek si můžeme vysvětlit nedostatečným vzorkováním (Spribille 2019), anebo neochotou fotobiontů růst na kultivačním mediu způsobenou jejich nízkou konkurenceschopností nebo speciálními požadavky na výživu (Ahmadjian 2001; Elshobary et al. 2015). Vančurová et al. (2020) však využili moderních metod enviromentálního sekvenování (Illumina metabarcoding), a přesto byl pozorovaný překryv v diverzitě fotobiontů ze stélek lišejníků (*Stereocaulon*) a okolní půdy minimální.

Výše zmíněné publikace zkoumaly diverzitu fotobiontů v půdě, na skalách i na kůře stromů. Prostředím, které se ještě nikdo nepokoušel otestovat jako možný zdroj fotobiontů, je vzduch. Přítomnost lišejníkových řas ve vzduchu – ať už ve formě propagulí, nebo ve volně žijícím stavu – byla prokázána v řadě studií (Armstrong 1987; Genitsaris et al. 2011; Harmata & Olech 1991; Marshall 1996; Mikhailyuk, Demchenko & Kondratyuk 2003; North & Davis 1988). Mohou ale tyto organismy přežít transport vzduchem a vydržet v novém substrátu dostatečně dlouho pro to, aby mohly být inkorporovány do lišejníkové stélky?

3 Cíle práce

Srovnáváním diverzity volně žijících a symbiotických řas na vybrané dlouhodobě studované lokalitě se pokouším nalézt odpovědi na následující otázky:

1) Jaká je diverzita zelených řas ve vzduchu a na přírodních substrátech (kůra, půda, kámen)?
2) Odkud mohou lišejníky získávat své symbionty?
   a) Využívají řasy z volně žijících populací vyskytujících se na stejném typu substrátu?
   b) Jakou roli hrají v tomto procesu vzduchem přenášené řasy?
   c) Existují nějaké rozdíly mezi sexuálními a asexuálními druhy?
3) Jaký je ve vzduchu podíl řas pocházejících ze vzdálených zdrojů?
4) Podílejí se vzduchem přenášené řasy na kolonizaci půdy?

4 Metodika

4.1 Charakteristika studované oblasti

4.1.1 Výzkumné plochy

Veškerý studovaný materiál pochází z jediné dlouhodobě studované lokality (2020 – současnost) nacházející se na území PP Vinařická hora necelý jeden kilometr severně od obce Vinařice v okrese Kladno. Zkoumaná oblast je tvořena dvěma výzkumnými plochami (VIN1 a VIN2) o velikosti cca. 10 × 10 metrů, které od sebe vzdušnou čarou dělí vzdálenost přibližně 300 metrů. Sublokalita VIN1 (50.1816400N, 14.0874100E) je jižně exponovaná skalka stepního charakteru obklopená řídkou vegetací. Plocha VIN2 (50.1820514N, 14.0913903E) se nachází na oploceném území patřícím společnosti Středočeské vodárny, a.s., uměle vyvýšeném nad okolní terén. V bezprostředním blízkosti této plochy se nachází křoviny přecházející na jižní straně v listnatý les a na severní straně v intenzivně obdělávanou zemědělskou krajinu.

4.1.2 PP Vinařická hora

Dominantu přírodní památky o rozloze 68,46 ha rozprostírající se mezi obcemi Vinařice a Třebichovice nad údolím Knovízského potoka tvoří Vinařická hora. Její hlavní vrchol, ze západní strany ohraničený nečinným lomem, dosahuje výšky 413 m. n. m. Další drobné lomy se nachází v severní části lokality. Těžba nefelinitů (=tmavá jemnozrnná vyvřelá hornina) zde probíhala do osmdesátých let 20. století. Jedním z hlavních předmětů ochrany přírodní památky vyhlášené v roce 1999 je samotná Vinařická hora, která byla dlouho považovaná za pozůstatek třetihorního stratovulkánu (Štefánek 2006). Dnes se však ukazuje, že vznikla patrně propojením dvou monogenetických vulkánů – vulkánů vzniklých jediným výbuchem (Rapprich, 2011).

Lokalita je nesmírně cenná z geologického hlediska. Představuje ostrůvek vulkanického původu, který, nepočítáme-li nedalekou Slánskou horu, je zcela izolován od nejbližších podobných vulkanických těles, jako jsou Doupovské hory, České středohoří a Lužické hory (Peters, Husson & Czaplewski 2018; Rapprich 2011). Geomorfologicky oblast spadá do Pražské plošiny a její podklad je tvořen pestrou mozaikou usazených hornin různého stáří (pískovce, jílovce, opuky, spraše) a vulkanity (nefelinit, bazaltiody) třetihorního původu (Anon 2023). Z fytogeografického hlediska území patří do Českého termofytika, do okresu Středočeské tabule. Klima v této oblasti je velmi suché (500 mm srážek za rok) a mírně teplé (průměrně 7–8,5 °C). Většinu současné vegetace tvoří expandující neprostupné křoviny

(trnka obecná, dřín obecný, svída krvavá, různé druhy růží a hlohů…) a sekundární lesy (duby, lípy a habry). Druhově bohaté suché trávníky s dominancí úzkolistých trsnatých travin byly vytlačeny do vrcholových partií hory a jejích jižních svahů. Pestrost přírodních podmínek tohoto území je reflektována přítomností mnoha vzácných druhů rostlin i zvířat (Štefánek 2006).

4.2 Metodika odběrů a zpracování vzorků

Pro zodpovězení otázek specifikovaných výše byl proveden intenzivní průzkum celkové diverzity terestrických zelených řas na zvolené lokalitě, a to jak přímo ve stélkách lišejníků a v jejich bezprostředním okolí, tak i v širším okolí lokality. Použity byly dva hlavní přístupy – klasické (Sangerovo) sekvenování a metabarcoding. Metabarcoding je poměrně moderní NGS metoda (= next generation sequencing), která umožňuje postihnout celkovou diverzitu téměř jakéhokoli environmentálního vzorku (Ruppert, Kline & Rahman 2019) a dá se dobře využít i tam, kde selhávají kultivační techniky (Tong et al. 2017). V této práci byl proto metabarcoding využit pro charakterizaci substrátů v blízkosti lišejníkových stélek, vzduchu a identifikaci možných zdrojů vzduchem přenášených řas. Sangerovo sekvenování jednotlivých lišejníkových stélek naopak umožnilo propojit informace o genetické diverzitě endosymbiotických řas s informací o jejich původu (druhu mykobionta, způsobu jeho rozmnožování…) při zachování relativně nízké ceny za jeden vzorek. Další výhodou klasického sekvenování může být fakt, že pomocí této metody získáme pouze informaci o dominantní řase v lišejníkové stélce (Paul et al. 2018). Oproti tomu NGS metody přináší informace i o minoritních řasách, jejichž funkce v lišejníkové stélce je nejasná (Chrismas et al. 2021; Moya et al. 2020), nebo dokonce o nežádoucích kontaminacích z vnějšku (Dal Grande et al. 2018).

4.2.1 Vzorky vzduchu a meteorologické parametry

Na plochu VIN2 byl v listopadu 2021 umístěn nízkoobjemový vzorkovač vzduchu MicroVol-1100 do výšky asi 2,5 m nad zemí. Přístroj zároveň zaznamenával informace o množství přefiltrovaného vzduchu a směru a rychlosti větru (od února 2022) v pětiminutových intervalech. Data byla uchovávána počítačem Congrego (Acoem) vybaveným softwarem Congrego v. 1.2.7156. Teflonové PM2.5 filtry (Whatman PTFE PM2.5 Air Monitoring Membrane Filter) byly odebírány každý měsíc (nebo 14 dní během období optimalizace délky expozice filtru) po dobu jednoho roku pomocí sterilních nástrojů. Filtrování vzduchu zpočátku probíhalo jednu hodinu denně. Doba filtrování byla postupně navyšována až na hodnotu 10 h/den, při které bylo dosahováno vizuálně uspokojivých

výsledků (filtry byly viditelně tmavé, šedo-černé). V laboratoři byly filtry sterilně přestřiženy na dvě poloviny. Jedna polovina byla uložena do mrazáku a uchovávána při −20 °C pro následnou analýzu pomocí Illumina metabarcoding. Druhá polovina byla vložena do 50 ml zkumavky a až po okraj zalita sterilní destilovanou vodou (Direct-Q 3 UV). Zkumavka byla dobře uzavřena a vložena na několik hodin do ultrazvukové lázně Tesla UC 405 PJ 1. Do lázně bylo dodáváno dostatečné množství ledu, aby se zabránilo přehřívání. Bezprostředně po sonikaci byl celý objem vzorku stočen na centrifuze (10 min, 6000 rpm). Spodní fáze byla pozorována pod mikroskopem Leica DM2000.

Další meteorologické parametry (průměrná denní relativní vlhkost vzduchu a denní úhrn srážek) měřené v nedaleké obci Lány (okres Kladno) byly získány z webových stránek Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMÚ 2022).

4.2.2 Kolonizace sterilizované půdy

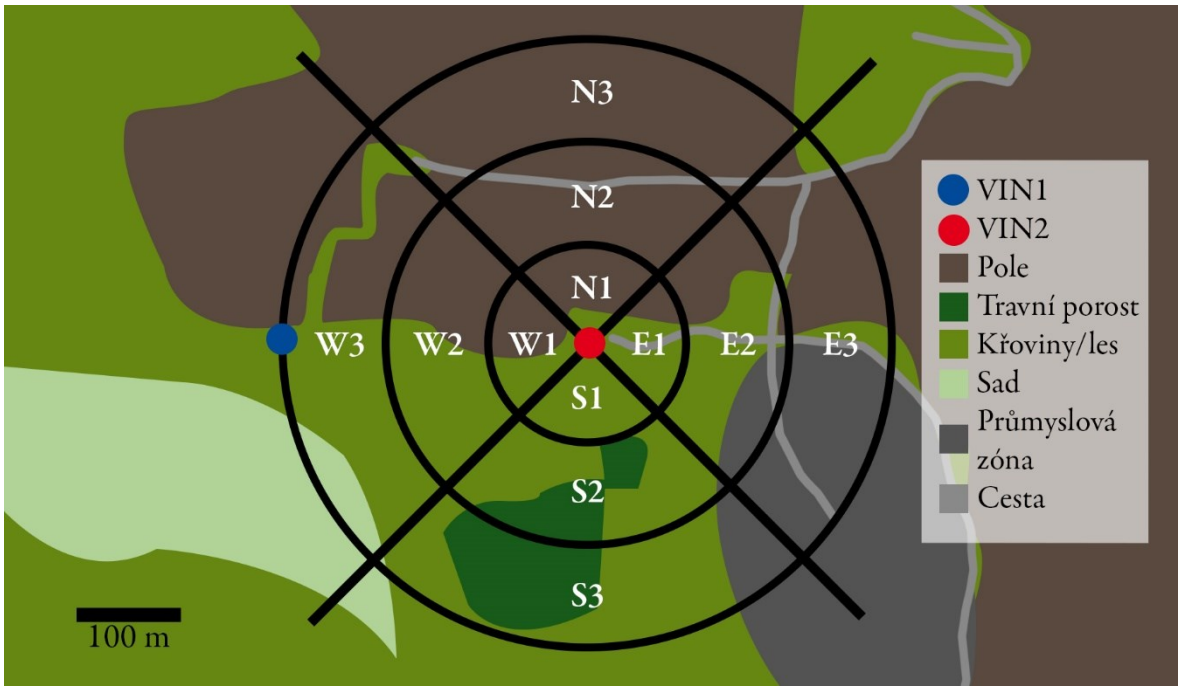
V lednu 2022 byl z plochy VIN2 odebrán blok půdy o velikosti 30 × 30 × 5 cm a hmotnosti (v suchém stavu) 3,6 kg. Půda byla rozmělněna, vysušena, zbavena drnu a organických zbytků a sterilizována pomocí autoklávu. Během následujícího měsíce byla sterilizovaná půda navrácena přesně na místo odběru a urovnána sterilní lžící. Na takto upravenou půdu byly položeny dva plastové rámečky, na něž bylo izolepou nalepeno po 12 plastových krycích sklíčkách určených pro mikroskopii. Ploška byla viditelně označena dřevěnými kolíky a ponechána přirozenému vývoji. Po šesti měsících (a poté v intervalech tří měsíců) byly z 10 náhodně vybraných míst na povrchu plošky (max. 0,5 cm) odebrány vzorky půdy a čtyři krycí sklíčka.

Půda byla v laboratoři umístěna do Petriho misky, zakryta ubrouskem a přes noc vysušena. Následující den byla rozmělněna pomocí sterilního hmoždíře a tloučku, přesáta, homogenizována a rozdělena do 2ml Eppendorf zkumavek. Dvě zkumavky byly uloženy do mrazáku pro Illumina metabarcoding.

Odebraná krycí sklíčka byla z jedné strany očištěna buničinou a prohlédnuta a nafocena pod mikroskopem (Leica DM2000 a Olympus BX51 s digitální kamerou Canon EOS 700D). Poté byla sklíčka rozstříhána sterilizovanými nůžkami, přenesena do 2ml Eppendorf zkumavky a zmražena pro Illumina metabarcoding. Z první sady odebraných sklíček byly získány jenom fotografie z důvodu nedostatku pozorované biomasy řas.

4.2.3 Kruhový transekt

Okolo lokality VIN2 byl za účelem získání co nejúplnější představy o celkové řasové diverzitě v blízkém i vzdálenějším okolí vytyčen kruhový transekt. Okolí vzorkovače vzduchu bylo rozděleno pomocí tří kružnic (o poloměrech 100, 200 a 300 m) a dvou na sebe kolmých čar na dvanáct segmentů označených podle jejich orientace (sever: N, jih: S, východ: E západ: W) a vzdálenosti od vzorkovače vzduchu (1 – nejbližší, 3 – nejvzdálenější; Obrázek 3).



Obrázek 3: Kruhový transekt, různé typy vegetace v jednotlivých segmentech (kódy segmentů bíle) a umístění výzkumných ploch VIN1 a VIN2.

V takto vytyčeném transektu byl v květnu 2022 sesbírán z každého segmentu jeden směsný vzorek malých kousků lišejníkových stélek (pinzetou, přímo do zkumavek) a jeden směsný substrátový vzorek seškrábaný ze všech možných typů podkladu nalezených v daném segmentu (sterilní lžičkou do zkumavky). Typy substrátů zahrnovaly půdu, kamení, kůru a nejrůznějších umělé materiály (asfalt, molitan, beton, plast, železo…). V každém segmentu proběhl odběr substrátu z cca z 20 náhodně vybraných mikroplošek. Každá mikroploška byla vizuálně zkontrolována a v případě přítomnosti lišejníků byla z odběru vynechána. Orientace v segmentech v terénu byla zajištěna pomocí mapy transektu vytvořené v Google My Maps (Google, Googleplex, USA) a mobilního telefonu s GPS. Vzorky byly přes noc zakryty ubrouskem, vysušeny na vzduchu a uloženy do −20 °C. Substrátové vzorky byly předem homogenizovány. K analýze všech vzorků byl použit Illumina metabarcoding pro maximalizaci zachycené řasové diverzity v okolí vzorkovače vzduchu.

4.2.4 Ostatní substráty

Kromě výše uvedeného byly na obou sublokalitách pravidelně odebírány i vzorky půdy a kamenů (4x ročně, 2020–2022; Tabulka 1). Tyto vzorky byly odebírány za účelem práce na jiném projektu. Odebráno bylo vždy několik mikroplošek do jedné zkumavky pomocí sterilní lžičky. V laboratoři byly vzorky přes noc vysušeny a homogenizovány (stejným způsobem jako v kapitole 4.2.2) a uchovány v −20 °C pro Illumina metabarcoding.

Tabulka 1: Přehled vzorků využitých v této práci. Hvězdičkou jsou označena data pocházející z jiných projektů.

Metabarcoding				
Vzorky	**Počet vzorků**	**Interval odběru (měsíce)**	**Období sběru**	**Lokalita**
Vzduch	15	1 (0,5)	11/2020–12/2022	VIN2
Povrch kůry	2	jednorázový	11/2022	těsné okolí VIN1+VIN2
Epifytické lišejníky	2	jednorázový	11/2022	těsné okolí VIN1+VIN2
*Půda	12	3	11/2020–02/2022	VIN1+VIN2
*Kameny	10	3	11/2020–02/2022	VIN1+VIN2
Sterilizovaná půda	2	3	08/2022–11/2022	VIN2
Krycí sklíčka	2	jednorázový	11/2022	VIN2
Transekt substráty	12	jednorázový	11/2022	0–300 m okolo VIN2
Transekt lišejníky	12	jednorázový	11/2022	0–300 m okolo VIN2
Sangerovo sekvenování				
Vzorky	**Počet vzorků**	**Interval odběru (měsíce)**	**Období sběru**	**Lokalita**
Epifytické lišejníky	52	jednorázový	11/2022	těsné okolí VIN1+VIN2
*Saxikolní lišejníky	47	jednorázový	11/2020	VIN1+VIN2
*Terikolní lišejníky	3	jednorázový	11/2020	VIN1

Půda na lokalitě byla poměrně kyselá (pH = 5,48). Pro měření pH bylo použito 10 g sesbíraných z devíti různých míst sublokality VIN1. Materiál byl napřed namočen ve 100 ml destilované vody po dobu 24 hodin, poté bylo změřeno pH pomocí pH-metru Cyberscan pH11 (Eutech Instruments, USA) se standardní skleněnou elektrodou.

V listopadu 2022 byl dodatečně proveden i jednorázový odběr epifytických lišejníků (jeden směsný vzorek pro metabarcoding na sublokalitu) a 52 samostatných položek (cca 26 na sublokaliu) pro Sangerovo sekvenování) a kortikolních řasových společenstev ze stromů a keřů v nejbližším okolí (cca do 10 m) výzkumných ploch VIN1 a VIN2. Vzorky byly připraveny pro metabarcoding způsobem uvedeným výše. V práci byla použita i data Zuzany Škvorové získaná při práci na jiném projektu. Jednalo se o sekvence získané z 50 položek

převážně saxikolních a několika terikolních lišejníků z obou sublokalit (Tab. 2). Lišejníky byly determinovány pomocí morfologických znaků. Čeleď a převažující způsob rozmnožování byly doplněny podle databáze ITALIC 7.0 (Martellos, Conti & Nimis 2023) či podle znaků na položkách (u dvou položek *Ramalina* sp. jakékoli znaky chyběly).

4.3 Izolace DNA

4.3.1 Extrakce DNA z lišejníků

Extrakce DNA z lišejníků (několik mm velkých kousků suchých stélek předem připravených do 2 ml zkumavek) sledovala protokol CTAB (Cubero & Crespo 2002) s drobnými odchylkami:

1. Stélky byly rozdrceny pomocí 1–2 wolfram-karbidových kuliček v mlýnku Retsch MM400 (3 min při 27 000 – 30 000 rpm).
2. K rozdrcenému materiálu bylo přidáno 700 µl extrakčního pufru CTAB (cetytrimethylamoniumbromid) a několik mg prášku PVP (polyvinylpyrrolidon) sloužícího k odstranění sekundárních metabolitů.
3. Vzorky byly inkubovány na termobloku při 60 °C a 1 200 rpm po dobu 30 min.
4. V digestoři bylo do každé zkumavky přidáno 500 µl roztoku chloroformu:isoamylalkoholu (v poměru 24:1). Zkumavky byly protřepány a ponechány 5 min v klidu. Po odstátí byly vzorky centrifugovány 6 min při 13 200 rpm.
5. Průhledný supernatant (s DNA) byl přesunut do předpřipravených 1,5ml zkumavek obsahujících 500 µl vychlazeného izopropanolu (skladovaného při −20 °C). Obsah zkumavek byl opět protřepán a ponechán minimálně 30 min v −20 °C.
6. Po uplynutí této doby byly vzorky opět centrifugovány (3 min, 13 200 rpm). Supernatant byl opatrně (aby se zamezilo znehodnocení peletu s DNA) odlit do odpadu.
7. Do zkumavek bylo přidáno 400 µl vychlazeného 96% ethanolu. Poté byly vzorky inkubovány na termobloku (15 min, 37 °C a 1 200 rpm). Následně byly opět centrifugovány (3 min, 13 200 rpm).
8. Supernatant byl vylit do odpadní nádoby a pelet promyt 200 µl vychlazeného 70% ethanolu. Zkumavky byly ponechány cca 5 min v klidu a poté opět centrifugovány (3 min, 13 200 rpm).

9. Supernatant byl pečlivě odstraněn (vylit do odpadu a zkumavky byly otočeny dnem vzhůru na ubrousku). Další dosušení vzorků proběhlo na termobloku (6–10 min při 60 °C).
10. Suchý pelet byl rozpuštěn v 50/100 µl TE pufru (podle velikosti) a ponechán přes noc při laboratorní teplotě. Nakonec byly vzorky důkladně promíchány na vortexu a v případě nutnosti dále rozpouštěny na termobloku (15 min, 50 °C). DNA byla uchovávána v mrazáku při −20 °C.

4.4 Sangerovo sekvenování

Zvolený molekulární marker – nekódující úsek ITS1-5,8S-ITS2 ribosomální DNA – byl amplifikován pomocí kombinace jednoho z primerů specifických pro zelené řasy, nr-SSU-1780, nebo GreenF3, a univerzálního primeru ITS4. Pro vzorky s mikroskopickým množstvím materiálu byly použity dvě po sobě následující polymerázové řetězové reakce (nested PCR) pro zvýšení specificity. V takovém případě první set primerů obsahoval kombinaci GreenF3–ITS4 a druhý set nr-SSU-1780–ITS4.

Tabulka 2: Použité primery. F = forward primer, R = reverse primer.

Název	Sekvence	Specificita	Orientace	Zdroj
nr-SSU-1780	CTGCGGAAGGATCATTGATTC	Chlorophyta	F	(Piercey-Normore & DePriest 2001)
GreenF3	AAACTTACCAGGTCCAGACA	Chlorophyta	F	(Jadrná 2017)
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	univerzální	R	(White et al. 1990)

PCR reakce probíhaly v objemu 10 µl ve směsi s následující reaktanty:

- 6,7 µl vody (Milli-Q ddH_2O)
- 2,0 µl pufru 5x MyTaq™ Reaction Buffer Red (Bioline)
- 0,1 µl 25 pM/mL forward primeru
- 0,1 µl 25 pM/mL reverse primeru
- 0,1 µl MyTaq™ HS DNA polymerázy (Bioline)
- 1,0 µl DNA (koncentrace nespecifikována)

Reakce probíhaly v termocykleru PCR Mastercycler pro (Eppendorf) při následujícím nastavení: iniciační fáze (94 °C, 5 minut), 35 cyklů: denaturace (94 °C, 25 s), nasedání primerů (50 °C, 30 s), elongace (72 °C, 1 min.). Závěrečná elongace (72 °C, 7 min). Při použití nested PCR probíhala první reakce ve 35 a druhá ve 22 cyklech.

Přítomnost a kvalita PCR produktů byla ověřena elektroforézou. Jeden µl každého vzorku byl nanesen na 1% TAE agarózový gel s ethidiumbromidem. Délka fragmentů byla porovnána s žebříčkem Thermo Scientific™ GeneRuler 100 bp DNA Ladder. PCR produkty byly přečištěny pomocí paramagnetických kuliček SPRI AMPure XP (Beckman Coulter) podle návodu výrobce. Vzorky byly odeslány do firmy Macrogen Europe (Meibergdreef 39, 1105AZ Amsterdam, Nizozemsko). K sekvenaci byl využit univerzální primer ITS4, nebo i druhý z dvojice použité pro amplifikaci. Kvalita jednotlivých sekvencí byla zkontrolována v programu SeqAssem ver. 09/2004 (Hepperle 2004).

4.5 Illumina metabarcoding

K izolaci DNA pro metabarcoding byla podle pokynů výrobce použita sada Fast DNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals). Amplifikace úseku ITS2 rDNA proběhla pomocí nested PCR. V první reakci byly použity primery 1378j02 (5'-TTG CCT TGT CAG GTT GAT TCC-3') a ITS4 (White et al. 1990), ve druhé reakci značené primery 5.8F-Chlorophyta (Vančurová et al. 2020) a ITS4. Reakce probíhaly v objemu 20 µl a obsahovaly vždy:

- 10 µl Q5® High-Fidelity DNA polymerázy (BioLabs Inc.)
- voda (Milli-Q ddH_2O)
- 3–5 µl DNA
- 1,5 µl forward primeru
- 1,5 µl reverse primeru

První PCR reakce probíhala ve 22 cyklech, druhá ve 24. Podmínky byly následující: počáteční denaturace při 98 °C po dobu 30 s, denaturace při 98 °C po dobu 10 s, amplifikace při 52 °C po dobu 45 s, elongace při 72 °C po dobu 1 min a závěrečná elongace při 72 °C po dobu 2 min. Pro každý vzorek byla provedena dvě opakování a vždy byly zahrnuty tři negativní PCR kontroly. Produkty PCR byly přečištěny pomocí paramagnetických kuliček SPRI AMPure XP (Beckman Coulter), ve stejných koncentracích sloučeny do jednoho vzorku a dodány do společnosti Fasteris (Plan-les-Ouates, Švýcarsko) pro přípravu knihovny a sekvenování. Při přípravě knihovny byly použity jak negativní kontroly (destilovaná voda jako templát), tak multiplexní kontroly (obsahující nepoužité kombinace značek). Sekvenování proběhlo na platformě Illumina MiSeq v režimu paired-end (2x300 bází). V souladu s Bálint *et al.*, (2014) byly surové ready dále zpracovány následujícími způsoby: odfiltrování nekvalitních sekvencí, sloučení párových sekvencí, odstranění artefaktů primerů, odlišení vzorků dle značek, reorientace sekvencí na 5′-3′, demultiplexing, dereplikace, shlukování OTU (=operační taxonomická jednotka) a filtrování chimér. OTU

shlukování proběhlo s využitím algoritmu Swarm ver. 2 (Mahé et al. 2015), s denoisingem (umožňuje nalézt chybné sekvence a připojit je ke „správné“ mateřské sekvenci) a parametrem d=3 (max. počet rozdílů mezi dvěma amplikony). Výsledné OTU byly srovnány s databází BLAST algoritmem (Boratyn et al. 2013) s využitím automatizace SEED2 (Větrovský, Baldrian & Morais 2018). Dále byly zpracovávány jen OTU zelených řas obsahující v součtu více než 10 readů (celkem 1710). V úvahu byly brány pouze OTU detekované v obou replikátech. Pro další analýzy byla vždy použita data z replikátu obsahujícího nejvyšší abundanci pro danou taxonomickou jednotku. Vzorky obsahující v součtu méně než 100 readů byly z analýz rovněž vyloučeny. PCR negativní kontroly a multiplexní kontroly byly téměř ve všech případech negativní, anebo, velmi vzácně, obsahovaly méně než 20 readů na OTU. Problematické byly pouze dvě OTU patřící k druhu *Trebouxia incrustata* a *T. vagua*, které zahrnovaly několik pozitivních kontrol. Tyto druhy nicméně byly velmi abundantní a zahrnovaly i několik dalších OTU, jejichž kontroly byly zcela negativní. Pouze 1313 OTU (celkem 2587167 Illumina MiSeq readů) a celkem 66 vzorků prošlo všemi kontrolami a finálním filtrováním. Tyto OTU bylo možné na základě výsledků fylogenetické analýzy dále zařadit do celkem 283 linií na úrovni druhu (Příloha 1).

4.6 Fylogenetické analýzy

Všechny sekvence ITS2 rDNA úseku zelených řas generované metabarcodingem byly spolu s výsledky BLAST z databáze GenBank (NCBI, Clark et al. 2016) zalignovány v programu MAFFT ver. 7 (Katoh et al. 2002) s použitím iterační metody zpřesňování G-INS-i. Alignment obsahoval 2193 sekvencí a 917 pozic, z nichž bylo 901 variabilních a 833 parsimonně informativních. Výsledný alignment byl zkontrolován v programu MEGA11 (Tamura, Stecher & Kumar 2021). Alignment byl dále upravován v RStudio ver. 4.2.0 s využitím balíčku phytools (Revell 2012) a ape (Paradis, Claude & Strimmer 2004), kde byly odstraněny pozice obsahující více než 95 % mezer a upraveny názvy sekvencí. Alignment byl ručně zastřižen v programu MEGA11. Substituční model byl vybrán pomocí programu IQ-TREE ver. 2.1.2 (Nguyen et al. 2015).

Fylogenetický strom byl sestaven metodou maximum likelihood (ML). Podpory větví byly spočítány pomocí ultrafast bootstrapu s 1000 opakováními v programu IQ-TREE ver. 2.1.2 s využitím portálu CIPRES 3.3 (Miller, Pfeiffer & Schwartz 2010). Strom byl upraven v programu FigTree 1.4.4 (Rambaut 2018) a dále využit pro zařazení jednotlivých OTU z environmentálního i klasického sekvenování až na úroveň druhů. Přiřazování jednotlivých OTU k druhům (či dosud formálně nepopsaným liniím) bylo provedeno na základě

srovnávání s dostupnými publikacemi. Samostatně stojící linie obsahující méně než 100 readů byly ignorovány stejně jako linie s velmi nízkými bootstrap podporami (<50).

K jednotlivým taxonům ve výsledné taxonomické tabulce byly doplněny funkční traity (vyšší taxonomické zařazení, typ stélky a životní styl) na základě dostupných zdrojů (Ettl & Gärtner 2013; Guiry & Guiry 2023; Sanders & Masumoto 2021). Podle životního stylu byly organismy řazeny do tří kategorií. Kategorie „fotobiont" zahrnuje potvrzené druhy fotobiontů (Sanders & Masumoto 2021; Veselá, Malavasi & Škaloud 2023). U rodů *Trebouxia* a *Asterochloris* byly do této kategorie zahrnuty i všechny formálně nepopsané a nově objevené linie. Kategorie „neznámý" zahrnuje řasy náležící k rodům, které zahrnují potvrzené druhy fotobiontů. Kategorie volně žijící zahrnuje druhy a neznámé linie, u kterých není symbiotický styl života pravděpodobný (nepatří k žádnému potvrzenému rodu fotobiontů).

4.7 Další zpracování dat

K dalšímu zpracování bylo použito 82 sekvencí z lišejníkových stélek a 66 vzorků z Illumina metabarcodingu (tři vzorky musely být pro nedostatek obdržených readů z analýz vyloučeny). Data z klasického sekvenování nebyla dále nijak transformována. Absolutní počty readů metabarcoding vzorků, případně součtů readů z několika vzorků, byly převedeny na relativní abundance (tzv. Total Sum Normalization, vztažení k celkovému počtu readů v daném vzorku), což je již „tradiční" přístup používaný pro vyrovnání se s odlišnými hloubkami sekvenování napříč vzorky (McKnight et al. 2019). Tento a příbuzné přístupy jsou velmi často kritizovány, protože nezohledňují heteroskedasticitu a znesnadňují statistické tetování rozdílů v zastoupení jednotlivých OTU (McMurdie & Holmes 2014; Weiss et al. 2017). Pro porovnávání celých společenstev pomocí distančních metod se nicméně jeví jako nejvhodnější varianta, protože na rozdíl od novějších přístupů garantují, že počet readů napříč vzorky bude vždy shodný (McKnight et al. 2019).

Rozdílnost společenstev řas byla odhadována pomocí indexů β diverzity. Jedny z nejpoužívanějších indexů jsou indexy asymetrické, konkrétně binární Jaccardův koeficient a Brayův–Curtisův koeficient, který porovnává dvě společenstva z hlediska minimální abundance u každého druhu. Asymetrické koeficienty se hodí pro práci s heterogenními daty obsahujícími velké množství vzácných druhů, protože dávají větší váhu společné prezenci dvou druhů než jejich dvojí nepřítomnosti, která nám nedává žádnou informaci o podobnosti dvou lokalit (Jarkovský, Littnerová & Dušek 2012).

Pro vizualizaci rozdílů v druhovém složení řas zachycených ve vzduchu za celé období a jednotlivých segmentů transektu (z dat byly vyloučeny druhy chybějící ve vzduchu) byl využit Brayův-Curtisův i Jaccardův index. Výsledky obou přístupů byly velmi podobné. Indexy diverzity byly počítány v RStudio s využitím balíčku vegan (Oksanen et al. 2022). Disimilarity byly převedeny na barevnou škálu pomocí tagcloud (Weiner 2015).

Odlišnost společenstev na jednotlivých typech substrátů a v jednotlivých vzorcích vzduchu během sezóny byla zkoumána i pomocí ordinačních technik. Vzhledem k tomu, že data neměla normální rozdělení (Mardia test šikmosti a špičatosti), byla vybrána metoda neparametrického mnohorozměrného škálování (NMDS) v programu PAST (Hammer et al. 2001). Tato flexibilní metoda využívající distanční matice nevyžaduje normalitu nebo linearitu dat a těší se vzrůstající oblibě v mikrobiální ekologii (Ramette 2007). Metoda na rozdíl od jiných ordinačních technik pracuje s předem zadaným počtem dimenzí (os). Jejím výstupem je diagram, ve kterém zjednodušené zobrazení vzorků v ordinačním prostoru vykresluje jejich vzájemnou podobnost či nepodobnost. Důležitým výstupním parametrem je i Kruskalův stres, který ukazuje míru věrohodnosti daného zobrazení (Jarkovský et al. 2012). Mezi další výhody patří i možnost zvolit téměř libovolný koeficient disimilarity. Nevýhodou je nižší reprodukovatelnost (Paliy & Shankar 2016; Ramette 2007). Při analýze byl použit jak Brayův-Curtisův, tak Jaccardův koeficient a byly zadány vždy tři dimenze, což vedlo k minimalizaci stresu na přijatelnou úroveň (tzn. pod konvenční hranici 0,2). Oba koeficienty vedly k velmi podobným výsledkům, avšak při použití binárního Jaccardova indexu bylo zaznamenána mnohdy výrazně nižší hodnota Kruskalova stresu.

V RStudio byly spočítány základní popisné statistiky rychlosti větru, denního úhrnu srážek, průměrné denní relativní vlhkosti vzduchu (průměr, medián, rozptyl) a směru větru (vektorový průměr) časově vymezené dobou expozice jednotlivých filtrů. Závislost druhové bohatosti jednotlivých vzorků na těchto parametrech rychlosti větru byla zkoumána pomocí lineární regrese.

Jednoduché vizualizace druhové diverzity a struktury společenstev byly vytvořeny v programu Excel a RStudio s využitím balíčku ggplot2 (Wickham 2009). Vizualizaci dat o větru umožnil R balíček openair (Carslaw & Ropkins 2012). Zařazení jednotlivých druhů a jejich funkční traity (typ stélky, životní styl) byly doplněny na základě literatury (Ettl & Gärtner 2013; Guiry & Guiry 2023; Sanders & Masumoto 2021; Veselá, Malavasi & Škaloud 2023). Všechny grafické výstupy byly dále upravovány v programech Adobe Illustrator CS3 a Adobe Photoshop CS6.

V této práci bylo využito velké množství dat. Část z nich vznikla v rámci projektů Zuzany Škvorové (saxikolní a terikolní lišejníky) a Veronicy Malavasi (vzorky půdy a kamenů), kterým vděčím za jejich laskavé poskytnutí. Samostatně jsem prováděla odběry a další zpracování většiny vzorků, mikroskopii, zpracování meteorologických dat, molekulární analýzu stélek epifytických lišejníků, veškeré fylogenetické analýzy a zpracování a vizualizaci dat pocházejících z klasického sekvenování i metabarcodingu (od vzniku OTU tabulky dále). Naopak jsem se nepodílela na přípravě knihoven pro metabarcoding a bioinformatickém zpracování surových Illumina dat. Za tuto část práce mnohokrát děkuji Ivaně Černajové a Pavlovi Škaloudovi.

5 Výsledky

5.1 Diverzita lišejníků

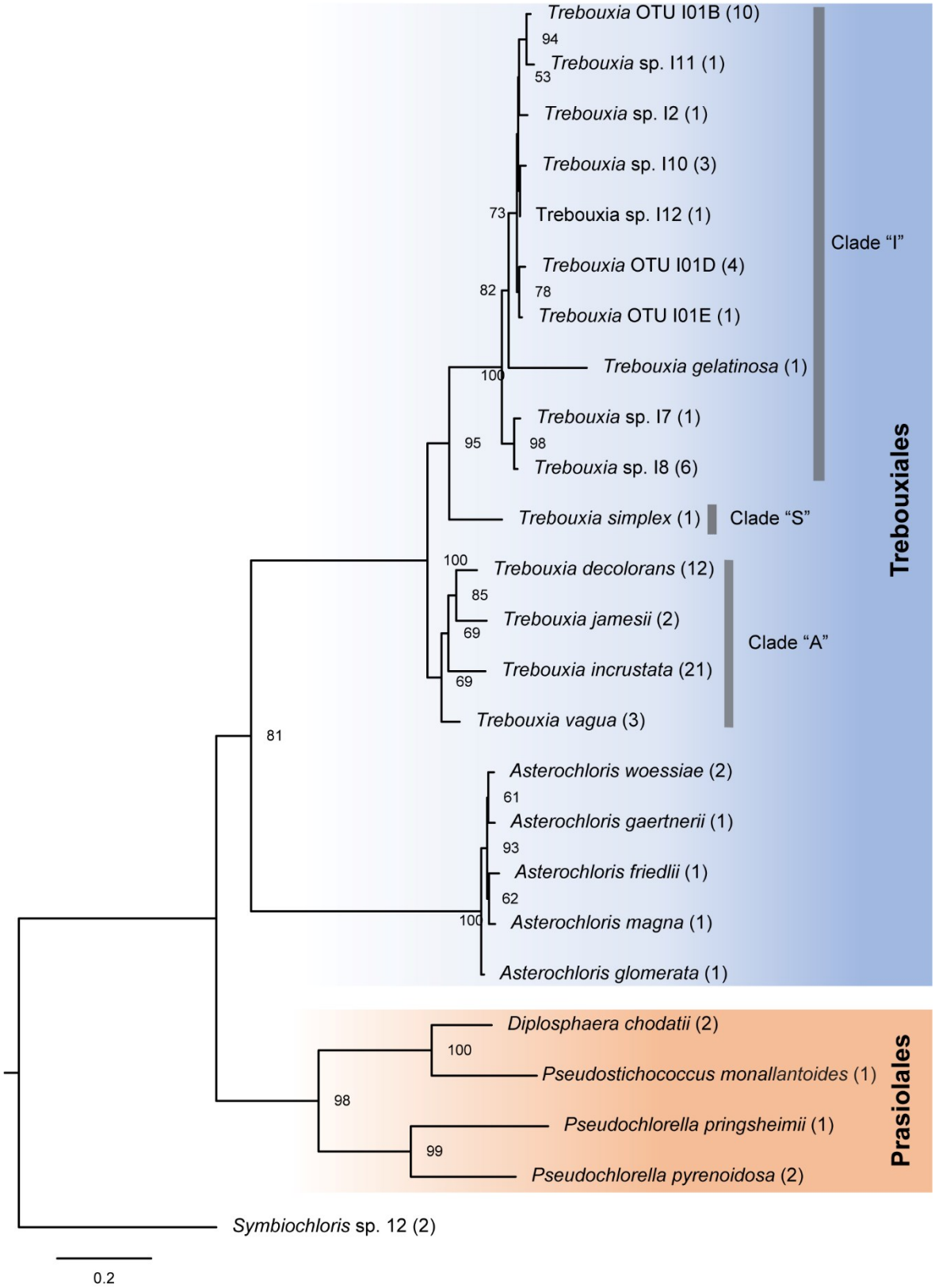
Z obou sublokalit bylo nasbíráno celkem 102 položek lišejníkových stélek patřících přibližně k 60 druhům (Příloha 2). Naprostá většina lišejníků patřila do třídy Lecanoromycetes (často do čeledí Parmeliaceae, Physciaceae a Lecanoraceae). Pouze dva druhy rodu *Candellariella* spadaly do třídy Lichinomycetes a dva zástupci rodu *Verrucaria* do třídy Eurotiomycetes. Celkem 52 položek pocházelo z kůry. Na lokalitě dominovaly zejména běžné eutrofofilní druhy epifytických lišejníků (rody *Physcia*, *Parmelia*, *Hypogymnia*, *Xanthoria, Melanelixia*). 47 položek bylo sebráno ze skály, nebo menších kamenů ležících na zemi. Saxikolním společenstvům dominoval rod *Xanthoparmelia*. Z terikolních lišejníků (3 položky) byl zastoupen pouze rod *Cladonia*. Několik druhů bylo schopno porůstat zároveň kameny i kůru (*Physcia adscendens*, *P tenella*, *P. caesia*, *P. nigricans*, *Candellariella vitellina*, *Xanthoria parietina, Phaeophyscia orbicularis*).

Dohromady 32 druhů epifytů se rozmnožovalo převážně asexuálně, 20 převážně sexuálně a u dvou položek nebylo možné tento údaj zjistit. U saxikolních lišejníků naopak převažovalo rozmnožování pohlavní (30/47). Terikolní lišejníky se rozmnožovaly vždy asexuálně. Ve dvou případech tento způsob rozmnožování kombinovaly s produkcí spor.

5.2 Diverzita endosymbiotických řas

Klasickým sekvenováním lišejníkových stélek se podařilo získat celkem 82 ITS rDNA sekvencí fotobiontů. Tyto sekvence byly na základě fylogenetické analýzy přiřazeny ke 25 druhovým liniím a celkem šesti rodům třídy Trebouxiophyceae. Druhově nejbohatší byli zástupci řádu Trebouxiales: rod *Trebouxia* zahrnující 15 linií a sesterský rod *Asterochloris* s pěti liniemi (Obrázek 4). V lišejníkových stélkách (zejména u saxikolních druhů) se vyskytovaly i méně časté rody fotobiontů, mezi nimi *Pseudochlorella* (2 druhy), *Diplosphaera*, *Pseudostichococcus* a *Symbiochloris* (po jednom druhu). Nejčastější endosymbiont byl druh *Trebouxia incrustata*, vyskytoval se v jedenadvaceti lišejníkových stélkách. Velmi častá byla i *T. decolorans* a *T.* OTU I01B (Obrázek 21a).

Většina nálezů patřila ke druhům, jejichž sekvence už byly v minulosti publikovány. Sedm linií však bylo zcela neznámých a představujících pravděpodobně nové druhy. Jednalo se o pět zástupců rodu *Trebouxia* patřících ke cladu „I“ získaných z různých druhů epifytických lišejníků (běžné druhy rodu *Physcia*, *Melanelixia*) a neznámou linii rodu *Symbiochloris* pocházející ze dvou položek blíže neurčeného lišejníku *Pertusaria* sp.



Obrázek 4: Fylogenetický strom všech získaných druhů fotobiontů vytvořený na základě ITS rDNA pomocí metody Maximum Likelihood (ML). Hodnoty u větvení udávají statistickou podporu (bootstrap, zobrazeny jsou pouze hodnoty > 50). Hodnoty v závorkách pak počet obdržených sekvencí daného druhu. Čarami jsou vyznačeny hlavní clady rodu *Trebouxia*.

Byly zaznamenány i dva dříve popsané druhy řas (*Pseudochlorella pringsheimii, Pseudostichococcus monallantoides*), které však ještě zřejmě nebyly izolovány z lišejníků (Sanders & Masumoto 2021; Veselá, Malavasi & Škaloud 2023). Několik neznámých druhů fotobiontů získaných klasickým sekvenováním (*T.* sp. I10, *T.* sp. I11 a *T.* sp. I12) se nepřiřadilo k žádné metabarcodingem získané sekvenci.

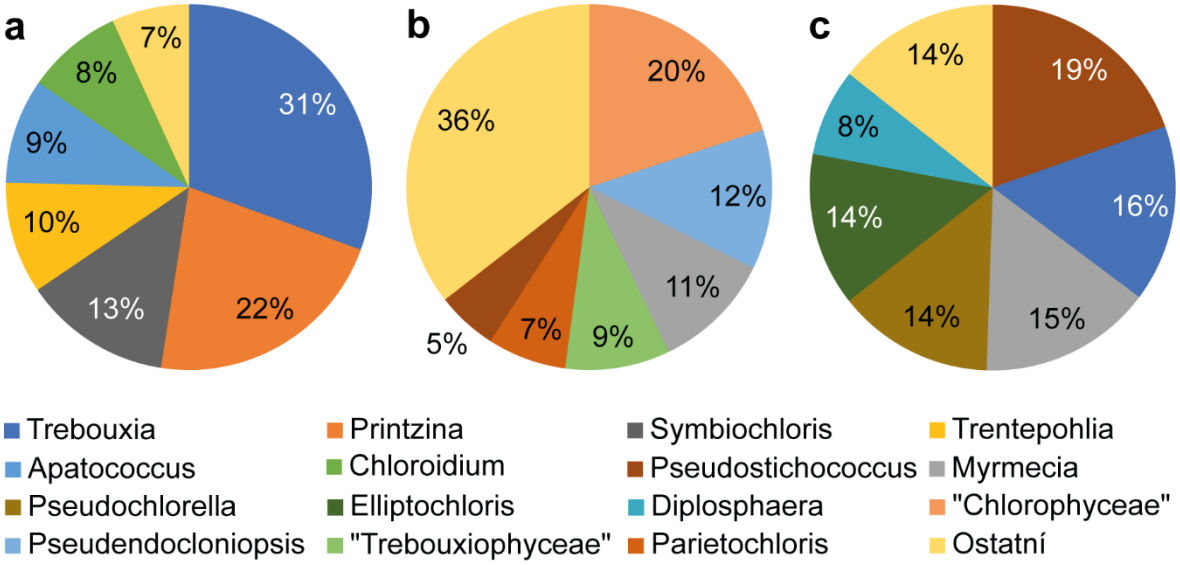
Druhy fotobiontů získané z lišejníkových stélek pomocí Sangerova sekvenování byly rozděleny do tří kategorií podle poměru asexuálních a sexuálních druhů jejich symbiotických partnerů. Téměř polovina řas se vyskytovala striktně v převážně asexuálních druzích lišejníků. Přibližně čtvrtina se nacházela jen v lišejnících množících se zejména pomocí spor a čtvrtina jak v sexuálních, tak v asexuálních druzích lišejníků (případně v jediném druhu, který využívá oba způsoby šíření). Druh *T. jamesii* nebylo možné vzhledem k absenci potřebných znaků na obou položkách (*Ramalina* sp.) a nemožnosti jejich přesnějšího určení zařadit do žádné z těchto kategorií. Asexuální druhy rostoucí na více typech substrátů (*P. adscendens*, *P. tenella*) měly ve své stélce vždy stejného řasového partnera nehledě na typ prostředí (*T.* OTU I01B). Sexuální druh *C. vitellina* měl na skále vždy druh *T. incrustata* a na kůře *T. decolorans*. Naopak druh *Xanthoria parietina* si zachovával ve své stélce řasu *T. decolorans* na libovolném typu substrátu.

5.3 Diverzita řas na substrátech

Metabarcodingem čtyř různých typů substrátů z okolí lišejníkových stélek (kůra, půda, kámen, „sterilizovaná“ půda) bylo získáno 1329096 readů zelených řas patřících do 212 druhových linií a 37 definovaných rodů. Největší druhová diverzita byla zaznamenána v půdě – celkem se zde vyskytovalo 155 linií, z nichž 96 patřilo ke třídě Trebouxiophyceae, 56 ke třídě Chlorophyceae a šest ke třídě Ulvophyceae. Na tomto typu substrátu byl tak zaznamenán nejmenší podíl zástupců třídy Trebouxiophyceae vůči ostatním třídám. Saxikolní řasová společenstva zahrnovala celkem 90 linií (Trebouxiophyceae : Chlorophyceae : Ulvophyceae = 70 : 16 : 4) a vyznačovala se výrazně vyšším podílem trebouxiophytních řas. U kortikolních vzorků se už vyskytovali pouze zástupci třídy Trebouxiophyceae (48) a dvě ulvophytní linie.

Řasy ze třídy Trebouxiophyceae dominovaly na všech typech substrátů i z hlediska relativních abundancí. Nejméně výraznou převahu měly v půdě, kde byly naopak hojně zastoupeny nepojmenované taxony ze třídy Chlorophyceae. Celkem 26 neznámých linií tvořilo dohromady 20 % všech půdních řas (Obrázek 5). Častý byl i ulvophytní kokální rod *Pseudendocloniopsis* (12 %) a trebouxiophytní zástupce *Myrmecia* (11 %). Výrazně

abundantní byla ve vzorcích i „dark taxa“ (= linie, které nebylo možné zařadit k žádnému známému druhu ani rodu) ze třídy Trebouxiophyceae. Na kamenitých substrátech dominoval *Pseudostichococcus* (19 %), *Trebouxia* (16 %) a *Myrmecia* (15 %). *Trebouxia* patřila k dominantám i v rámci kortikolních společenstev (31 %) následovaná rody *Printzina* (22 %) a *Symbiochloris* (13 %). Kůra vykazovala nejvyšší podíl ulvophytních řas (více než 30 %).



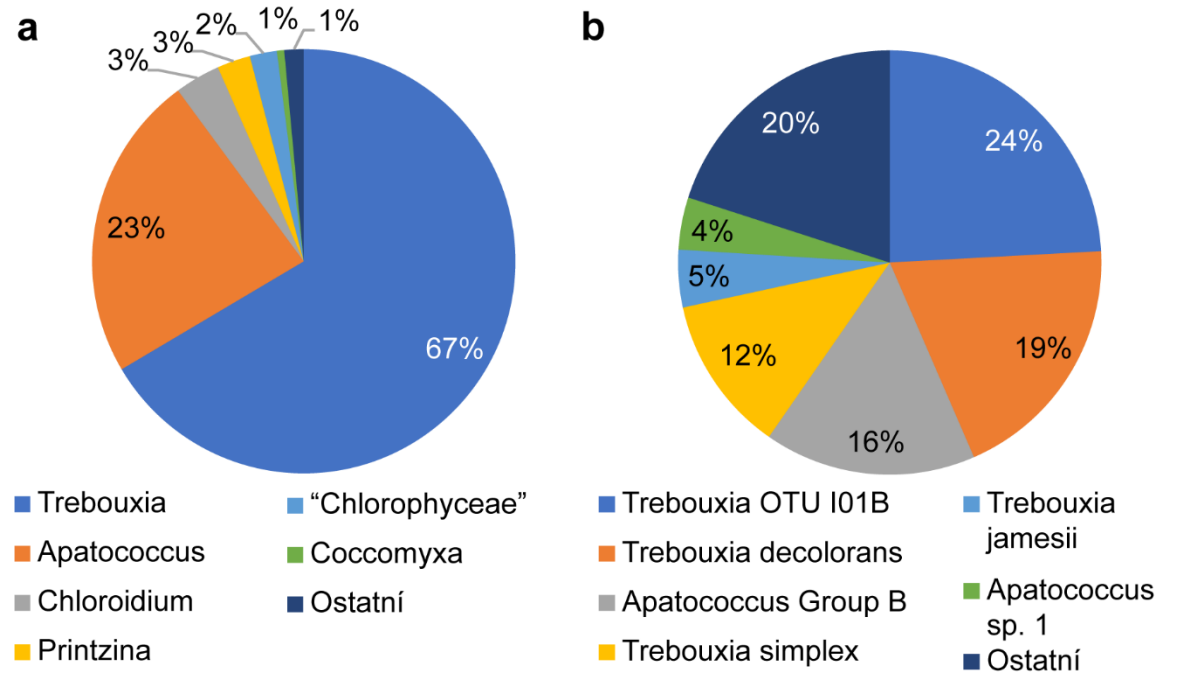
Obrázek 5: Relativní abundance nejběžnějších rodů (a) kortikolních, (b) půdních a (c) saxikolních řas.

Podíváme-li se na jednotlivé substráty z pohledu řas, můžeme si všimnout často výrazné preference jednoho typu prostředí, které jsou vidět u části z nich už na rodové úrovni. Dvanáct rodů a větších skupin (z celkového počtu 47) se vyskytovalo striktně v půdě (např. *Chlorella*), jeden rod pouze na kamenech (*Watanabea*) a jeden rod pouze na kůře (*Trentepohlia*). Mnoho rodů a skupin (21) se však vyskytovalo zároveň na dvou typech substrátů (např. *Dictyochloropsis*) a některé (10) i na všech třech (např. *Chloroidium*).

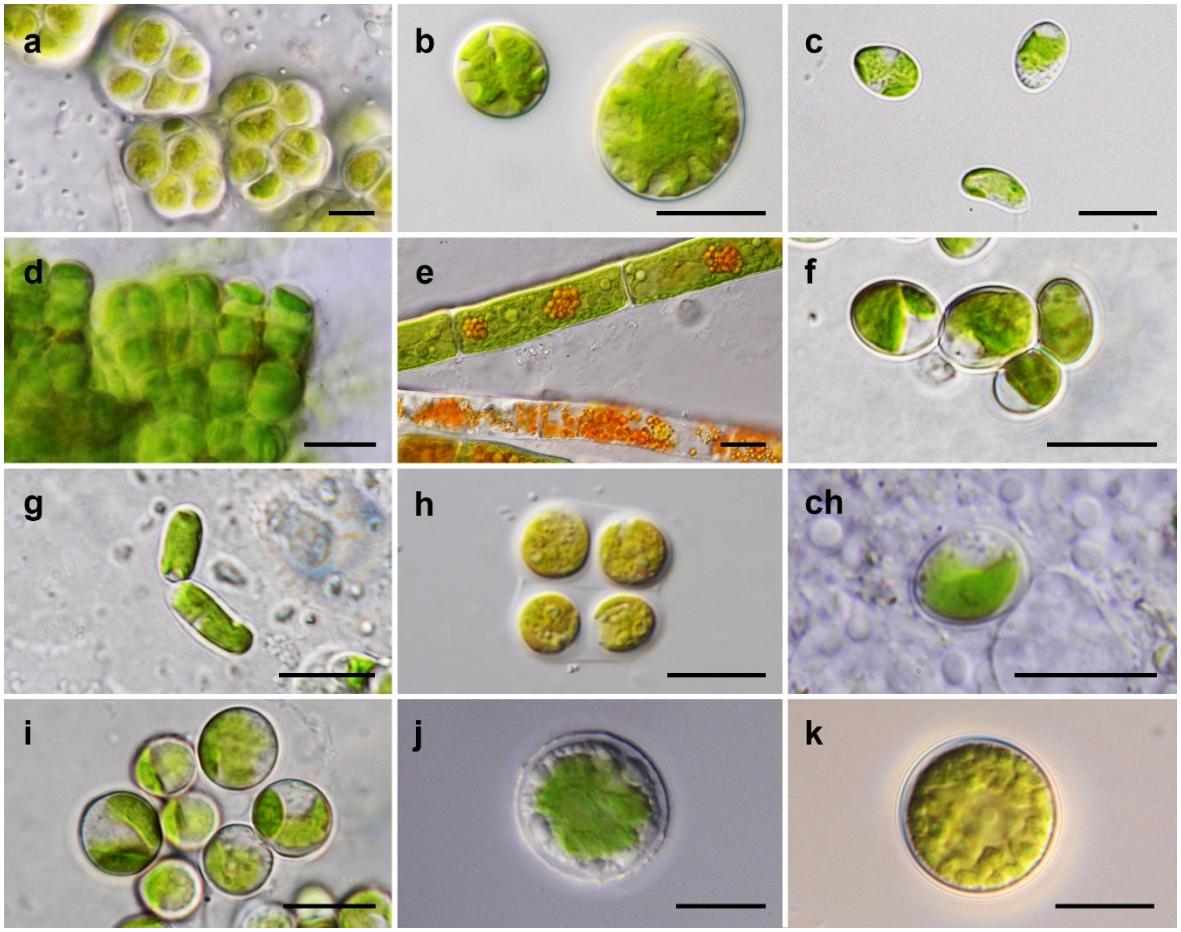
5.4 Diverzita řas ve vzduchu

Ze vzorků vzduchu se podařilo získat celkem 329 031 readů zelených řas náležících ke 44 druhům a 13 rodům (pomineme-li „dark taxa“). Největší druhovou bohatost vykazovala opět třída Trebouxiophyceae, u které bylo zaznamenáno celkem 40 linií.

Rodem s největšími relativními abundancemi za celé období byl rod *Trebouxia* tvořící 67 % všech detekovaných řas. Rod *Apatococcus* tvořil se zastoupením 23 % druhou z dominant. Všechny ostatní rody byly zastoupeny méně než čtyřmi procenty (Obrázek 6). Část ve vzduchu nalezených rodů či jejich morfologicky neodlišitelné příbuzné rody (detekovaný rod uvádím v závorce) zachycuje Obrázek 7. Fotografie pochází z nezávisle získaných kultur.



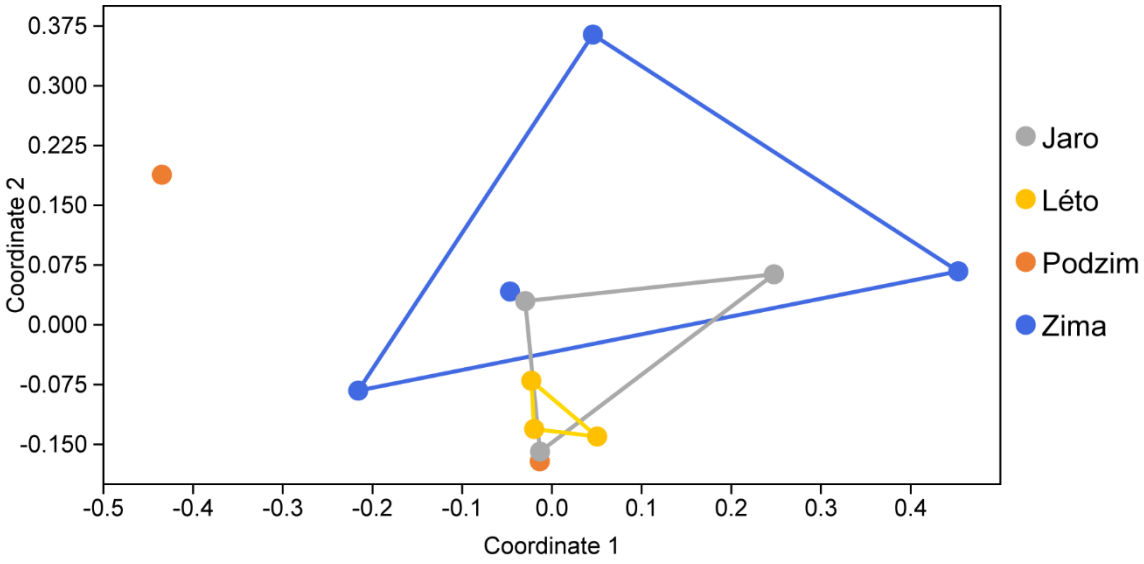
Obrázek 6: Relativní abundance nejběžnějších rodů (a) a druhů (b) řas v aeroplanktonu.



Obrázek 7: Morfologická variabilita vybraných rodů detekovaných vzdušných řas. Měřítko 10 µm. (a) *Apatococcus*, (b) *Asterochloris*, (c) *Coccomyxa*, (d) *Diplosphaera*, (e) *Trentepohlia (Printzina)*, (f) *Chloroidium*, (g) *Stichococcus (Pseudostichococcus)*, (h) *Neochlorosarcina* (Darienko 2015), (ch) *Pseudochlorella*, (i) *Elliptochloris*, (j) *Trebouxia*, (k) *Symbiochloris.* Foto Pavel Škaloud a Veronica Malavasi (není-li uvedeno jinak).

Největší počet druhů patřil k nejběžnějšímu rodu symbiontů lišejníků *Trebouxia* (12). Další druhy byly zařazeny k rodům *Apatococcus* (7) a *Chloroidium* (6). Zbývající dvě třídy zahrnovaly po dvou zástupcích. Patřila sem vláknitá řasa *Printzina lagenifera* a vláknitý/sarcinoidní druh *Pseudendocloniopsis botryoides* ze třídy Ulvophyceae a *Neochlorosarcina* blízce příbuzná druhu *N. negevensis* spolu s jednou neznámou linií („Chlorophyceae 5“) ze třídy Chlorophyceae. Nejběžnější druhovou linií byla *Trebouxia* OTU I01B, náleželo k ní 24 % readů. Následovala *T. decolorans* (19 %) a *Apatococcus* Group D (16 %).

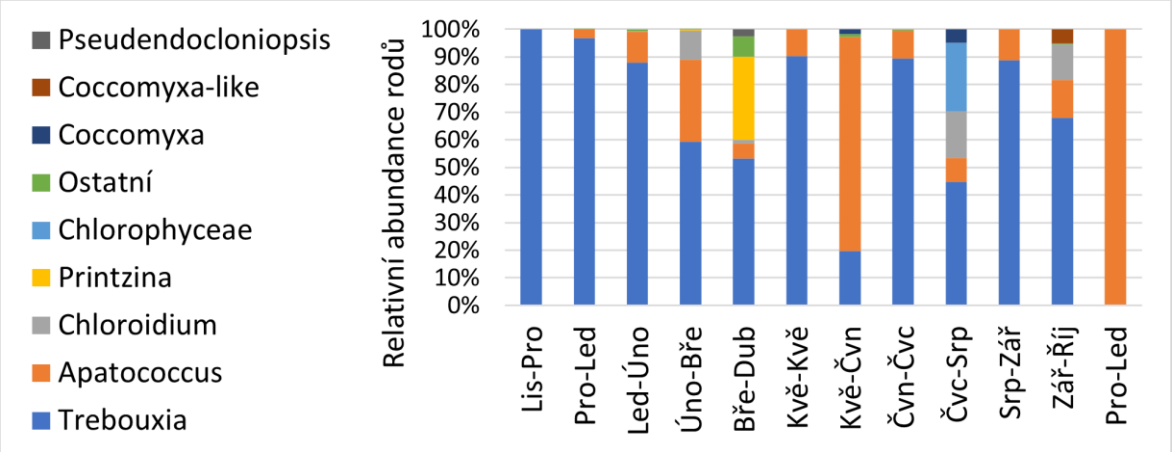
Diverzita řas ve vzorcích vzduchu vykazovala jistou sezonalitu. Průměrně bylo na jednom filtru detekováno 10,8 druhů řas. Nejvyššího průměru bylo dosaženo na jaře, kdy bylo zachyceno 15,7 druhů na vzorek, v létě 11,7, na podzim 5,5 a v zimě 12. Na druhy nejbohatším obdobím bylo období od poloviny března do poloviny dubna, kdy bylo na filtru zachyceno dokonce celkem 26 druhů. Druhým nejbohatším obdobím byl pak leden–únor s 15 a červen–červenec se 14 druhy. Naopak listopad–prosinec 2021 a prosinec–leden 2023 byly druhově nejchudší (dva a jeden druh). Vliv sezóny na složení řas ve vzduchu byl vizualizován pomocí NMDS (Obrázek 8. Z diagramu je patrné, že nejvyšší variabilita vzorků v rámci sezóny byla zaznamenána v zimě a na podzim. Naopak jaro a léto byly méně variabilní a navzájem poměrně podobné.



Obrázek 8: NMDS diagram zobrazující vliv sezóny u vzorků vzduchu. Brayův-Curtisův index, tři dimenze, stres = 0,14. První osa vysvětluje 38 % variability, druhá osa 30 %.

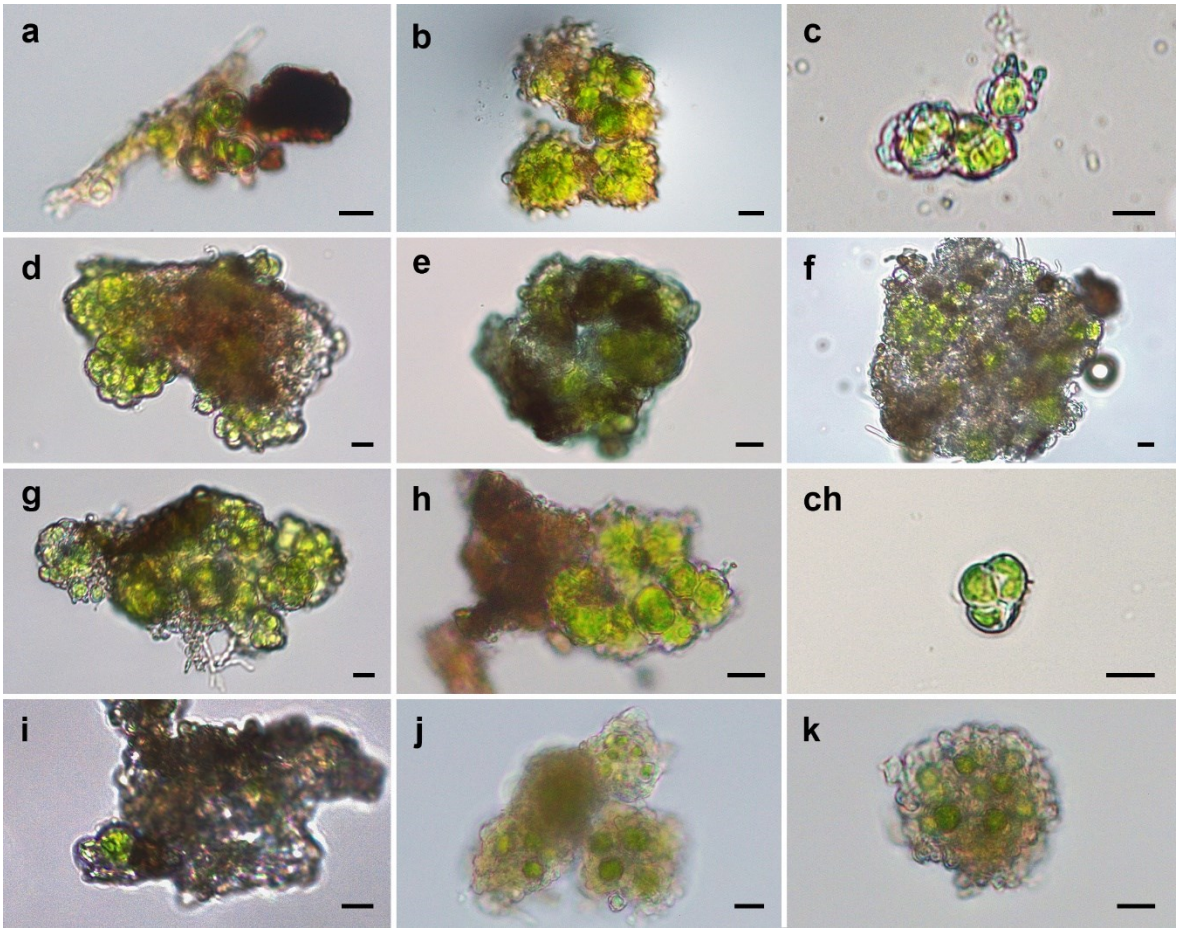
Rodem, který dominoval téměř po celé období (v devíti z dvanácti vzorků) byl rod *Trebouxia* (Obrázek 9). Zcela chyběl jen v období prosinec–leden 2023, kdy byl ve vzorku zaznamenán pouze jediný zástupce rodu *Apatococcus*. *Apatococcus* dominoval jen ve dvou vzorcích, ale přítomen byl vždy kromě období listopad–prosinec 2021. V celkem pěti vzorcích se

vyskytovaly rody *Chloroidium* a *Symbiochloris*. *Symbiochloris* byl však spíše vzácný. Všechny ostatní rody se vyskytovaly v méně než třech vzorcích.



Obrázek 9: Relativní abundance osmi nejčastějších rodů vzdušných řas v jednotlivých obdobích.

Světelnou mikroskopií byly detekovány řasy pouze v sedmi ze 12 prohlížených vzorků, přičemž naprostá většina pozorování řas pocházela z jediného filtru odebraného v květnu 2022. Z tohoto vzorku bylo izolováno 20 z celkem 34 balíčků pozorovaných za celé období.



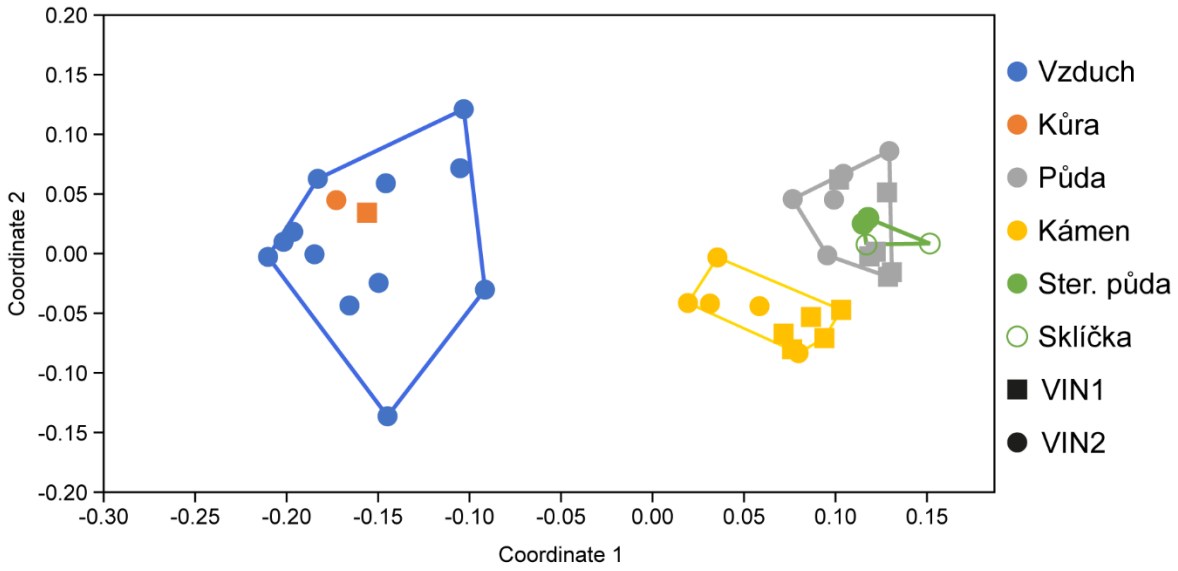
Obrázek 10: Řasy extrahované z filtrů pozorované pod světelným mikroskopem. (b), (j) a (k) pravděpodobně přestavují soredie. Měřítko 10 µm.

Řasy se ve vzduchu nikdy nevyskytovaly v podobě jednotlivých buněk (jako na Obrázku 7), ale tvořily různě velké konglomeráty spolu s hyfami hub (Obrázek 10).

Pouze v jednom případě se zdálo, že konglomerát obsahuje jen malou sacinoidní kolonii řas bez jakékoli příměsi hyf (Obrázek 10ch). Biomasa hub někdy zcela převažovala nad biomasou řas (např. Obrázek 10f, 10i), jindy byla méně patrná (10c). Největší rozměry jednotlivých balíčků se pohybovaly mezi 16 (10ch) a 148 (10g) µm. Některé balíčky obsahovaly pravděpodobně více různých druhů řas (např. na obrázku 10g lze tušit různě velké kulovité buňky). Všechny pozorované řasy pravděpodobně náležely do třídy Trebouxiophyceae. Přesnější determinace bohužel nebyla možná. Struktura některých z balíčků nápadně připomínala typickou strukturu lišejníkových vegetativních propagulí (10b, 10j, 10k). Pravděpodobně šlo o soredie (srov. Příloha 3).

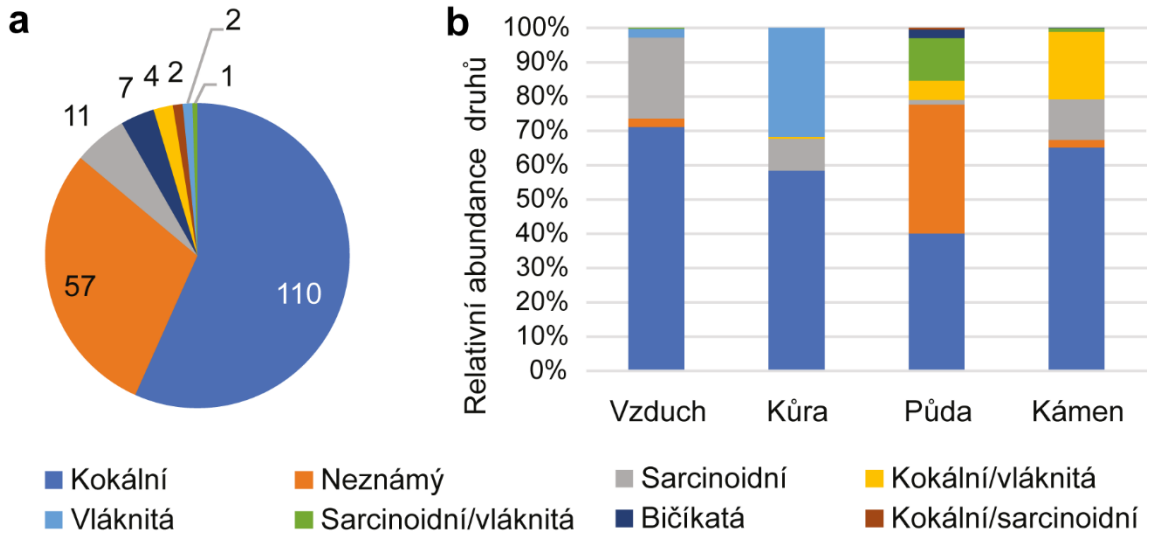
5.5 Srovnání diverzity substrátů a aeroplanktonu

Odlišnost jednotlivých typů substrátů a vzduchu se projevila nejen v rozdílech v druhovém bohatství jednotlivých tříd. Rozdílnost v celkovém druhovém složení jednotlivých prostředí dobře ilustruje NMDS (Obrázek 11). Z diagramu využívajícím Brayův-Curtisův index je patrná vyšší variabilita vzorků vzduchu oproti vzorkům jednotlivých substrátů. Všechny tři hlavní typy substrátů (kůra, půda, kámen) vytvořily více méně samostatné klastry. Markantní byla zejména odlišnost kůry od ostatních prostředí. Naopak vzorky získané z kamenů a půdy si byly navzájem více podobné. Vzorky kůry pocházející ze stélek epifytických lišejníků a volně žijících populací řas se velmi podobaly. Kortikolní společenstva měla zároveň úplný



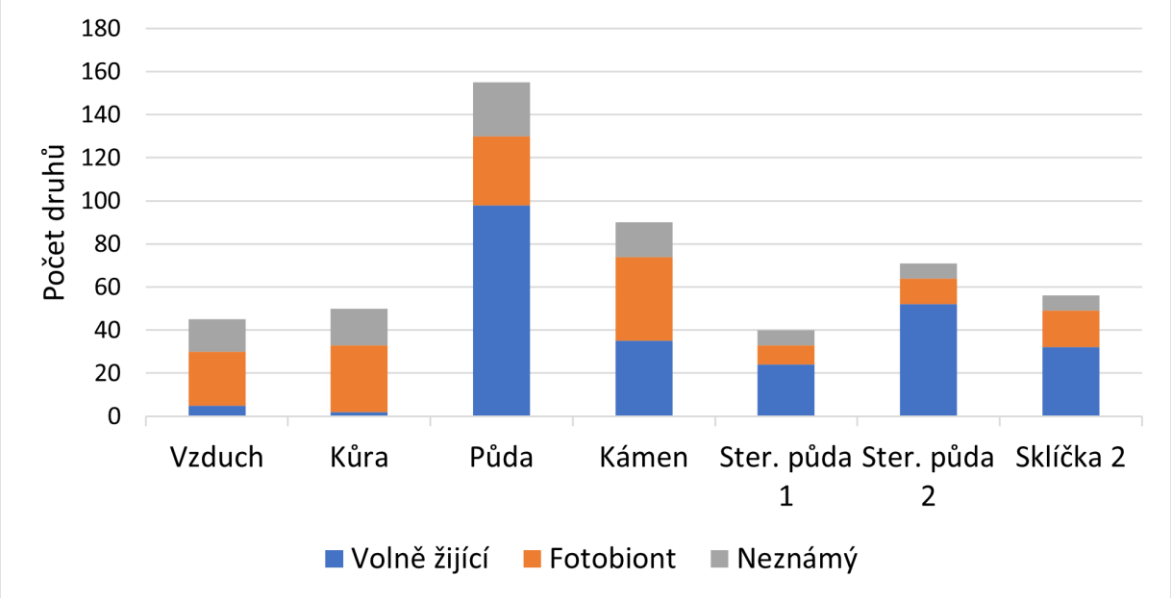
Obrázek 11: NMDS diagram zobrazující vliv substrátu na složení řasových společenstev. Brayův-Curtisův index, tři dimenze, stres = 0,12. První osa vysvětluje 52 % variability, druhá osa 10 %.

překryv se vzorky vzduchu. U vzorků z půdy a kamenů došlo k oddělení jednotlivých sublokalit – stepní lokality VIN1 a objektu vodárenské společnosti VIN2. Vzorky z předem sterilizované půdy a plastových krycích sklíček se nijak výrazně nelišily od okolní půdy lokality VIN2.



Obrázek 12: Typy stélek u volně žijících druhů obývajících přírodní substráty. (a) Počty druhů řas s daným typem stélky. (b) Relativní abundance řas s daných typem stélky na různých substrátech.

Významné rozdíly můžeme najít mezi prostředími i na úrovni funkčních traitů. Největší množství druhů mělo kokální stélku (110), následovala stélka sarcinoidní (11) a bičíkatá (7).

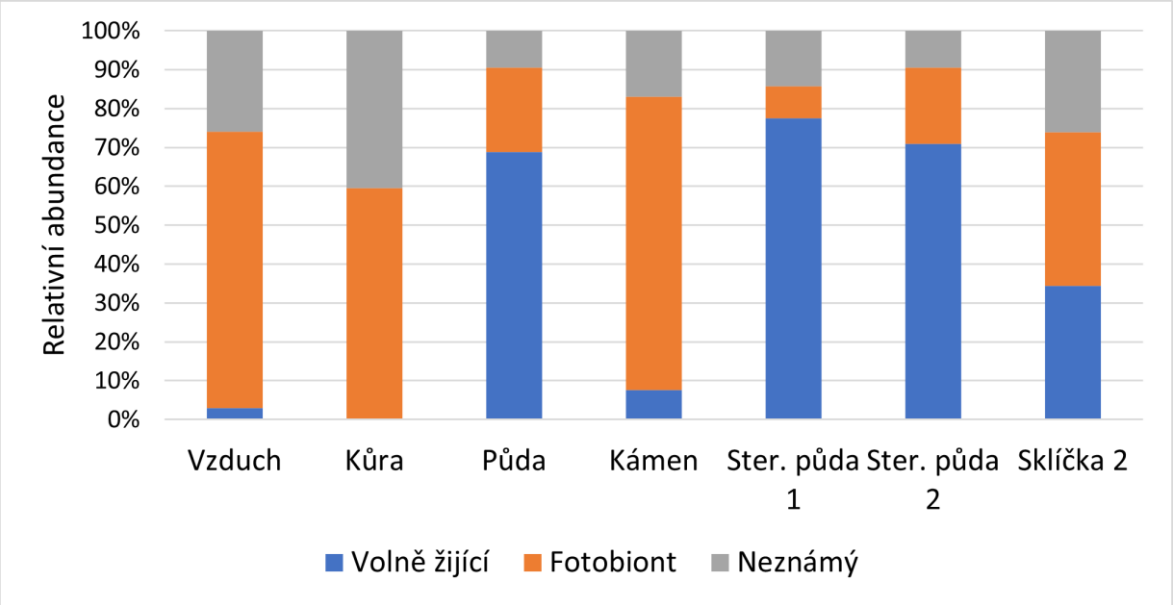


Obrázek 13: Počty druhů fotobiontů lišejníků a volně žijících řas na různých typech přírodních i uměle upravených substrátů.

Na všech substrátech dominovaly řasy s nejjednodušší možnou organizací stélky – kokální druhy. Jejich převaha byla nejvýraznější ve vzduchu a nejméně výrazná v půdě (Obrázek

12). Z důvodu přítomnosti velkého množství neznámých „dark taxonů“ nebylo možné v mnoha případech typ stélky identifikovat, což se projevilo zejména v půdě.

Jednotlivé substráty vykazovaly rozdíly i na úrovni životního stylu (Obrázek 13). Největší podíl potvrzených druhů fotobiontů lišejníků byl zaznamenán ve vzduchu a na kůře, kde tyto organismy tvořily nadpoloviční většinu (56 a 62 %). Menší zastoupení symbiotických řas bylo na kamenech a v půdě (43 a 21 %). Velmi podobný pohled se nám naskytne srovnáme-li přírodní substráty z hlediska relativních abundancí jednotlivých skupin (Obrázek 14). Fotobionti tvoří většinu nalezených řas ve vzduchu i na kůře. Ještě výrazněji však dominují v saxikolních řasových komunitách.



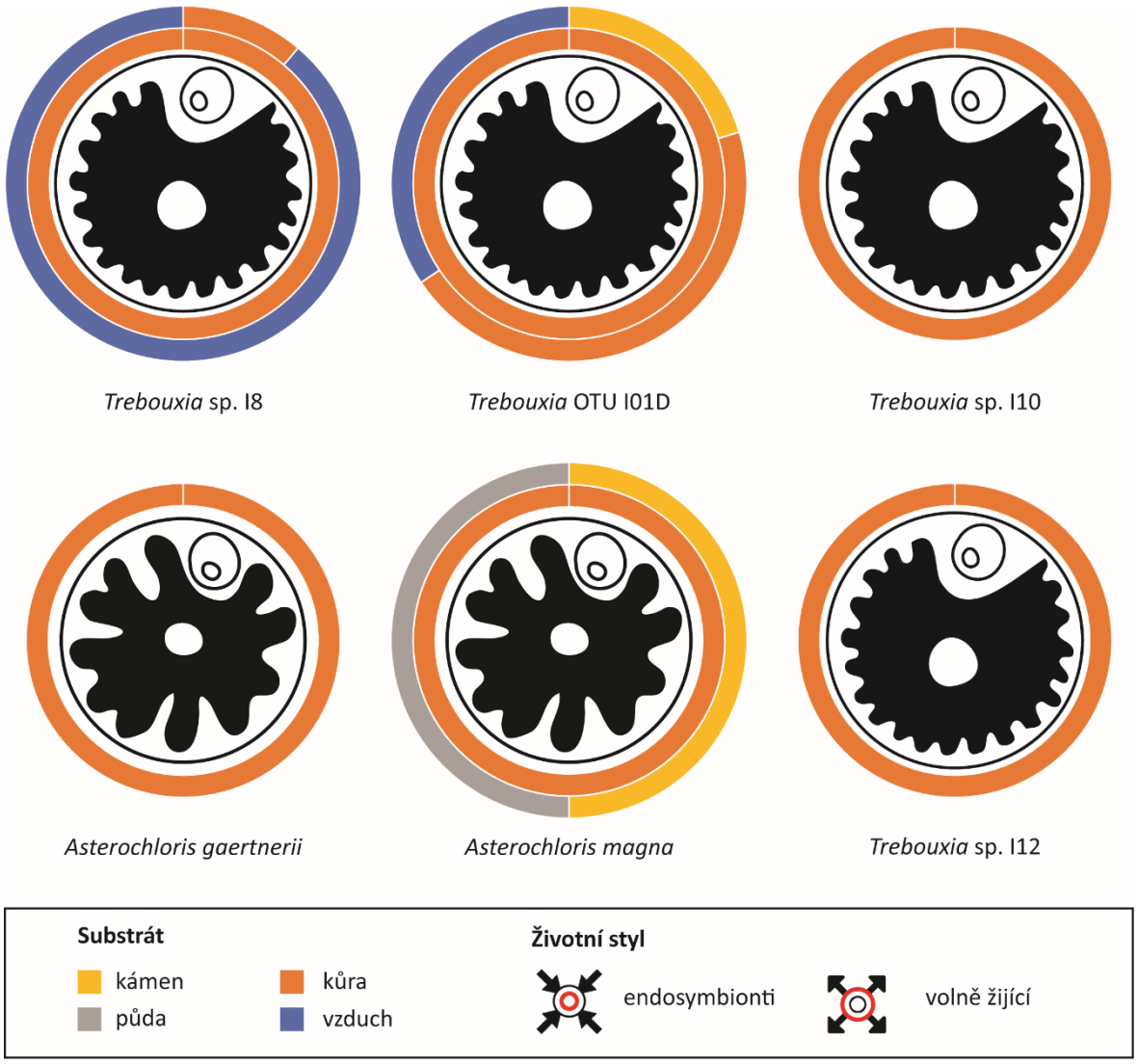
Obrázek 14: Relativní abundance fotobiontů lišejníků a volně žijících řas na různých typech přírodních i uměle upravených substrátů

Zajímavé je také podívat se na kolonizaci sterilizované půdy z hlediska životních strategií řas. Součástí datasetu byly dva vzorky z původně sterilního bloku půdy odebrané 6 měsíců od jeho opětovného navrácení na lokalitu (Ster. půda 1) a po třech měsících od tohoto prvního odběru (Ster. půda 2), kdy byla zároveň odebrána i plastová sklíčka umístěná na povrch takto upraveného substrátu. Na Obrázku 13 je jasně vidět celkový nárůst druhového bohatství v ošetřené půdě za uplynulou dobu. Tento nárůst se však týkal zejména volně žijících řas. Mírný nárůst diverzity nicméně zaznamenala i populace fotobiontů (přibyly celkem tři druhové linie). Diverzita fotobiontů na plastových krycích sklíčkách byla překvapivě vyšší než v ošetřené půdě. Při srovnání z hlediska relativních abundancí skupin (Obrázek 14) lze pozorovat nárůst fotobiontů lišejníků v předem sterilizované půdě v čase a výrazně vyšší podíl fotobiontů na plastových krycích sklíčkách než v okolní sterilizované půdě. Morfotypy patřící běžným rodům symbiotických řas (*Trebouxia/Asterochloris*) bylo

možné na sklíčkách nalézt i pod mikroskopem (Příloha 4). Častější však byly morfotypy běžných převážně volně žijících rodů (např. *Coccomyxa*, *Chloroidium*, *Pseudochlorella*, *Stichococcus*).

5.6 Srovnání výskytu endosymbiotických řas v lišejníkových stélkách a okolí

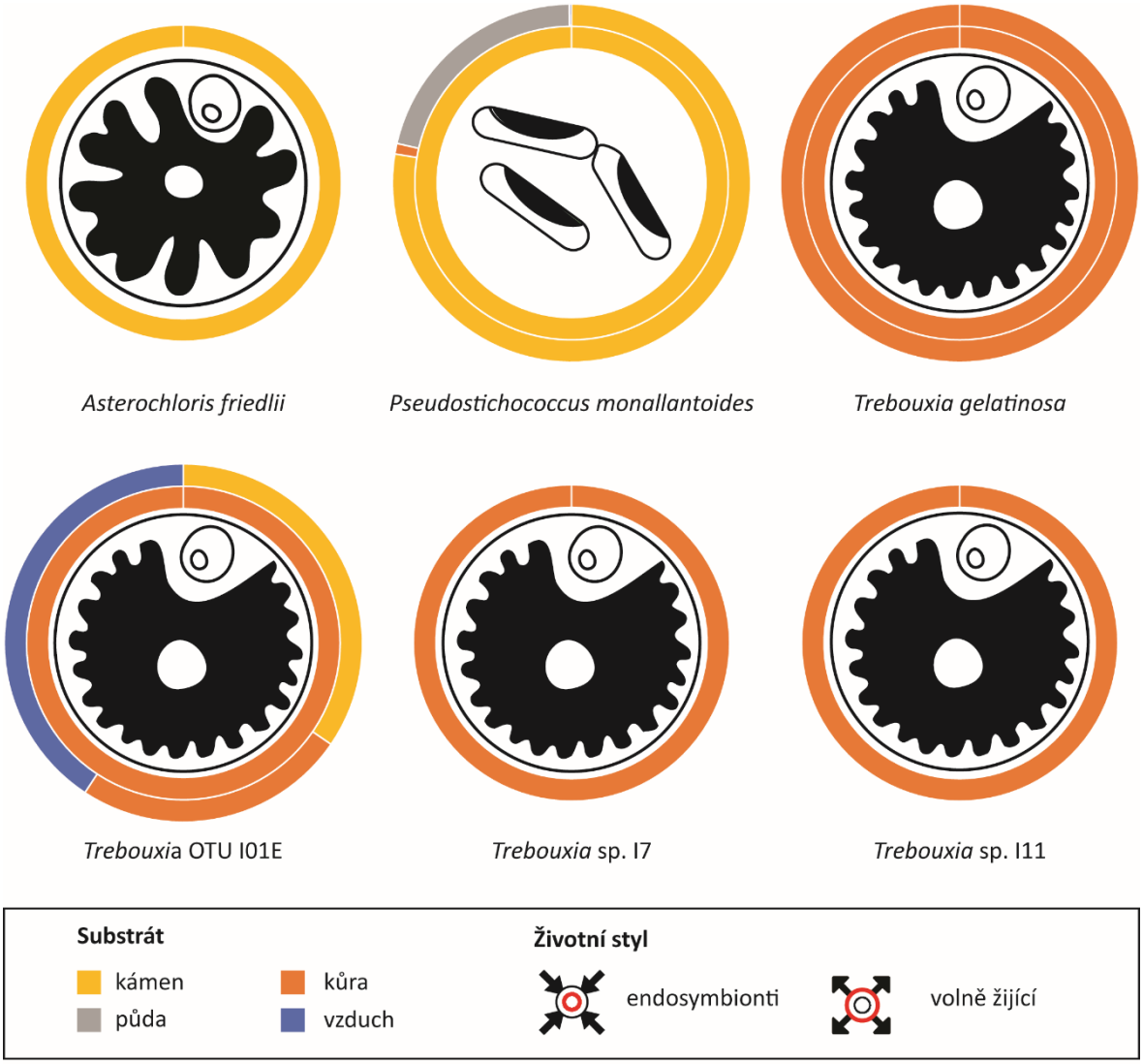
Srovnáme-li substrátové preference endosymbiotických řas detekovaných v lišejníkových stélkách (Sangerovo sekvenování) a na okolních substrátech (metabarcoding), můžeme si všimnout jistých odlišností.



Obrázek 15: Substrátové preference fotobiontů asexuálních lišejníků v endosymbiotickém (vnitřní obkruží) a volně žijícím stavu (vnější obkruží).

Řasy v endosymbiotickém stavu často preferovaly jediný typ substrátu (Obrázky 15–18). Celkem 14 druhů se vyskytovalo pouze ve stélkách epifytických lišejníků, sedm druhů pouze ve stélkách saxikolních lišejníků a dva duhy jen ve stélkách terikolních lišejníků. Saxikolní

i epifytické lišejníky zároveň obývaly jen dva běžné druhy endosymbiontů: *Trebouxia* I01B a *T. decolorans* (Obrázky 17–18).

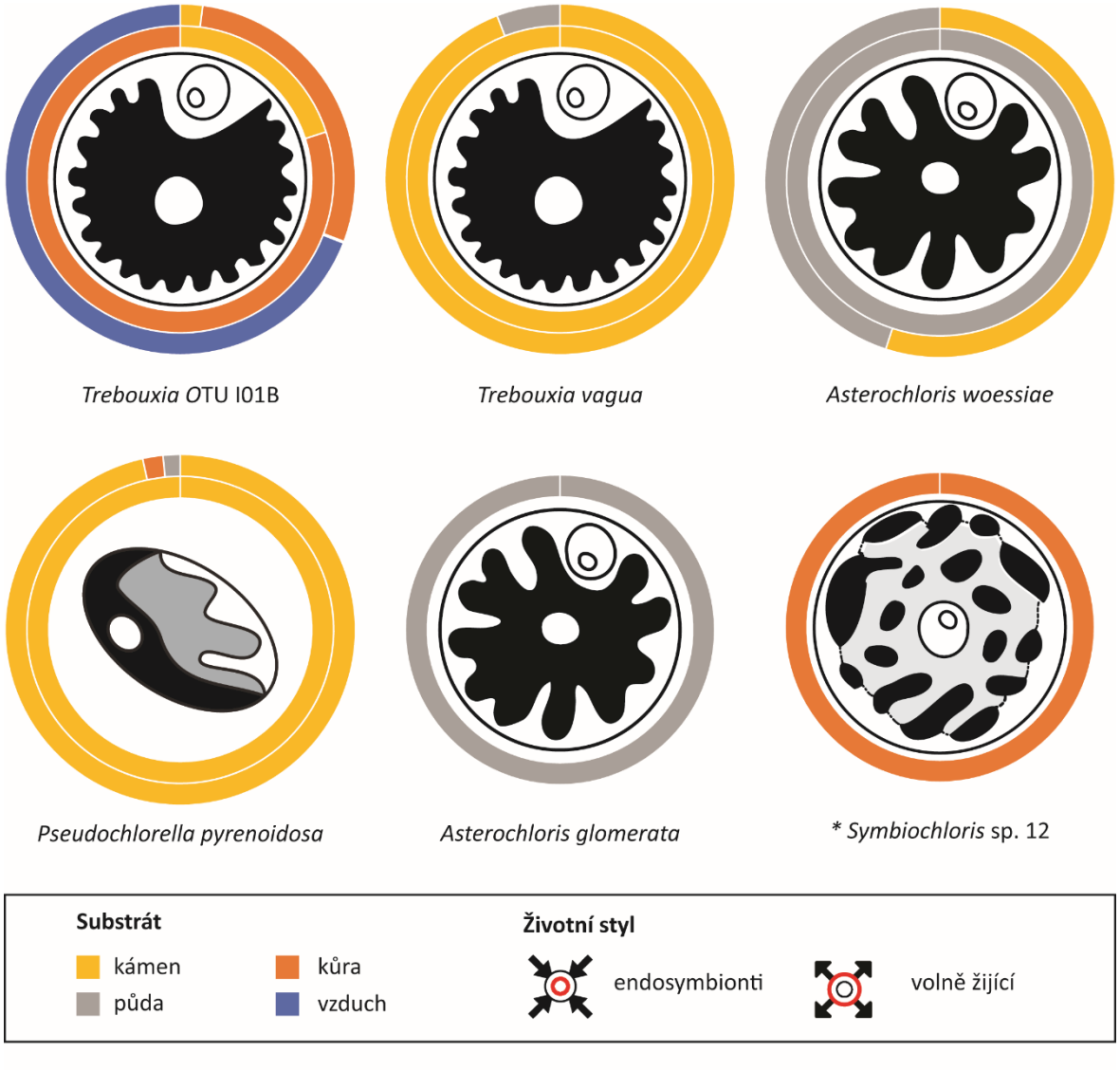


Obrázek 16: Substrátové preference fotobiontů asexuálních lišejníků v endosymbiotickém (vnitřní obkruží) a volně žijícím stavu (vnější obkruží).

Oproti tomu volně žijící řasy byly schopny porůstat často vícero substrátů, přestože většinou preferovaly pouze jeden z nich. Výjimku tvořil druh *Asterochloris magna*, který se vyskytoval stejnou měrnou na kamenech i v půdě a v zanedbatelném množství také ve vzduchu (Obrázek 15). Naopak druhy *T. gelatinosa* a *T.* sp. I2, *T.* sp. I8 a *T. simplex* a *T. jamesii* nebyly nikdy přítomny jinde než na borce stromů.

Preferovaný typ substrátu v symbiotickém vztahu povětšinou odpovídal preferovanému typu substrátu ve volně žijícím stavu. Výjimku tvořil opět druh *A. magna*, který se vyskytoval pouze v epifytických lišejnících, ale na kůře nebyl vůbec detekován. Podobný případ nastal i u druhu *T. jamesii*. Část endosymbiontů byla zachycena i ve vzduchu. Jednalo se zejména

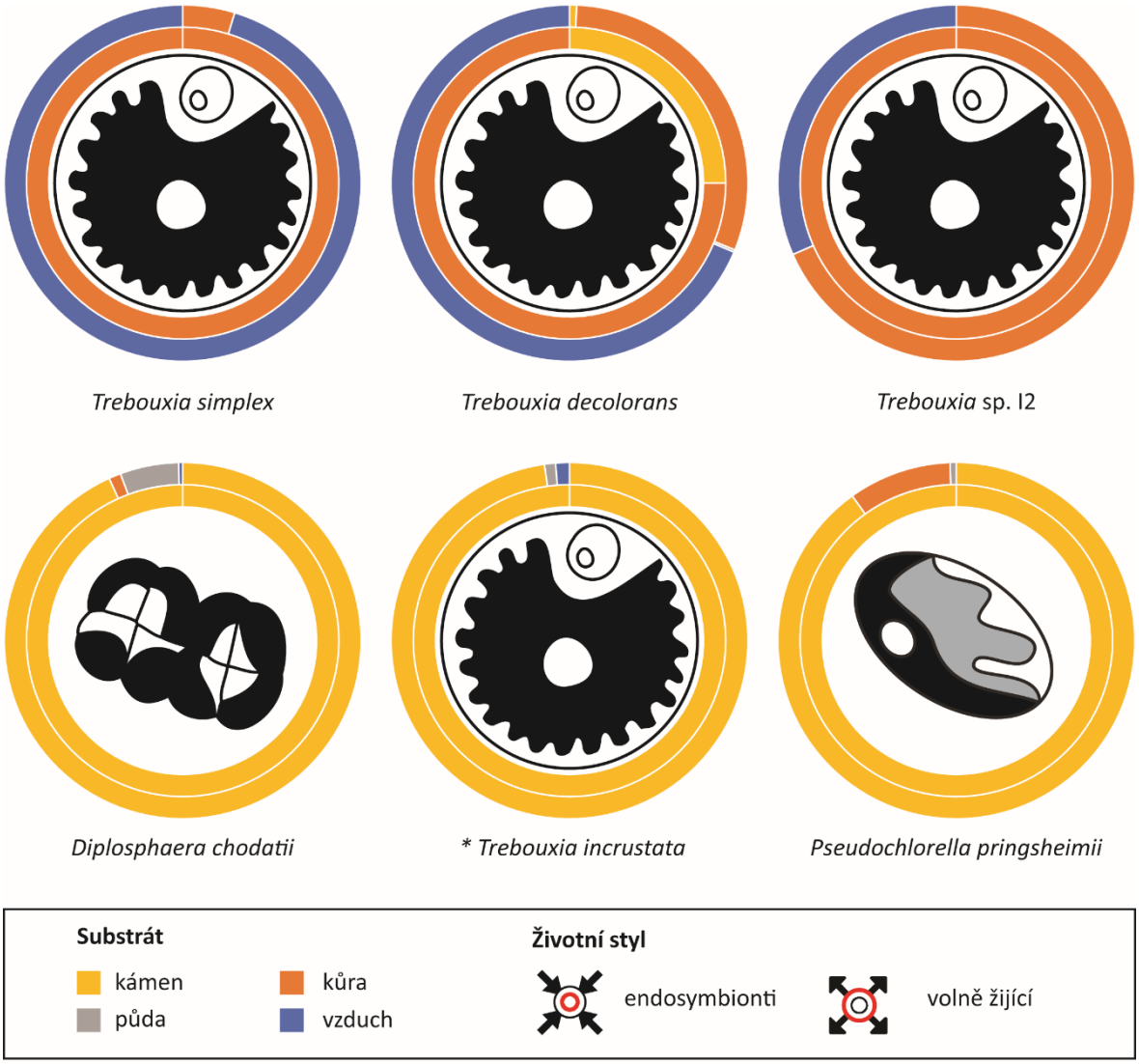
o druhy preferující kůru, kterých bylo ve vzduchu často značné množství. Půdní endosymbionti nebyli ve vzduchu zachyceni nikdy.



Obrázek 17: Substrátové preference fotobiontů asexuálních (označeno hvězdičkou) a převážně asexuálních lišejníků v endosymbiotickém (vnitřní obkruží) a volně žijícím stavu (vnější obkruží).

Ne všechny endosymbiotické řasy byly detekovány v metabarcodingem zpracovávaných vzorcích odebraných z jednotlivých typů substrátů nacházejících se v blízkosti odebraných stélek. U „asexuálních" druhů fotobiontů (= druhů vyskytujících se jen v asexuálních lišejnících) byla takových případů dokonce více něž polovina a patřily k nim zejména neznámé druhy rodu *Trebouxia* přiřazené ke cladu „I" (*T.* sp. I7, *T.* sp. I10, *T.* sp. I11, *T.* sp. I12), dva zástupci rodu *Asterochloris* (*A. friedlii, A. gaertnerii*) a jedna neznámá linie rodu *Symbiochloris* (*S.* sp. 12). Všechny tyto druhy byly izolovány ze sorediózních lišejníků patřícím k rodům *Pertusaria*, *Physcia*, *Phaeophyscia*, *Lepraria* a *Parmelia*. U „smíšených"

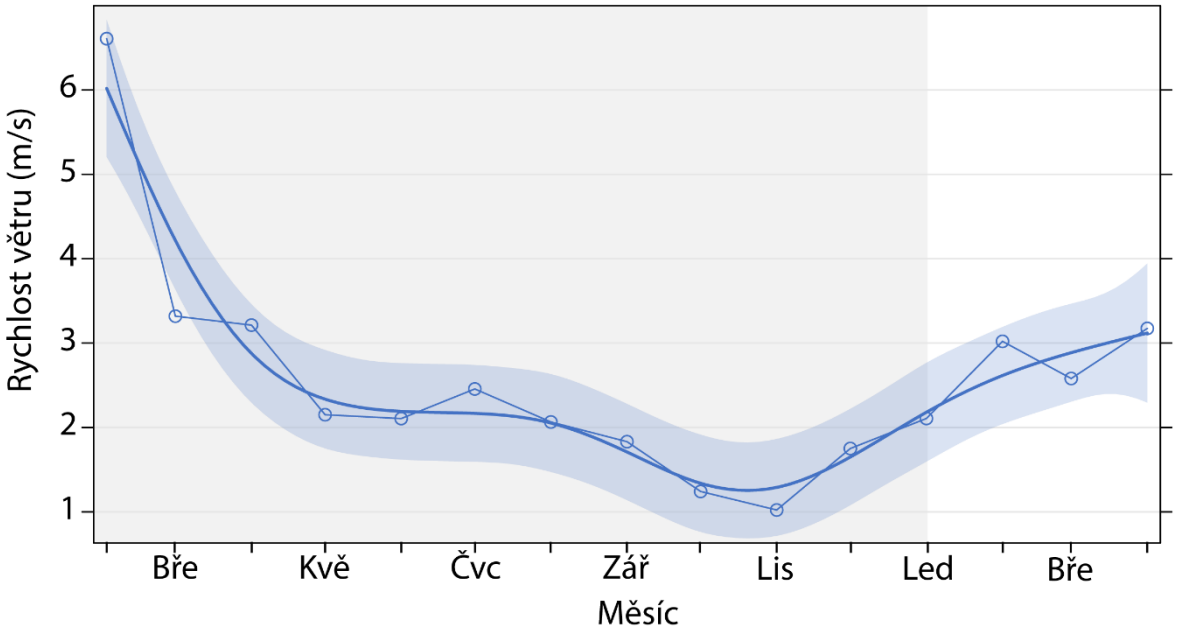
druhů fotobiontů tato situace nastala pouze jednou: u druhu *Asterochloris glomerata* izolovaném z lišejníku *Cladonia subulata*, který se množí pohlavně i nepohlavně.



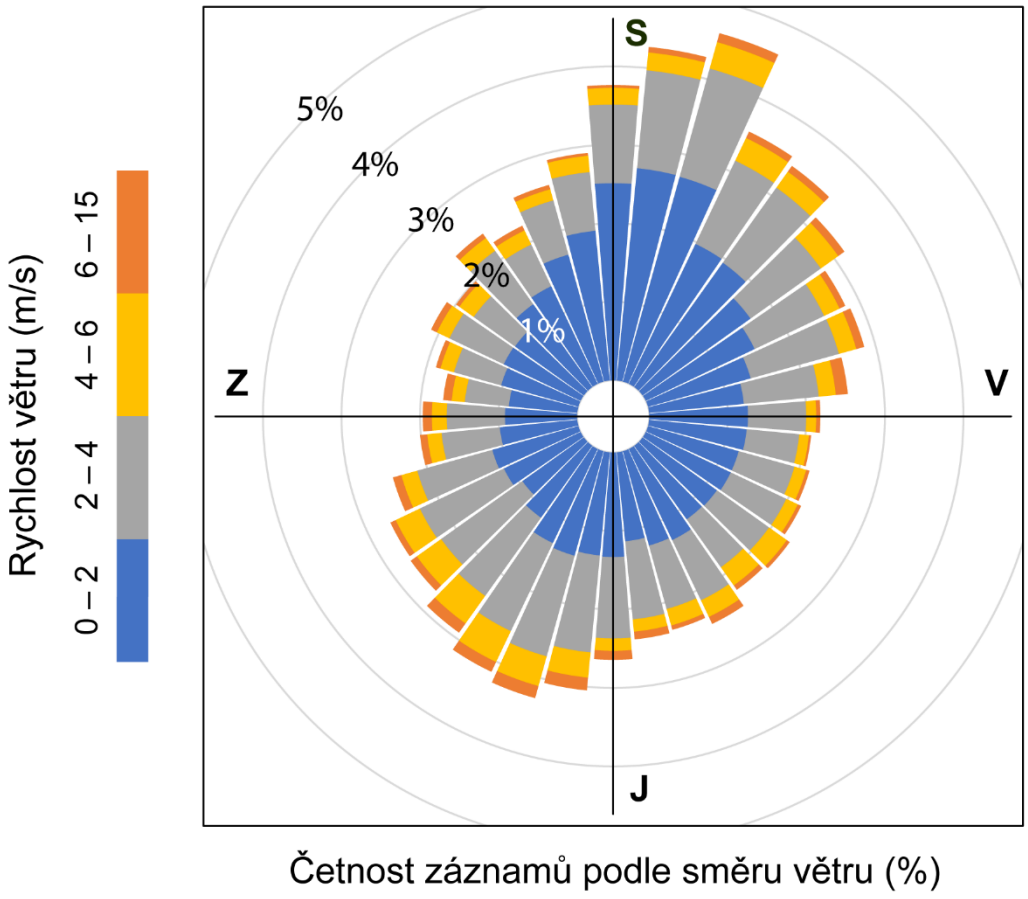
Obrázek 18: Substrátové preference fotobiontů sexuálních lišejníků a fotobiontů převážně sexuálních lišejníků (v 90 % případů, označeno hvězdičkou) v endosymbiotickém (vnitřní obkruží) a volně žijícím stavu (vnější obkruží).

5.7 Vliv meteorologických parametrů na diverzitu řas v aeroplanktonu

Průměrná rychlost větru zaznamenaná během aktivní činnosti vzorkovače vzduchu za celé období měření (únor 2022–duben 2023) byla 2,2 m/s. Největrnějším ročním obdobím byla zima 2022 s průměrem 6 m/s. V průběhu tohoto období byly zaznamenány četné poryvy větru s rychlostí 10–15 m/s. Data z tohoto období však obsahovala jen velmi malý počet pozorování. Naopak na podzim byla průměrná rychlost větru nejnižší (1,4 m/s). Trendy v průměrné měsíční rychlosti větru na lokalitě Vinařice popisuje Obrázek 19.



Obrázek 19: Průměrné měsíční hodnoty rychlosti větru (m/s) na lokalitě zaznamenané během činnosti vzorkovače vzduchu v období únor 2022–duben 2023. Položená křivka představuje odhad vytvořený s použitím zobecněného aditivního modelu. 95% intervaly spolehlivosti jsou zobrazeny barevným stínováním.



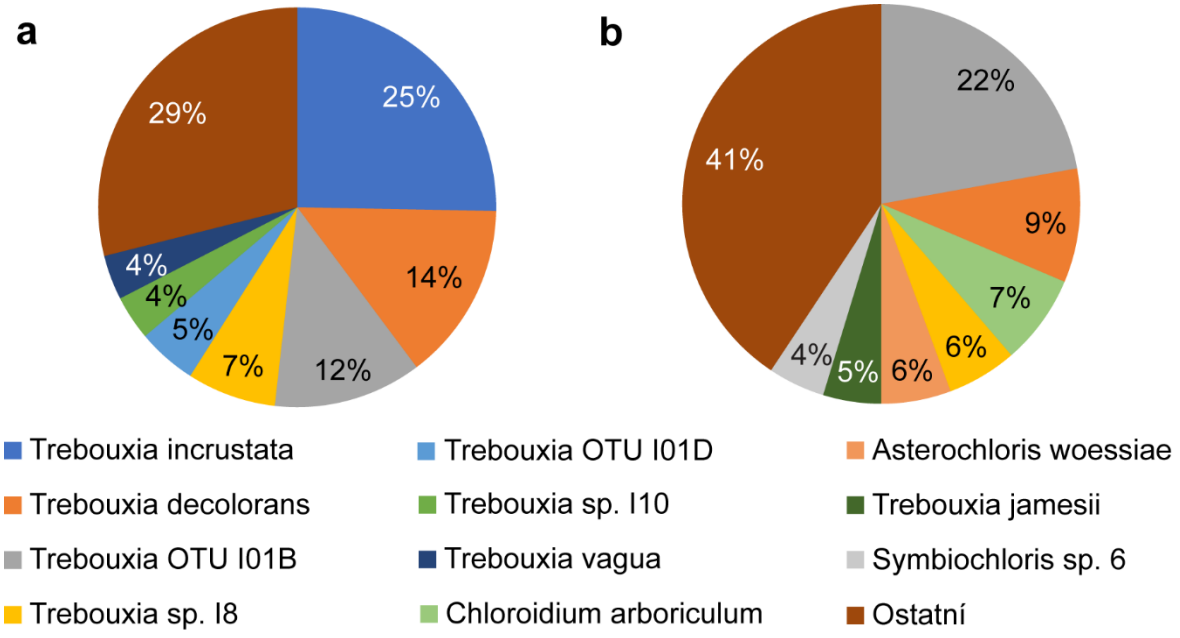
Obrázek 20: Větrná růžice zobrazující převládající směry větru na lokalitě zaznamenané během činnosti vzorkovače vzduchu v období únor 2022–duben 2023.

Za celé období sběru dat na lokalitě nebylo možné vysledovat zřetelný trend ve směru větru, ačkoli nejvyšší frekvence poryvů větru byla zaznamenána ze severu, zejména pak severo-severovýchodu (Obrázek 20). Severní nebo severovýchodní proudění na lokalitě převládalo během zimy, jara a podzimu 2022. Na jaře 2023 převládalo jižní proudění. V ostatních obdobích nebylo možné určit převládající směr větru.

Vztah druhové bohatosti ve vzorcích vzduchu a základních parametrů rychlosti větru (průměr, medián, rozptyl) se nepotvrdil. V případě průměru a mediánu byl vztah veličin průkazný ($p= 0,02$), nicméně po odstranění jediného pozorování (březen–duben 2022) vztah signifikance pozbyl ($p = 0,4$). U ostatních parametrů (směr větru, relativní vlhkost vzduchu, úhrn srážek) se vztah také nepotvrdil.

5.8 Srovnání diverzity řas v aeroplanktonu a širším okolí lokality

Illumina MiSeq metabarcoding lišejníkových stélek a vzorků substrátů nasbíraných v širším okolí lokality vyústil v získání 916817 readů zelených řas. Celkový počet nalezených linií byl 247. Během odběru tedy nebyla zachycena celková diverzita lokality (celý dataset zahrnoval 283 linií). Dvě linie byly například zachyceny pouze ve vzduchu a nebyly detekovány ani dlouhodobým průzkumem jednotlivých typů substrátů. Patřila k nim *Neochlorosarcina* blízce příbuzná druhu *N. negevensis* a neznámá trebouxiophytní linie spadající do příbuzenstva rodu *Coccomyxa*. Některé linie nicméně naopak nebyly zachyceny nikde jinde než právě na kruhovém transektu.



Obrázek 21: Nejčastější druhy řas lišejníkových stélek. (a) Procento sekvencí získaných klasickým sekvenováním. (b) Relativní zastoupení druhů detekovaných metabarcodingem.

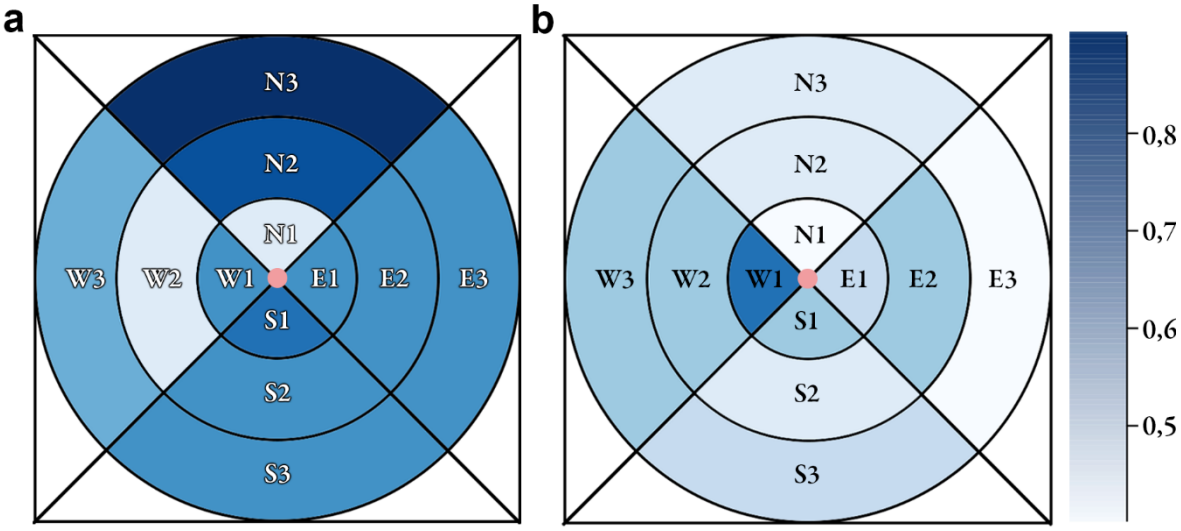
Průměrný počet druhů řas ve všech vzorcích lišejníkových stélek byl 40. Ve vzorcích z volně žijících populací byla diverzita průměrně dvakrát vyšší (81 druhů). Nejvyšší průměrná i absolutní diverzita všech vzorků byla zaznamenána v západní části transektu, který byl zároveň nejvíce heterogenní (zahrnoval step, les, louku, pole i remízek). Nejméně heterogenní severní (pole a remízek) část měla průměrnou diverzitu nejnižší. Pokles diverzity byl zaznamenán zejména u vzorků lišejníkových stélek.

Pomocí Illumina MiSeq metabarcodingu smíšených vzorků lišejníkových stélek pocházejících z okolí sublokality VIN2 se podařilo získat 635747 readů zelených řas. V lišejníkových stélkách se nacházely pouze řasy patřící do tříd Trebouxiophyceae a Ulvophyceae. Trebouxiophytní řasy zde tvořily naprostou většinu diverzity, nejčastější byl rod *Trebouxia*. Mezi ulvophytní obyvatele lišejníků patřila neznámá linie rodu *Trentepohlia*, *Printzina lagenifera* a *Pseudendoclonium* blízce příbuzné rodu *P. arthropyreniae*. Tyto tři linie měly ve vzorcích lišejníků jen velmi nízké relativní abundance. Naopak nejčastější byla linie *Trebouxia* OTU I01B, *T. decolorans* a *Chloroidium arboriculum* (Obrázek 21b), tento druh však nepatří ke známým druhům fotobiontů lišejníků (Sanders & Masumoto 2021; Veselá, Malavasi & Škaloud 2023) a pravděpodobně je tak spíše hojnou epithallickou řasou než novým druhem fotobionta.

Téměř všechny detekované řasy však patřily k rodům, které zahrnují symbiotické i volně žijící zástupce. Výjimkou byl např. rod *Dictyochloropsis*, a několik neznámých trebouxiophytních linií. Překvapivě velké množství druhů vyskytujících se v lišejnících (25) nebylo pomocí metabarcodingu detekováno v okolním prostředí. Jednalo se zejména o některé zástupce rodů *Trebouxia*, *Asterochloris* a *Symbiochloris*, u kterých je většina druhů symbiotická. Jinde než v lišejníkových stélkách se ovšem nevyskytovaly ani některé druhy patřící k rodům *Pseudendoclonium*, *Apatococcus*, *Dictyochloropsis, Chloroidium* a *Jaagichlorella*, které jsou spíše volně žijící. Rod *Dictyochloropsis* by měl dokonce zahrnovat pouze volně žijící zástupce (Škaloud et al. 2016). Některé z těchto linií patřily k nedávno popsaným druhům *J. africana*, *J. roystonensis, D. asterochloroides*, *Ch. lobatum* (Darienko, Lukešová & Pröschold 2018; Darienko & Pröschold 2019; Škaloud et al. 2016) a byly mezitím zaznamenány i v některých dalších studiích. Nikdy však v lišejnících (Ji, Chen & Pang 2022; Solarz et al. 2020).

Ze srovnání rozdílů v druhovém složení řas zachycených ve vzduchu za celé období a jednotlivých segmentů transektu pomocí Brayova-Curtisova indexu beta diverzity (Obrázek 22) je patrné, že výrazně nižší odlišnost (párový t-test: $p = 0{,}003$) byla zjištěna u vzorků lišejníkových stélek (Obrázek 22b). Pohybovala se mezi hodnotami 0,4 (segment N1) a 0,77

(segment W1). Nejnižší průměrnou hodnotu vykazovala severní část transektu (0,45) a nejnižší část západní (0,65). Překvapivě vyšší průměrnou disimilaritu vykazovalo těsné okolí vzorkovače vzduchu (0,56 oproti 0,50 v nejvzdálenější částech transektu). Odlišnost volně žijících společenstev byla výrazně vyšší. Pohybovala se v rozmezí 0,5–0,91 (segmenty N1 a N3, Obrázek 22a) a vykazovala často zcela opačné trendy: nejnižší průměrná disimilarita zde byla zaznamenána u západní (0,62) a nejvyšší u severní části území (0,74). Nejvyšší průměrnou podobnost vykazovalo blízké okolí vzorkovače vzduchu (0,68) a nejnižší okolí vzdálené (0,75).

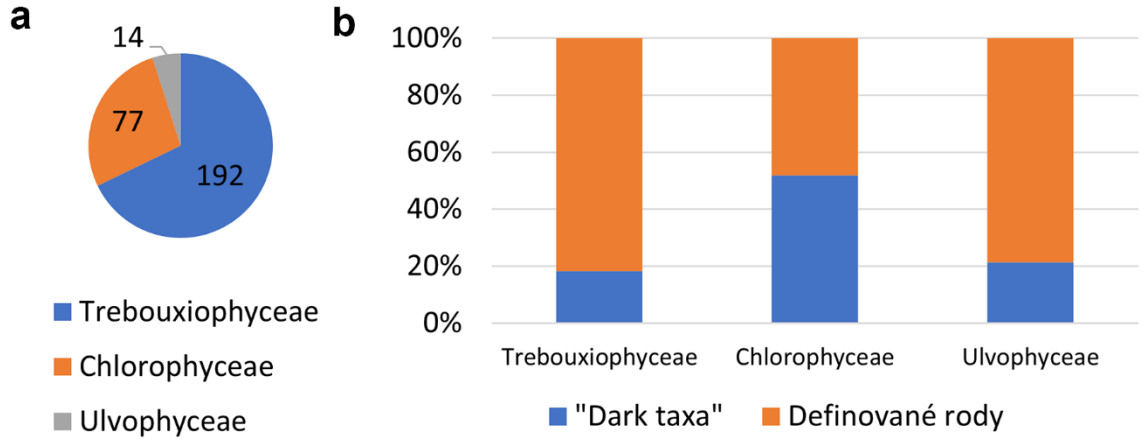


Obrázek 22: Znázornění odlišností druhového složení řas ve vzduchu (za celé období) a v jednotlivých segmentech transektu pomocí beta diverzity (Brayův-Curtisův index). Umístění vzorkovače vzduchu je označeno růžovým bodem. Tmavší odstín segmentu značí vyšší disimilaritu. (a) Srovnání pro volně žijící řasy. (b) Srovnání pro lišejníkové stélky.

6 Diskuse

6.1 Celková řasová diverzita lokality

Výsledky rozsáhlého environmentálního sekvenování úseku ITS2 rDNA zelených řas potvrdily absolutní převahu zástupců třídy Trebouxiophyceae (Chlorophyta) ve vzorcích lišejníkových stélek i na všech typech substrátů na dlouhodobě studované středočeské lokalitě. Dominance této třídy byla zřejmá jak z hlediska relativních abundancí druhů, tak i z hlediska druhové bohatosti (Obrázek 23a). Podobné výsledky jsou v mírném až chladném klimatu naprosto běžné, bez ohledu na typ metody využitý k identifikaci řas (Broady 1984; Hallmann et al. 2016; Rippin et al. 2018; Stewart et al. 2021). V tropech naopak často dominuje třída Ulvophyceae (Suutari et al. 2010; Zhu et al. 2018).

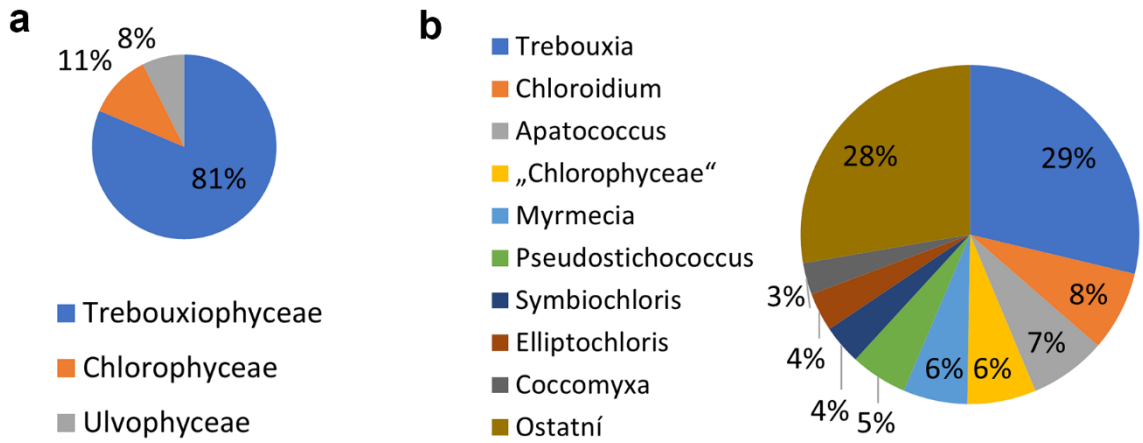


Obrázek 23: Celková diverzita lokality. (a) Počty druhů v jednotlivých třídách. (b) Podíl linií, které nebylo možné přiřadit k žádnému rodu („dark taxa“).

Všechny nalezené třídy zelených řas obsahovaly určitý podíl linií, které nebylo možné přiřadit k žádné nižší, ale mnohdy ani vyšší, taxonomické jednotce (Obrázek 23b). Výjimkou nebyly ani samostatné, hluboké linie neobsahující jedinou blízkou sekvenci z databáze. Toto je běžný jev u většiny studií využívajících moderní metody environmentálního sekvenování (Sherwood et al. 2017; Zhu et al. 2018). Tyto linie, někdy označované jako „dark taxa“ (De Clerck et al. 2013), tvořily dokonce celých 51 % diverzity a dokonce přes 60 % readů v rámci třídy Chlorophyceae. Diskrepance mezi tradičním morfologickým přístupem a fylogenetikou dokonce vedly u některých skupin v rámci této třídy k rezignaci na tradiční systém klasifikace (Watanabe & Lewis 2017). U zbývajících tříd byl tento podíl výrazně nižší. Za povšimnutí stojí relativně nízký podíl linií nepřiřaditelných k žádnému známému rodu u třídy Trebouxiophyceae. Tyto linie zde tvořily pouze 18 % z celkové diverzity, která byla u této třídy neobyčejně vysoká (Obrázek 23a). Zároveň k nim patřila jen 4,3 % readů. U této třídy tak pozornosti unikají pravděpodobně hlavně vzácné druhy, které není možné

zachytit kultivací. Možnou příčinou relativně dobré prozkoumanosti genetické diverzity terestrických zástupců této třídy může být symbiotická povaha většiny jejich rodů, díky které je jim věnována poměrně intenzivní pozornost (Muggia et al. 2020; Škaloud et al. 2015; Thüs et al. 2011; Zahradníková et al. 2017).

Část těchto organismů patří ke zcela polyfyletickým morfologicky definovaným rodům bez adekvátní taxonomické revize (např. „*Chlorococcum*“). Velká část však pravděpodobně patří ke zcela novým, dosud neobjeveným liniím. Může se jednat o snadno přehlédnutelné kokální druhy řas, které se doposud nepodařilo sekvenovat např. pro jejich možnou neochotu růst na kultivačním mediu (Hirsch, Mauchline & Clark 2010; Tong et al. 2017) nebo pro jejich velkou vzácnost. Menší část případů však mohou tvořit dříve morfologicky popsané druhy, ke kterým však dosud chybí sekvence (De Clerck et al. 2013). Příkladem může být rod *Keratococcus*, který se vyznačuje nezaměnitelným tvarem buněk a na lokalitě byl zaznamenán při pozorování plastových krycích sklíček.



Obrázek 24: Relativní abundance tříd (a) a nejčastějších rodů (b) na lokalitě.

Na lokalitě celkově dominovaly rody s širokou ekologickou nikou a schopností porůstat více různých substrátů (Obrázek 24b). Příkladem mohou být rody *Trebouxia*, *Chloroidium*, *Apatococcus* a *Myrmecia*, které převládaly zejména na borce stromů a kamenech. Tyto rody jsou běžnou součástí většiny studií zabývajících se terestrickými řasami (např.: Flechtner, Johansen & Belnap 2008; Hallmann et al. 2016; Schulz et al. 2016; Vázquez-Nion et al. 2016; Štifterová & Neustupa 2017), kde rovněž obývají nejrůznější typy prostředí a substrátů.

Poměrně překvapivé výsledky však ukázal pohled na půdní řasové dominanty. Kromě velkého množství „dark“ linií ze třídy Trebouxiophyceae a zejména pak Chlorophyceae mezi ně patřil i méně známý rod *Pseudendocloniopsis* (Ulvophyceae), zahrnující v současnosti jediný akceptovaný druh *P. botryoides* (Guiry & Guiry 2023), jehož sekvence byly v hojné

míře zachyceny i na lokalitě Vinařice. Jednalo se tam o absolutně nejběžnější součást půdních společenstev. Tento druh tvořící rozpadavá pseudovlákna bývá součástí stojatých i tekoucích vod (Hodač et al. 2015; Škaloud et al. 2018), povrchů ledovců, kde však výrazněji prosperuje jen po dodání dusíku (Darcy & Schmidt 2016), a extrémně chladných oblastí (Schmidt & Darcy 2015). Přestože byl zaznamenán jako jedna z komponent biologických půdních krust (Weber, Büdel & Belnap 2016), v článcích o diverzitě půdních řas tento druh většinou chybí (Büdel et al. 2009; Flechtner et al. 2008; Patova & Novakovskaya 2018; Samolov et al. 2020; Zancan, Trevisan & Paoletti 2006), a neobjevuje se ani při použití NGS metod (Stewart et al. 2021). V půdě byly detekovány i některé recentně popsané rody (např. *Laetitia*, Malavasi et al. 2022), což jen dále poukazuje na to, že naše porozumění půdnímu prostředí je stále velmi limitované.

Půda byla také jediným typem habitatu, ve kterém nedominoval rod *Trebouxia*. Vyskytoval se zde velmi vzácně a tvořil méně než jedno procento všech readů zelených řas. Toto zjištění je poměrně překvapující, protože výskyt tohoto rodu v půdě byl v minulosti zaznamenán nejen pomocí NGS metod (Metz et al. 2019; Stewart et al. 2021; Vančurová et al. 2020), ale mnohokrát i morfologicky (Büdel et al. 2009; Cameron 1960; Dirborne & Ramanujam 2017; Flechtner et al. 2008; Garraza et al. 2011; Novakovskaya et al. 2020; Škaloud 2009). *Trebouxia* je zároveň fotobiontem mnoha druhů terikolních lišejníků (např. někteří zástupci rodů *Psora*, *Thamnolia*, *Cetraria*, *Cetrariella, Flavocetraria,* Nelsen & Gargas 2009; Ruprecht, Brunauer & Türk 2014; Leavitt et al. 2015; Xu et al. 2020). Na lokalitě se však žádný takový druh lišejníku nevyskytoval. Vančurová et al. 2020 naopak ve své studii jeden z těchto druhů nalezli (*Cetraria ericetorum*) a relativní abundance rodu *Trebouxia* zde byly na některých lokalitách v půdě výrazně vyšší. Podobný jev popisují i Novakovskaya et al. 2020, podle kterých se některé druhy fotobiontů řas vyskytovaly pouze na lokalitách dominovaných lišejníky. V souladu s tvrzeními některých autorů (Ahmadjian 1988; Sanders 2005) je tedy možné, že u tohoto rodu existuje jistá míra závislosti na blízkosti mykobionta, a volně žijící populace jsou bez jeho přítomnosti jen velmi malé a efemerní.

Přes velký nárůst ve využití NGS metod v aerobiologii (Câmara et al. 2023; de Groot et al. 2021; Woo et al. 2013) se jen velmi málo těchto prací zaměřuje na diverzitu řas (Sherwood et al. 2017; Sherwood, Wade & Conklin 2020). Sherwood et al. 2017 a Sherwood Wade & Conklin 2020 využili pro charakterizaci vzdušného mikrobiomu Havajských ostrovů Illumina metabarcoding s využitím univerzálních plastidových primerů. Tímto přístupem se jim však podařilo získat jen velmi limitované množství OTU patřících zeleným řasám – většinu jejich pozorování tvořily sinice, což je typické právě pro tropické oblasti (Sharma et

al. 2007). Výsledky této práce, zastoupením jednotlivých tříd jakož i celkovou diverzitou, naopak dobře odpovídaly výsledkům Tesson & Šantl-Temkiv 2018. V jejich vzorcích odebraných ze sněhu (Švédsko) a dále charakterizovaných pomocí ITS rDNA naprosto dominovali zástupci třídy Trebouxiophyceae (40 ze 46 chlorophytních kmenů). Zbývající kmeny náležely však pouze do třídy Chlorophyceae.

Dominantní druh výše zmíněné studie (*Desmococcus olivaceus*), však v této práci nebyl ve vzduchu vůbec zachycen. Vzdušná společenstva byla naopak zcela ovládána rodem *Trebouxia*, který byl ve vzduchu zaznamenán v množství studií jako poměrně častý (Genitsaris et al. 2011; Sherwood et al. 2020; Tesson & Šantl-Temkiv 2018). Podle metabarcoding studie provedené ve Španělsku se rod *Trebouxia* vyskytoval ve vzduchu zejména v zimním období (Cáliz et al. 2018). Velmi vysoké relativní abundance tohoto rodu byl zaznamenány i v zimě 2022 v této práci. Genitsaris, Moustaka-Gouni & Kormas 2011 naopak tento rod zachytili pouze na jaře. Vzhledem k použití velmi různorodých metodik napříč články jsou však sezonní rozdíly jen velmi těžko interpretovatelné.

Rod *Trebouxia* však nepřevládal jen ve vzduchu. V této práci se ukázal nejen jako nejčastější endosymbiont lišejníků, ale i jako jedna z hlavních komponent kortikolních i saxikolních řasových společenstev spolu s některými dalšími rody zahrnujícími převážně fotobionty lišejníků (*Symbiochloris*). Fotobionti tak pravděpodobně představují nejběžnější řasy, se kterými se dennodenně setkáváme. Podobné výsledky přinesly i jiné studie využívající environmentálního sekvenování (Dreyling et al. 2022; Stewart et al. 2021), což je zcela v rozporu s mnoha staršími i recentními pracemi, které existenci volně žijících populací fotobiontů nepřestávají zpochybňovat (Ahmadjian 1967, 1988, 2001; Gärtner & Stoyneva 2003; Novakovskaya et al. 2020). Tato zjištění tak dále podtrhávají nutnost dalšího studia populací fotobiontů uvnitř lišejníkových stélek i mimo ně s nasazením nekultivačních technik.

6.2 Na stopě zdrojům symbiotických řas

Je až s podivem, že o organismech, které mohou tvořit hlavní složku terestrických řasových společenstev a organismech, které pokrývají až 10 % planety a dominují hned v několika typech ekosystémů (Nash 1996), víme stále jen velmi málo. Jendou z dosud nezodpovězených otázek je způsob získávání fotosyntetizujících partnerů mykobionty (Beck et al. 1998; Cardós et al. 2019; Peksa et al. 2022; Vančurová et al. 2020; Zúñiga et al. 2017).

Zatímco pro sexuálně se množící druhy je dostupnost symbiotických partnerů v okolí naprosto zásadní, asexuální druhy na jejich přítomnosti závislé nejsou (Cao et al. 2015).

Přesto bychom měli být schopni detekovat symbionty asexuálních lišejníků v jejich blízkosti – ať už ve formě rozptýlených propagulí, nebo volně žijících buněk (Doering & Piercey-Normore 2009; Marshall 1996). Tento předpoklad se však u víc než poloviny druhů řas asociujících na lokalitě výhradně s asexuálními druhy lišejníků (*Symbiochloris* sp. 12, *Asterochloris friedlii*, *A. gaertnerii*, *Trebouxia* sp. I10 *T.* sp. I11, *T.* sp. I12, *T.* sp. I7) a u jednoho druhu vázaného na lišejník využívající oba způsoby rozmnožování zároveň (*A. glomerata*), nepotvrdil. Tyto druhy nebyly nikdy zachyceny mimo lišejníkové stélky, a to ani tehdy, zahrneme-li do srovnání i data z širšího okolí lokality. Popsaní zástupci nebyli dokonce, s výjimkou jednoho nálezu druhu *A. glomerata*, v prostředí detekováni ani v NGS studiích zaměřených na řasovou diverzitu (Fonseca et al. 2022; Metz et al. 2019; Stewart et al. 2021; Vančurová et al. 2020). Druhy *A. friedlii* a *A. gaertnerii* navíc asociují téměř výhradně s asexuálními druhy lišejníků (Kosecka et al. 2021; Škaloud et al. 2015), zejména pak s pravděpodobně zcela sterilním, běžným rodem *Lepraria* množícím se pomocí rozpadu jeho sorediózní stélky (Lendemer 2011). Metabarcodingem směsných vzorků lišejníkových stélek bylo detekováno hned několik dalších druhů řas, které se nevyskytovaly nikdy mimo lišejníkové stélky. Jednalo se zejména o zástupce převážně symbiotických rodů (*Trebouxia*, *Asterochloris*, *Symbiochloris*). Vzhledem k tomu, že tyto druhy nebyly v lišejnících zachyceny pomocí Sangerova sekvenování je možné, že v lišejníkových stélkách plnily roli tzv. „přídatných symbiontů“ (Voytsekhovich & Beck 2016). Některé z těchto linií jsou tak pravděpodobně vysoce specializované na symbiotický způsob života a netvoří běžně volně žijící populace. V prostředí okolo lišejníků pak nemusí být detekovány např. proto, že mimo lišejníkové stélky se dostávají jen v podobě klonálních propagulí, jejichž schopnost šíření může být jen velmi omezená (Ronnas et al. 2017).

Všechny druhy lišejníkových řas jsou dnes považovány za fakultativní symbionty (Sanders & Masumoto 2021). Ve skutečnosti však možná tvoří kontinuum, kdy na jedné straně extrému stojí zcela nezpochybnitelně samostatně žijící druhy a na straně druhé obligátní symbionti lišejníků, již se v přírodě mimo stélku vyskytují pouze v podobě klonálních propagulí. Do první skupiny bychom mohli řadit běžné, „plevelné“ aerofytické druhy patřící často k jinému řádu než Trebouxiales, které ochotně asociují se sexuálními druhy lišejníků. Mezi ně můžeme řadit např. druh *Diplosphaera chodatii*. Další skupinu „nezpochybnitelných symbiotických oportunistů“ by mohly tvořit makroskopické druhy fotobiontů vodních či „hraničních lišejníků“, které lichenizací nápadně mění svoji morfologii či anatomii. Jejich existenci ve volně žijícím stavu tak lze bez problému dokázat (např. rody *Prasiola* a *Blidingia*, shrnuto ve Veselá, Malavasi & Škaloud 2023). Do skupiny druhé by pak patřily řasy (pravděpodobně jen rody *Trebouxia* či *Asterochloris*) specializující

se na soužití se striktně asexuálními lišejníky, které možná zcela ztratily schopnost tvořit samostatně žijící populace (*A. gaertnerii, A. friedlii*). Prostor mezi nimi by pak mohly vyplňovat některé druhy na symbiotický styl života specializovaných rodů *Trebouxia* a *Asterochloris*, více či méně závislé na přítomnosti kompatibilních mykobiontů na lokalitě. Úniky těchto řas ze stélek by mohly „krmit" jejich malé a efemerní volně žijící populace. Příkladem by mohly být druhy *T. gelatinosa* a *A. magna*, které se na lokalitě mimo lišejníky vyskytovaly jen v nepatrných množstvích.

Naopak všechny druhy endosymbiontů preferujících sexuální lišejníky se podařilo detekovat zároveň i na substrátech v okolí stélek. V některých případech byli dokonce potenciální endosymbionti na substrátech poměrně běžní a patřili zde k hlavním komponentám řasových společenstev (např. *Trebouxia decolorans* na kůře, *Diplosphaera chodatii* na kamenech). V jiných případech se endosymbiotické řasy vyskytovaly dokonce v sexuálních i asexuálních druzích zároveň a mohly tak tvořit tzv. lišejníkové guildy (Rikkinen 2003). Příkladem může být velmi diverzifikované seskupení převážně sexuálních lišejníků, které na skalkách a kamenech sdílelo jediný genotyp fotobionta (*T. incrustata*), který se zároveň vyskytoval i vně lišejníkových stélek. V těchto případech by tak klíčící ascospora lišejníku teoreticky neměla mít problém opatřit si vhodného symbionta z okolního prostředí podobným způsobem, jaký popisuje např. Sanders 2014.

Jindy však symbiotické řasy byly na substrátech velice vzácné, což odpovídá výsledkům hned několika dalších prací využívajících metabarcoding (Černajová et al. 2023; Vančurová et al. 2020). Spory mykobiontů využívající tyto extrémně vzácné druhy řas tak pravděpodobně musí umět přečkat na substrátu delší období bez symbiotického partnera, případně přežívat na suboptimálních zdrojích živin (Etges & Ott 2001; Gaßmann & Ott 2000). Další možností je produkce velkého množství askospor, která může zvýšit úspěšnost uchycení lišejníku (Dettki, Klintberg & Esseen 2000). Šance na uchycení zvyšuje u některých lišejníků i rapidní, neorientovaný růst mycelia klíčící askospory, které je tak schopno rychle pokrýt určitou část substrátu (Ott 1987). Lišejníkem, u kterého bylo původně zaznamenáno toto chování je extrémně úspěšný a široce rozšířený eutrofofilní druh *Xanthoria parietina*, který se na lokalitě vyskytoval jak na borce stromů, tak i na kamenech. Tento druh překvapivě vykazuje poměrně vysokou míru specificity a asociuje pravděpodobně jen se dvěma druhy fotobiontů (Beck et al. 1998; Beck & Mayr 2012; Nyati, Werth & Honegger 2013). Na lokalitě Vinařice na obou typech substrátů asocioval pouze s jedním z druhů (*T. decolorans*), který byl na kamenech velmi vzácný. Druhý možný symbiotický partner (*T. arboricola*) nebyl na lokalitě vůbec detekován a možnost

nepohlavního rozmnožování je u tohoto druhu lišejníku vzhledem k absenci genetické diferenciace populací nepravděpodobná (Wyczanska et al. 2023). Schopnost mistrně ovládat všechny výše zmíněné strategie zvyšující šanci nalezení symbionta je tak možná jednou z hlavních příčin enormního úspěchu tohoto druhu.

Mnoho druhů fotobiontů asexuálních i sexuálních lišejníků se podařilo zachytit zároveň i ve vzduchu – často v nezanedbatelném množství. Šíření řasových buněk vzduchem by tak mohlo sexuálním druhům lišejníků skutečně umožňovat kolonizaci nových substrátů i bez přímé asistence „core species“, jak navrhují Peksa et al. 2022. Na dalším udržování těchto populací by se pak mohly podílet náhodné úniky buněk ze stélek těchto lišejníků (Peksa et al. 2022). Podobnou funkci by však teoreticky mohl plnit i kontinuální přísun řasových buněk umožněný jejich efektivním přenosem vzduchem, zejména vezmeme-li v potaz obdivuhodné „vychytávací“ schopnosti lišejníků. Teoreticky by mohl umožňovat dlouhodobou kolonizaci i těch substrátů, které vybočují z optima symbiotické řasy. Tento proces má však patrně jen limitovaný efekt, jak uvedu na následujícím příkladu.

Trebouxia decolorans je velmi běžná a téměř všudypřítomná řasa. Byla zdokumentována v mnoha lišejnících rostoucích od Evropy až po Severní Ameriku a je velmi „nevybíravá“ jak ve vztahu k různým druhům mykobiontů, tak i ve vztahu k různým typům substrátů (Nyati et al. 2013; Peksa et al. 2022; Werth & Sork 2014). Existují četné záznamy o jejím výskytu na skalách, na kůře i ve vzduchu (Nyati et al. 2013; Peksa et al. 2022; Tesson & Šantl-Temkiv 2018; Voytsekhovich & Beck 2016). Druh byl pozorován na tenkých řezech kůry stromů (Bubrick, Galun & Frebsdorff 1984), a dokonce na fasádě panelového domu v Ostravě (Vojtková 2017), a to ve volně žijícím stavu. Na lokalitě Vinařice se tento druh vyskytoval hojně na kůře (ve stélkách i mimo ně) i ve vzduchu, kde patřil dokonce k nejčastějším druhům. Na kamenitých substrátech byl však extrémně vzácný a jeho výskyt se zde omezoval pouze na sublokalitu VIN2, kde byl přítomen i v několika sexuálních druzích lišejníků. Zatímco na sublokalitě VIN2 vzduch teoreticky mohl „sytit“ místní lišejníky přísunem symbiontů z kůry, na sublokalitě VIN1 se tento efekt neprojevil, přestože na okolních stromech a pravděpodobně i ve vzduchu byl druh přítomen.

Je tedy pravděpodobné, že i přes možnost efektivního transportu obou symbiontů vzduchem hrají v procesu jejich uchycování na nové lokalitě velkou roli např. i drobné environmentální rozdíly, které oba partneři patrně citlivě sledují.

6.3 O původu řasových bioaerosolů

Výskyt řas ve vzduchu může mít řadu ekonomických, environmentálních i zdravotních dopadů, z nichž většina je z pohledu člověka nežádoucí (Tesson, Skjøth & Šantl-temkiv 2016). Proto je překvapující, že jen málo studií si kladlo za cíl vypátrat jejich původ (Bálint et al. 2014; Brown, Larson & Bold 1964; Carson & Brown 1976; Chu, Tneh & Ambu 2013; Genitsaris et al. 2011; Sharma, Singh & Rai 2006). Většina z nich se navíc soustředila spíše na půdu (Brown et al. 1964; Carson & Brown 1976; Sharma, Singh & Rai 2006) a vodní tělesa (Genitsaris et al. 2011; Sharma, Singh & Rai 2006), která jsou dodnes považována za hlavní zdroj řasových bioaerosolů (Sharma et al. 2007). Sharma, Singh & Rai 2006 např. uvádí, že 53 % řas v ovzduší indického Váránasí pochází z půdy a zbývající část převážně z vodního zdroje. Výraznou korelaci diverzit vzduchu a očekávaného zdroje tyto studie však mnohdy neprokázaly (Carson & Brown 1976; Genitsaris et al. 2011). Kůra byla naopak v recentním review označena za zdroj jen velmi nepravděpodobný (Sahu & Tangutur 2015). Výsledky této práce těmto hypotézám příkře odporují – dle druhového složení, relativních abundancí i dalších parametrů jsou řasy do vzduchu emitovány převážně právě z borky stromů, zejména pak z na ní rostoucích lišejníkových stélek. Vodní organismy pak ve vzduchu nebyly zaznamenány vůbec, což je vzhledem k absenci vodních ploch v blízkosti lokality (několik drobných nádrží se vyskytuje v okruhu dvou km od lokality) a neschopnosti těchto organismů snášet desikaci (Tesson & Šantl-Temkiv 2018), očekávatelné.

Srovnání diverzity řas v aeroplanktonu a širším okolí lokality nepřineslo důkaz o vlivu vzdálenosti anebo směru na diverzitu řas v aeroplanktonu. Pouze dva ze 44 taxonů vyskytující se ve vzduchu nebyly nalezeny nikdy na studované lokalitě v okruhu 300 m od vzorkovače vzduchu. Je tedy pravděpodobné, že tyto dva druhy na lokalitu „přicestovaly“ ze vzdálenějších zdrojů. Lišejníky byly naopak během srovnání potvrzeny jako důležitý zdroj vzduchem přenášených řas nejen na základě podobnosti s vzorky lišejníkových stélek, ale i na základě několika přímých morfologických pozorování soredií. Srovnání našich výsledků s dalšími pracemi však vzhledem k použití unikátní metodiky není snadné. Morfologická pozorování u článků zaměřených na řasovou diverzitu většinou chybí (Chu et al. 2013; North & Davis 1988; Rosas, Roy-Ocotla & Mosiño 1989; Sherwood et al. 2017; Sherwood, Conklin & Liddy 2014; Sherwood et al. 2020; Singh et al. 2018), přesto jsou v nich velmi často zaznamenávány běžné druhy fotobiontů lišejníků (zejména rod *Trebouxia*; Brown, Larson & Bold 1964; Genitsaris, Moustaka-Gouni & Kormas 2011; Singh, Wade & Sherwood 2018; Tesson & Šantl-Temkiv 2018; Sherwood, Wade & Conklin 2020). Nechybí ani záznamy o pozorování soredií (Armstrong 1987; Marshall & Chalmers

1997; Tormo et al. 2001), které mohou být všudypřítomnou (Harmata & Olech 1991) a naprosto dominantní složkou aeroplanktonu, která dokonce početně převažuje propagule vyšších rostlin i aposymbiotické propagule lišejníků (Marshall & Convey 1997). Zdá se tedy, že vegetativní propagule lišejníků mohou být poměrně účinným a běžným prostředkem šíření řas. Vzhledem k tomu, že jsou k šíření vzduchem uzpůsobené a oddělují se od lišejníkových stélek velmi snadno i při nižších rychlostech větru (Bailey 1966; Pyatt 1973) tak mohou být ve vzduchu hojnější než volně žijící aeroterestrické řasy, které jsou k substrátu mnohdy pevně přirostlé a k jejich osvobození je pravděpodobně třeba silnější mechanický impulz (Sahu & Tangutur 2015) např. v podobě tření povrchů o sebe při silném větru, či disturbancí spojených s pohybem živočichů a lidskou činností. Těsné přimknutí řas k substrátu by mohlo zároveň vysvětlovat raritní výskyt vláknitých forem hustě porůstajících borku stromů ve vzduchu.

Dominance kortikolních řas v aeroplanktonu má několik možných vysvětlení. Kromě toho, že velká část řas pravděpodobně „cestuje“ v podobě symbiotických propagulí pocházejících z všudypřítomných a mohutné nárosty vytvářejících stélek epifytických lišejníků, může hrát roli i „startovací výška“ těchto částic, která představuje důležitý faktor např. i při šíření semen vyšších rostlin. Platí zde jednoduchý vztah – čím vyšší rostlina je, tím dále její propagule dolétnou (Soons et al. 2004; Tamme et al. 2014). Výška startu dokonce má podle některých studií větší význam než hmotnost propagule (Thomson et al. 2011) a může mít také vliv na dobu setrvání částice „na cestě“ (Wilkinson et al. 2012). Roli by mohlo hrát i rychlejší vysychání povrchu kůry ve srovnání s půdou. Aerosolizace řasových částic je totiž významně negativně korelována s relativní vlhkostí a srážkami (Schlichting 1969; Sharma, Rai & Singh 2006; Tormo et al. 2001) a šíření i osvobozování soredií z mateřských stélek je rovněž mnohem efektivnější při startu ze suchého substrátu (Bailey 1966).

Ani tyto body však dostatečně uspokojivě nevysvětlují raritní výskyt typicky půdních taxonů ve vzduchu. Bezprostřední okolí lokality je ovlivňováno zemědělskou technikou, jejíž činnost (spolu s mnoha dalšími antropogenními aktivitami) způsobuje masivní uvolňování a šíření půdních částic v podobě prachu (Baker, Southard & Mitchell 2005; Goossens, Gross & Spaan 2001), ale zároveň i zde přítomných organismů, což je jev známý již bezmála dvě století (Darwin 1846). Efekt se nejsilněji projevuje za suchého počasí (Schlichting 1969; Naveen K. Sharma, Rai & Singh 2006; Tormo et al. 2001), o které však na této v podstatě stepní lokalitě nebývá nouze (Štefánek 2006). Intenzivní uvolňování půdních a řasových částic do okolí by tak mělo na lokalitě nastat minimálně několikrát ročně. Výskyt pro danou lokalitu typicky půdních taxonů (tzn. nebyly vůbec zaznamenány na jiných substrátech) ve

vzduchu (*Pseudendocloniopsis botryoides*, „Chlorophyceae 5“) by tak měl být pouze občasný a korelovat s obdobím zemědělských prací, což se u těchto druhů potvrzuje.

Vzácnost půdních druhů ve vzorcích vzduchu by mohly vysvětlit i fyziologické rozdíly. Různé typy prostředí přináší pro řasová společenstva různé typy výzev. Jednou ze základních charakteristik odlišujících jednotlivé typy substrátů je jejich schopnost zadržet vodu, kterou tyto organismy citlivě sledují (Štifterová & Neustupa 2015). I blízce příbuzné linie pocházející z odlišných prostředí se tak mohou velmi lišit ve své odpovědi na desikační stres (Gray, Lewis & Cardon 2007). Lze tedy předpokládat, že kortikolní společenstva budou např. oproti těm půdním daleko lépe adaptovaná na vysoušení, které nevyhnutelně provází transport živých částic vzduchem (Tesson & Šantl-Temkiv 2018). Významné zastoupení trebouxiophytních řas ve vzduchu pozorované i v dalších pracích (Tesson & Šantl-Temkiv 2018) lze vysvětlit jejich zvýšenou rezistencí zapříčiněnou schopností produkce polyolů (Gustavs, Görs & Karsten 2011). Touto schopností však disponují i kortikolní řasy z jiných tříd – např. *Trentepohlia/Printzina* (Ulvophyceae). Schopnost snášet desikaci je u nich však oproti dalším kortikolním druhům nižší, což by mohlo vysvětlovat jejich nižší zastoupení ve vzorcích vzduchu ve srovnání s kůrou (Holzinger & Karsten 2013; Lüttge & Büdel 2010). Velmi výraznou odolnost k vysoušení pak vykazují fotobionti lišejníků, kteří jej dokáží snášet i v kombinaci s působením světla (Lange et al. 2006; Wieners, Mudimu & Bilger 2012). Tato vlastnost by mohla vysvětlovat jejich převahu na substrátech vystavených největší míře desikace (kůra, kámen) a zároveň vysvětlovat výrazně větší zastoupení fotobiontů na plastových krycích sklíčkách oproti okolní půdě.

Na tomto místě je také třeba zmínit možný negativní vliv námi zvoleného způsobu sběru vzorků. Téměř nepřetržitý průtok vzduchu filtry mohl vést k jejich dalšímu vysoušení a teoreticky i další ztrátě informací o méně rezistentních druzích. Pro vyloučení této možnosti by bylo vhodné srovnat výsledky získané touto metodou s výsledky získané jinou metodou spoléhající na pasivní „odchyt“ částic, např. pomocí postupu popsaného v Sherwood, Wade & Conklin 2020.

Desikaci odolné taxony vyskytující se mj. i ve vzduchu s velkou pravděpodobností nejsou naopak schopny uspět v půdě. Příčinou může být jejich neschopnost snášet dlouhodobé zamokření, které omezuje příjem CO_2 nejen u volně žijících (Bertsch 1966; Szyja, Büdel & Colesie 2018), ale i u lichenizovaných řas (Lange et al. 2006). Organismy obývající půdu však vykazují jen nepatrný pokles příjmu CO_2, který se navíc dostavuje se zpožděním (Szyja et al. 2018). Absence či rarita půdních řas ve vzduchu pak pravděpodobně způsobuje jen velmi neefektivní a pomalou kolonizaci nových prostředí touto cestou. Sterilizovaný blok

půdy byl tak v našem případě pravděpodobně kolonizován jinými způsoby např. pomocí pohybu zvířat (Revill, Stewart & Schlichting 1967; Solarz et al. 2020) a lidí, energie dodané částicím kapkami deště (Sahu & Tangutur 2015) či aktivního pohybu buněk s využitím bičíků nebo jinými způsoby (Banerjee, Bandopadhyay & Shukla 2012; Cardon et al. 2022).

7 Závěr

Velmi důkladným průzkumem diverzity zelených řas ve všech jejich potenciálních aeroterestrických habitatech, jehož rozsah pravděpodobně nemá v oboru obdoby, se s využitím metabarcodingu a Sangerova sekvenování ITS rDNA podařilo získat 1313 OTU, které bylo dále možné přiřadit ke 283 liniím na úrovni druhu. Mnoho z těchto linií však nebylo možné zařadit k žádnému popsanému druhu ani rodu, což poukazuje na to, že naše znalosti o diverzitě těchto organismů jsou stále velmi limitované. Chybí pak zejména u půdních zástupců třídy Chlorophyceae. Jednotlivé typy prostředí vykazovaly velmi kontrastní druhová složení. Nejvíce se odlišovala půda, která byla zároveň jediným habitatem, ve kterém nepřevládaly druhy známé z lišejníkových stélek.

Významné rozdíly mezi druhy endosymbiotických řas spolupracujících s asexuálními a sexuálními druhy lišejníků pak byly zaznamenány při srovnávání jejich výskytu v okolí lišejníkových stélek. Zatímco druhá skupina fotobiontů byla v okolí přítomna vždy, řasy patřící ke druhé skupině zde mnohdy zcela chyběly. Domníváme se proto, v rozporu se v současnosti akceptovanou hypotézou, že ne všechny lišejníkové řasy představují fakultativní symbionty. Jedná se spíše o celou škálu životních stylů od zcela závislých, obligátních symbiontů po hojné, volně žijící druhy. Celkem 13 z 25 nalezených dominantních endosymbiotických řas se vyskytovalo i v aeroplanktonu. Vzduch tak pravděpodobně představuje účinné transportní médium fotobiontů, které lišejníkům umožňuje kolonizaci dosud neobsazených substrátů. Vzhledem k efektivním adaptacím lišejníků na „vychytávání“ i velmi vzácných genotypů řas z prostředí by mohl teoreticky sloužit jako zdroj i tam, kde se symbiotické řase ve volně žijícím stavu nedaří. Nejdůležitějším zdrojem řasových bioaerosolů jsou pravděpodobně řasy rostoucí na borce stromů, zejména pak ve stélkách epifytických lišejníků. Šíření těchto řas vzduchem nejspíš umožňuje větší výška startu, jejich snadnější uvolňování do okolí a jejich neobyčejná odolnost.

Fotobionti lišejníků jsou naprosto dominující a zároveň velmi diverzifikovanou složkou terestrických řasových společenstev. Jedná se zcela nepochybně o jedny z nejběžnějších řas, se kterými se, většinou nevědomky, dennodenně setkáváme, dotýkáme se jich a dokonce je i dýcháme. Tato práce, v mnoha ohledech první svého druhu, přináší poznatky rozšiřující naše vědomosti o těchto důležitých organismech a zároveň podněty k dalšímu výzkumu.

8 Seznam literatury

Abbey, E. 1992. The Brave Cowboy: An Old Tale in a New Time by Edward Abbey. Avon Books.

Ahmadjian, V. 1967. 'A Guide to the Algae Occurring as Lichen Symbionts : Isolation, Culture, Cultural Physiology, and Identification'. *Phycologia* 6(2/3):127–60.

Ahmadjian, V. 1988. 'The Lichen Alga Trebouxia: Does It Occur Free-Living?' *Plant Systematics and Evolution* 158(2–4):243–47. doi: 10.1007/BF00936348.

Ahmadjian, V. 1993. *The Lichen Symbiosis*. John Wiley & Sons.

Ahmadjian, V. 1995. 'Lichens Are More Important than You Think'. BioScience 45(3):124–124. doi: 10.1093/bioscience/45.3.124.

Ahmadjian, V. 2001. 'Trebouxia: Reflections on a Perplexing and Controversial Lichen Photobiont'. Pp. 373–83 in *Symbiosis*, editor J. Seckbach. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Ahmadjian, V., & Jacobs J. B.. 1981. 'Relationship between Fungus and Alga in the Lichen Cladonia Cristatella Tuck'. *Nature* 289(5794):169–72. doi: 10.1038/289169a0.

Allen, J. L., & J. C. Lendemer. 2022. 'A Call to Reconceptualize Lichen Symbioses'. *Trends in Ecology & Evolution* 37(7):582–89. doi: 10.1016/j.tree.2022.03.004.

Anderson, J., N. Lévesque, F. Caron, P. Beckett, & G. A. Spiers. 2022. 'A Review on the Use of Lichens as a Biomonitoring Tool for Environmental Radioactivity'. *Journal of Environmental Radioactivity* 243:106797. doi: 10.1016/J.JENVRAD.2021.106797.

Anon. 2023. 'Geologická Mapa 1 : 50 000'. *Geovědní Mapy 1 : 50 000*. Retrieved 2 April 2023 (https://mapy.geology.cz/geocr50/#).

Armaleo, D., O. Müller, F. Lutzoni, Ó. S. Andrésson, G. Blanc, H. B. Bode, F. R. Collart, F. Dal Grande, F. Dietrich, I. V. Grigoriev et al. 2019. 'The Lichen Symbiosis Re-Viewed through the Genomes of Cladonia Grayi and Its Algal Partner Asterochloris Glomerata'. *BMC Genomics* 20(1):1–33. doi: 10.1186/s12864-019-5629-x.

Armstrong, R. A. 1981. 'Field Experiments on the Dispersal, Establishment and Colonization of Lichen on a Slate Rock Surface'. *Environmental and Experimental Botany* 21:115–20.

Armstrong, R. A. 1986. 'Competition between Three Lichen Species Using a Factorial Experimental Design'. *New Phytologist* 104(4):637–41. doi: 10.1111/J.1469-8137.1986.TB00664.X.

Armstrong, R. A. 1987. 'Dispersal in a Population of the Lichen Hypogymnia Physodes'. *Environmental and Experimental Botany* 27(3):357–63. doi: 10.1016/0098-

8472(87)90046-3.

Armstrong, R. A. 1990. 'Dispersal, Establishment and Survival of Soredia and Fragments of the Lichen, Hypogymnia Physodes (L.) Nyl'. *New Phytologist* 114(2):239–45. doi: 10.1111/J.1469-8137.1990.TB00396.X.

Armstrong, R. A. 1991. 'The Influence of Climate on the Dispersal of Lichen Soredia'. *Eavironmentat and Experimental Botany* 31(2):293.245.

Armstrong, R. A. 2017. 'Adaptation of Lichens to Extreme Conditions'. Pp. 1–27 in *Plant Adaptation Strategies in Changing Environment*, editor V. Shukla, S. Kumar, & N. Kumar. Springer Singapore.

Asplund, Johan, & David A. Wardle. 2017. 'How Lichens Impact on Terrestrial Community and Ecosystem Properties'. *Biological Reviews* 92(3):1720–38. doi: 10.1111/BRV.12305.

Athukorala, Sarangi N. P., Erwin Huebner, & Michele D. Piercey-Normore. 2014. 'Identification and Comparison of the 3 Early Stages of Resynthesis for the Lichen Cladonia Rangiferina'. *Canadian Journal of Microbiology* 60(1):41–52. doi: 10.1139/cjm-2013-0313.

Bačkor, Martin, Ondřej Peksa, Pavel Škaloud, & Miriam Bačkorová. 2010. 'Photobiont Diversity in Lichens from Metal-Rich Substrata Based on ITS RDNA Sequences'. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73(4):603–12. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.11.002.

Bailey, R. H. 1966. 'Studies on the Dispersal of Lichen Soredia'. *Journal of Linnean Soiciety* 59:479–90. doi: 10.1136/jcp.18.1.16.

Bailey, R. H., & P. W. James. 1979. 'Birds and the Dispersal of Lichen Propagules'. *The Lichenologist* 11(1):105–6.

Baker, J. B., R. J. Southard, & J. P. Mitchell. 2005. 'Agricultural Dust Production in Standard and Conservation Tillage Systems in the San Joaquin Valley'. *Journal of Environmental Quality* 34(4):1260–69. doi: 10.2134/JEQ2003.0348.

Bálint, Miklós, Philipp André Schmidt, Rahul Sharma, Marco Thines, & Imke Schmitt. 2014. 'An Illumina Metabarcoding Pipeline for Fungi'. *Ecology and Evolution* 4(13):2642–53. doi: 10.1002/ece3.1107.

Banerjee, Chiranjib, Rajib Bandopadhyay, & Pratyoosh Shukla. 2012. 'A Simple Novel Agar Diffusion Method for Isolation of Indigenous Microalgae Chlamydomonas Sp. CRP7 and Chlorella Sp. CB4 from Operational Swampy Top Soil'. *Indian Journal of Microbiology* 52(4):710–12. doi: 10.1007/S12088-012-0295-6/FIGURES/2.

Barberousse, Hélène, Ruben J. Lombardo, Guillermo Tell, & Alain Couté. 2006. 'Factors

Involved in the Colonisation of Building Façades by Algae and Cyanobacteria in France'. *Biofouling* 22(2):69–77. doi: 10.1080/08927010600564712.

Beck, Andreas, T. Friedl, & G. Rambold. 1998. 'Selectivity of Photobiont Choice in a Defined Lichen Community: Inferences from Cultural and Molecular Studies'. *New Phytologist* 139(4):709–20. doi: 10.1046/j.1469-8137.1998.00231.x.

Beck, Andreas, & Christoph Mayr. 2012. 'Nitrogen and Carbon Isotope Variability in the Green-Algal Lichen Xanthoria Parietina and Their Implications on Mycobiont-Photobiont Interactions'. *Ecology and Evolution* 2(12):3132–44. doi: 10.1002/ece3.417.

Beckett, Richard Peter, Farida Minibayeva, Knut Asbjorn Solhaug, & Thomas Roach. 2021. 'Photoprotection in Lichens: Adaptations of Photobionts to High Light'. *The Lichenologist* 53(1):21–33. doi: 10.1017/S0024282920000535.

Belinchón, Rocio, Rebecca Yahr, & Christopher J. Ellis. 2015. 'Interactions among Species with Contrasting Dispersal Modes Explain Distributions for Epiphytic Lichens'. *Ecography* 38:762–68. doi: 10.1111/ecog.01258.

Bertsch, Andreas. 1966. 'CO2-Gaswechsel Und Wasserhaushalt Der Aerophilen Grünalge Apatococcus Lobatus'. *Planta* 70(1):46–72. doi: 10.1007/BF00539910/METRICS.

Boratyn, Grzegorz M., Christiam Camacho, Peter S. Cooper, George Coulouris, Amelia Fong, Ning Ma, Thomas L. Madden, Wayne T. Matten, Scott D. McGinnis, Yuri Merezhuk, Yan Raytselis, Eric W. Sayers, Tao Tao, Jian Ye, & Irena Zaretskaya. 2013. 'BLAST: A More Efficient Report with Usability Improvements'. *Nucleic Acids Research* 41(Web Server issue). doi: 10.1093/NAR/GKT282.

Bowler, P. A., & P. W. Rundel. 1975. 'Reproductive Strategies in Lichens'. *Botanical Journal of the Linnean Society* 70(4):325–40. doi: 10.1111/j.1095-8339.1975.tb01653.x.

Brandt, Annette, Eva Posthoff, Jean Pierre de Vera, Silvano Onofri, and Sieglinde Ott. 2016. 'Characterisation of Growth and Ultrastructural Effects of the Xanthoria Elegans Photobiont After 1.5 Years of Space Exposure on the International Space Station'. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 46(2–3):311–21. doi: 10.1007/S11084-015-9470-1/FIGURES/4.

Broady, P. A. 1984. 'Taxonomic and Ecological Investigations of Algae on Steam-Warmed Soil on Mt Erebus, Ross Island, Antarctica.' *Phycologia* 23(3):257–71. doi: 10.2216/i0031-8884-23-3-257.1.

Brown, R. Malcolm, Donald A. Larson, and Harold C. Bold. 1964. 'Airborne Algae : Their Abundance and Heterogeneity.' *Science* 143(3606):583–85.

Bubrick, P., M. Galun, & A. Frebsdorff. 1984. ‘Observation on Free-Living Trebouxia de Puymaly and Pseudotrebouxia Archibald, and Evidence That Both Symbionts from Xanthoria Parietina (L.) Th. Fr. Can Be Found Free-Living in Nature’. *New Phytologist* 97(3):455–62.

Bubrick, P., A. Frensdorff, & M. Galun. 1985. ‘Selectivity in the Lichen Symbiosis’. Pp. 319–20 in *Lichen Physiology and Cell Biology*, editor D. H. Brown. New York: Plenum Press.

Büdel, Burkhard, Tatyana Darienko, Kirstin Deutschewitz, Stephanie Dojani, Thomas Friedl, Kathrin I. Mohr, Mario Salisch, Werner Reisser, & Bettina Weber. 2009. ‘Southern African Biological Soil Crusts Are Ubiquitous and Highly Diverse in Drylands, Being Restricted by Rainfall Frequency’. *Microbial Ecology* 57(2):229–47. doi: 10.1007/s00248-008-9449-9.

Buschbom, Jutta. 2007. ‘Migration between Continents: Geographical Structure and Long-Distance Gene Flow in Porpidia Flavicunda (Lichen-Forming Ascomycota)’. *Molecular Ecology* 16(9):1835–46. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03258.x.

Cáliz, Joan, Xavier Triadó-Margarit, Lluís Camarero, & Emilio O. Casamayor. 2018. ‘A Long-Term Survey Unveils Strong Seasonal Patterns in the Airborne Microbiome Coupled to General and Regional Atmospheric Circulations’. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(48):12229–34. doi: 10.1073/pnas.1812826115.

Câmara, Paulo Eduardo Aguiar Saraiva, Fabyano Alvares Cardoso Lopes, Fábio Leal Viana Bones, Luiz Antonio Costa Rodrigues, Micheline Carvalho-Silva, Michael Stech, Peter Convey, & Luiz Henrique Rosa. 2023. ‘Investigating Aerial Diversity of Non-Fungal Eukaryotes across a 40° Latitudinal Transect Using DNA Metabarcoding’. *Austral Ecology* (August 2022):1–17. doi: 10.1111/aec.13332.

Cameron, Roy E. 1960. ‘Communities of Soil Algae Occurring in the Sonoran Desert in Arizona’. *Journal of the Arizona Academy of Science* 1(3):85–88.

Cao, Shunan, Fang Zhang, Chuanpeng Liu, Zhihua Hao, Yuan Tian, Lingxiang Zhu, & Qiming Zhou. 2015. ‘Distribution Patterns of Haplotypes for Symbionts from Umbilicaria Esculenta and U. Muehlenbergii Reflect the Importance of Reproductive Strategy in Shaping Population Genetic Structure’. *BMC Microbiology* 15(1):1–12. doi: 10.1186/s12866-015-0527-0.

Cardon, Zoe G., Elena L. Peredo, Cassidy M. Enloe, John S. Oakey, Shu Zon Wu, & Magdalena Bezanilla. 2022. ‘Slip Slidin’ Away: Bristle-Driven Gliding by Tetradesmus Deserticola (Chlorophyta) in Microfluidic Chambers’. *Journal of*

Phycology 58(4):626–30. doi: 10.1111/JPY.13271.

Cardós, J. L. H., M. Prieto, M. Jylhä, G. Aragón, M. C. Molina, I. Martínez, & J. Rikkinen. 2019. 'A Case Study on the Re-Establishment of the Cyanolichen Symbiosis: Where Do the Compatible Photobionts Come From?' *Annals of Botany* 124(3):379–88. doi: 10.1093/aob/mcz052.

Carslaw, David C., & Karl Ropkins. 2012. 'Openair — An R Package for Air Quality Data Analysis'. *Environmental Modelling & Software* 27–28:52–61. doi: 10.1016/J.ENVSOFT.2011.09.008.

Carson, Johnny, & R. Brown. 1976. 'The Correlation of Soil Algae, Airborne Algae, and Fern Spores with Meteorological Conditions on the Island of Hawaii'. *Pacific Science* 30(2):197–205.

Chrismas, Nathan A. M., Ro Allen, Anita L. Hollingsworth, Joe D. Taylor, & Michael Cunliffe. 2021. 'Complex Photobiont Diversity in the Marine Lichen Lichina Pygmaea'. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 101(4):667–74. doi: 10.1017/S002531542100062X.

Chu, Wan Loy, Shao Yang Tneh, & Stephen Ambu. 2013. 'A Survey of Airborne Algae and Cyanobacteria within the Indoor Environment of an Office Building in Kuala Lumpur, Malaysia'. *Grana* 52(3):207–20. doi: 10.1080/00173134.2013.789925.

Clark, Karen, Ilene Karsch-Mizrachi, David J. Lipman, James Ostell, & Eric W. Sayers. 2016. 'GenBank'. *Nucleic Acids Research* 44(D1):D67–72. doi: 10.1093/NAR/GKV1276.

De Clerck, Olivier, Michael D. Guiry, Frederik Leliaert, Yves Samyn, & Heroen Verbruggen. 2013. 'Algal Taxonomy: A Road to Nowhere?' *Journal of Phycology* 49(2):215–25. doi: 10.1111/jpy.12020.

Cornejo, Carolina, & Christoph Scheidegger. 2016. 'Cyanobacterial Gardens: The Liverwort Frullania Asagrayana Acts as a Reservoir of Lichen Photobionts'. *Environmental Microbiology Reports* 8(3):352–57. doi: 10.1111/1758-2229.12386.

Cubero, Oscar F., & Ana Crespo. 2002. 'Isolation of Nucleic Acids From Lichens'. in *Protocols in Lichenology*, editor I. Kranner, R. Beckett, & A. Varma. Heidelberg: Springer-Verlag.

Černajová, Ivana, Jana Schmidtová, Ulf Schiefelbein, Francesco Dal Grande, & Pavel Škaloud. 2023. 'Niche Expansion through Photobiont Switch: Contrary Evidence from Highly-Selective Seashore Lichen Communities.' [v přípravě]

Černajová, Ivana, & Pavel Škaloud. 2020. 'Lessons from Culturing Lichen Soredia'. Symbiosis 82(1–2):109–22. doi: 10.1007/s13199-020-00718-4.

Černajová, Ivana, & David Svoboda. 2014. 'Lichen Compounds of Common Epiphytic Parmeliaceae Species Deter Gastropods Both in Laboratory and in Central European Temperate Forests'. Fungal Ecology 11:8–16. doi: 10.1016/J.FUNECO.2014.03.004.

ČHMÚ. 2022. 'Historická Data. Denní Data Dle Zákona 123/1998 Sb.' Český Hydrometeorologický Ústav. Retrieved (https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/denni-data/Denni-data-dle-z.-123-1998-Sb).

Dal Grande, F., I. Widmer, H. H. Wagner, & C. Scheidegger. 2012. 'Vertical and Horizontal Photobiont Transmission within Populations of a Lichen Symbiosis'. *Molecular Ecology* 21(13):3159–72. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05482.x.

Dal Grande, Francesco, Andreas Beck, Carolina Cornejo, Garima Singh, Saran Cheenacharoen, Matthew P. Nelsen, & Christoph Scheidegger. 2014. 'Molecular Phylogeny and Symbiotic Selectivity of the Green Algal Genus Dictyochloropsis s.l. (Trebouxiophyceae): A Polyphyletic and Widespread Group Forming Photobiont-Mediated Guilds in the Lichen Family Lobariaceae'. *New Phytologist* 202(2):455–70. doi: 10.1111/nph.12678.

Dal Grande, Francesco, Gregor Rolshausen, Pradeep K. Divakar, Ana Crespo, Jürgen Otte, Matthias Schleuning, & Imke Schmitt. 2018. 'Environment and Host Identity Structure Communities of Green Algal Symbionts in Lichens'. *New Phytologist* 217(1):277–89. doi: 10.1111/nph.14770.

Darcy, J. L., & S. K. Schmidt. 2016. 'Nutrient Limitation of Microbial Phototrophs on a Debris-Covered Glacier'. *Soil Biology & Biochemistry* 95:156–63. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.12.019.

Darienko, Tatyana. 2015. 'SAG 67.80 Chlorosarcinopsis Negevensis'. *Department Experimental Phycology and Culture Collection of Algae (EPSAG), University of Göttingen*.

Darienko, Tatyana, Alena Lukešová, & Thomas Pröschold. 2018. 'The Polyphasic Approach Revealed New Species of Chloroidium (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)'. *Phytotaxa* 372(1):51–66. doi: 10.11646/phytotaxa.372.1.4.

Darienko, Tatyana, & Thomas Pröschold. 2019. 'The Genus Jaagichlorella Reisigl (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) and Its Close Relatives: An Evolutionary Puzzle'. *Phytotaxa* 388(1):47–68. doi: 10.11646/phytotaxa.388.1.2.

Darwin, Charles. 1846. 'An Account of the Fine Dust Which Often Falls on Vessels in the Atlantic Ocean'. *Quarterly Journal of the Geological Society of London* 2(1):26–30. doi: 10.1144/GSL.JGS.1846.002.01-02.09.

Dettki, Holger, Peter Klintberg, & Per-anders A. Esseen. 2000. 'Are Epiphytic Lichens in

Young Forests Limited by Local Dispersal?' *Ecoscience* 7(3):317–25. doi: 10.1080/11956860.2000.11682601.

de Groot, G. Arjen, Stefan Geisen, E. R. Jaspe. Wubs, Liz Meulenbroek, Ivo Laros, L. Basten Snoek, Dennis R. Lammertsma, Lars H. Hansen, & Pieter A. Slim. 2021. 'The Aerobiome Uncovered: Multi-Marker Metabarcoding Reveals Potential Drivers of Turn-over in the Full Microbial Community in the Air'. *Environment International* 154(April):106551. doi: 10.1016/j.envint.2021.106551.

Dirborne, C. M., & Papiya Ramanujam. 2017. 'Diversity and Ecology of Soil Algae in Broadleaf Sacred Grove and Pine Forest in East Khasi Hills, Meghalaya'. *Nelumbo* 59(2):195. doi: 10.20324/nelumbo/v59/2017/120460.

Doering, Matthew, & Michele D. Piercey-Normore. 2009. 'Genetically Divergent Algae Shape an Epiphytic Lichen Community on Jack Pine in Manitoba'. *The Lichenologist* 41(1):69–80. doi: 10.1017/S0024282909008111.

Drew, E. A., & D. C. Smith. 1967. 'Studies in the Physiology of Lichens'. *New Phytologist* 66(3):389–400. doi: 10.1111/J.1469-8137.1967.TB06018.X.

Dreyling, Lukas, Imke Schmitt, & Francesco Dal Grande. 2022. 'Tree Size Drives Diversity and Community Structure of Microbial Communities on the Bark of Beech (Fagus Sylvatica)'. *Frontiers in Forests and Global Change* 5. doi: 10.3389/ffgc.2022.858382.

Edtbauer, Achim, Eva Y. Pfannerstill, Ana Paula Pires Florentino, Cybelli G. G. Barbosa, Emilio Rodriguez-Caballero, Nora Zannoni, Rodrigo P. Alves, Stefan Wolff, Anywhere Tsokankunku, André Aptroot, et al. 2021. 'Cryptogamic Organisms Are a Substantial Source and Sink for Volatile Organic Compounds in the Amazon Region'. *Communications Earth and Environment* 2(1). doi: 10.1038/s43247-021-00328-y.

Elshobary, Mostafa E., Mohamed E. H. Osman, Atef M. Abushady, & Michele D. Piercey-Normore. 2015. 'Comparison of Lichen-Forming Cyanobacterial and Green Algal Photobionts with Free-Living Algae'. *Cryptogamie, Algologie* 36(1):81–100. doi: 10.7872/crya.v36.iss1.2015.81.

Etges, S., & S. Ott. 2001. 'Lichen Mycobionts Transplanted into the Natural Habitat'. *Symbiosis* 30(2–3):191–206.

Ettl, Hanuš, & Georg Gärtner. 2013. *Syllabus Der Boden-, Luft- Und Flechtenalgen*. Springer-Verlag.

Favero-Longo, S. E., S. Sandrone, E. Matteucci, L. Appolonia, and R. Piervittori. 2014. 'Spores of Lichen-Forming Fungi in the Mycoaerosol and Their Relationships with Climate Factors'. *Science of the Total Environment* 466–467:26–33. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.057.

Fernández-Martínez, M. A., A. de los Ríos, L. G. Sancho, & S. Pérez-Ortega. 2013. 'Diversity of Endosymbiotic Nostoc in Gunnera Magellanica (L) from Tierra Del Fuego, Chile'. *Microbial Ecology* 66(2):335–50. doi: 10.1007/s00248-013-0223-2.

Flechtner, Valerie R., Jeffrey R. Johansen, & Jayne Belnap. 2008. 'The Biological Soil Crusts of the San Nicolas Island: Enigmatic Algae from a Geographically Isolated Ecosystem'. *Western North American Naturalist* 68(4):405–36.

Fonseca, Bárbara Medeiros, Paulo Eduardo Aguiar Saraiva Câmara, Mayara Baptistucci Ogaki, Otávio Henrique Bezerra Pinto, Juan Manuel Lirio, Silvia H. Coria, Rosemary Vieira, Micheline Carvalho-Silva, Eduardo Toledo Amorim, et. al. 2022. 'Green Algae (Viridiplantae) in Sediments from Three Lakes on Vega Island, Antarctica, Assessed Using DNA Metabarcoding'. *Molecular Biology Reports* 49(1):179–88. doi: 10.1007/s11033-021-06857-1.

Galun, M. 1988. 'Lichenization'. Pp. 153–69 in *CRC Handbook of Lichenology*, editor M. Galun. Boca Ranton: CRC Press, Inc.

Garraza, G. González, G. Mataloni, P. Fermani, & A. Vinocur. 2011. 'Ecology of Algal Communities of Different Soil Types from Cierva Point, Antarctic Peninsula'. *Polar Biology* 34(3):339–51. doi: 10.1007/s00300-010-0887-8.

Gärtner, G., & M. P. Stoyneva. 2003. 'First Study of Aerophytic Cryptogams on Monuments in Bulgaria'. *Berichte-Naturwissenschaftlich Medizinischen Vereins in Innsbruck* 90:73–82.

Gaßmann, A., & S. Ott. 2000. 'Growth Strategy and the Gradual Symbiotic Interactions of the Lichen Ochrolechia Frigida'. *Plant Biology* 2(3):368–78. doi: 10.1055/s-2000-3711.

Genitsaris, Savvas, Maria Moustaka-Gouni, & Konstantinos A. Kormas. 2011. 'Airborne Microeukaryote Colonists in Experimental Water Containers: Diversity, Succession, Life Histories and Established Food Webs'. *Aquatic Microbial Ecology* 62:139–52. doi: 10.3354/ame01463.

Goossens, Dirk, Jens Gross, & Wim Spaan. 2001. 'Aeolian Dust Dynamics in Agricultural Land Areas in Lower Saxony, Germany'. *Earth Surface Processes and Landforms* 26(7):701–20. doi: 10.1002/ESP.216.

Gravel, Dominique, Marilou Beaudet, & Christian Messier. 2008. 'Partitioning the Factors of Spatial Variation in Regeneration Density of Shade-Tolerant Tree Species'. *Ecology* 89(10):2879–88. doi: 10.1890/07-1596.1.

Graves, Gary R., & Manuela Dal Forno. 2018. 'Persistence of Transported Lichen at a Hummingbird Nest Site'. *Northeastern Naturalist* 25(4):656–61. doi:

10.1656/045.025.0410.

Gray, Dennis W., Louise A. Lewis, & Zoe G. Cardon. 2007. 'Photosynthetic Recovery Following Desiccation of Desert Green Algae (Chlorophyta) and Their Aquatic Relatives'. *Plant, Cell and Environment* 30(10):1240–55. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01704.x.

Grube, Martin, Massimiliano Cardinale, Joo Vieira De Castro, Henry Müller, & Gabriele Berg. 2009. 'Species-Specific Structural and Functional Diversity of Bacterial Communities in Lichen Symbioses'. *ISME Journal* 3(9):1105–15. doi: 10.1038/ismej.2009.63.

Guiry, M. D., & G. M. Guiry. 2023. 'AlgaeBase'. *National University of Ireland, Galway*. Retrieved 1 August 2023 (https://www.algaebase.org/).

Gustavs, Lydia, Manuela Görs, & Ulf Karsten. 2011. 'Polyol Patterns in Biofilm-Forming Aeroterrestrial Green Algae (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)'. *Journal of Phycology* 47(3):533–37. doi: 10.1111/j.1529-8817.2011.00979.x.

Hallmann, Christine, Michael Hoppert, Opayi Mudimu, & Thomas Friedl. 2016. 'Biodiversity of Green Algae Covering Artificial Hard Substrate Surfaces in a Suburban Environment: A Case Study Using Molecular Approaches'. *Journal of Phycology* 52(5):732–44. doi: 10.1111/jpy.12437.

Hamlett, Christopher A. E., Neil James Shirtcliffe, F. Brian Pyatt, Michael I. Newton, Glen McHale, & Kerstin Koch. 2011. 'Passive Water Control at the Surface of a Superhydrophobic Lichen'. *Planta* 234(6):1267–74. doi: 10.1007/s00425-011-1475-z.

Hammer, David A. T., Paul D. Ryan, Øyvind Hammer, & David A. T. Harper. 2001. 'Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis'. *Palaeontologia Electronica* 4(1):178.

Harmata, Krystyna, & Maria Olech. 1991. 'Transect for Aerobiological Studies from Antarctica to Poland'. *Grana* 30(2):458–63. doi: 10.1080/00173139109432009.

Hawksworth, David L., and Martin Grube. 2020. 'Lichens Redefined as Complex Ecosystems'. *New Phytologist* 227(5):1281–83. doi: 10.1111/nph.16630.

Hedenås, Henrik, Patrik Blomberg, & Lars Ericson. 2007. 'Significance of Old Aspen (Populus Tremula) Trees for the Occurrence of Lichen Photobionts'. *Biological Conservation* 135(3):380–87. doi: 10.1016/j.biocon.2006.10.008.

Hedenås, Henrik, & Lars Ericson. 2004. 'Aspen Lichens in Agricultural and Forest Landscapes: The Importance of Habitat Quality'. *Ecography* 27(4):521–31. doi: 10.1111/j.0906-7590.2004.03866.x.

Henderson, A., & D. J. Hackett. 1986. 'Lichen and Algal Camouflage and Dispersal in the

Psocid Nymph Trichadenotecnum Fasciatum'. *The Lichenologist* 18(2):199–200.

Hepperle, D. 2004. 'SeqAssem©. A Sequence Analysis Tool, Contig Assembler and Trace Data Visualization Tool for Molecular Sequences.' (http://www.sequentix.de).

Hestmark, Geir, François Lutzoni, & Jolanta Miadlikowska. 2016. 'Photobiont Associations in Co-Occurring Umbilicate Lichens with Contrasting Modes of Reproduction in Coastal Norway'. *Lichenologist* 48(5):545–57. doi: 10.1017/S0024282916000232.

Hestmark, Geir, Jolanta Miadlikowska, Frank Kauff, Emily Fraker, Katalin Molnar, & François Lutzoni. 2011. 'Single Origin and Subsequent Diversification of Central Andean Endemic Umbilicaria Species'. *Mycologia* 103(1):45–56. doi: 10.3852/10-012.

Hirsch, Penny R., Tim H. Mauchline, & Ian M. Clark. 2010. 'Culture-Independent Molecular Techniques for Soil Microbial Ecology'. *Soil Biology and Biochemistry* 42(6):878–87. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2010.02.019.

Hodač, Ladislav, Nicole Brinkmann, Kathrin I. Mohr, Gernot Arp, Christine Hallmann, & Jessica Ramm. 2015. 'Diversity of Microscopic Green Algae (Chlorophyta) in Calcifying Biofilms of Two Karstic Streams in Germany'. *Geomicrobiology Journal* 32:275–90. doi: 10.1080/01490451.2013.878418.

Holzinger, Andreas, & Ulf Karsten. 2013. 'Desiccation Stress and Tolerance in Green Algae: Consequences for Ultrastructure, Physiological, and Molecular Mechanisms'. *Frontiers in Plant Science* 4(AUG):1–18. doi: 10.3389/fpls.2013.00327.

Honegger, Rosmarie. 1993. 'Developmental Biology of Lichens'. *New Phytologist* 125(60):659–77.

Huneck, S. 1999. 'The Significance of Lichens and Their Metabolites'. *Naturwissenschaften* 86(12):559–70.

Jadrná, Iva. 2017. 'Photobiont Diversity in Lichen Thallus Psora decipiens'. Charles University. *Diplomová práce.*

Jarkovský, Jiří, Simona Littnerová, & Ladislav Dušek. 2012. *Statistické Hodnocení Biodiverzity*.

Ji, Nan Huan, Fang Hao Chen, & Zhen Zhen Pang. 2022. 'Composition Identification and UV-C Irradiation Growth Inhibition Effect of Green Shading on the Greenhouse Cover'. *Science of The Total Environment* 850:158024. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.158024.

Johansson, Niko R., Ulla Kaasalainen, & Jouko Rikkinen. 2021. 'Woodpeckers Can Act as Dispersal Vectors for Fungi, Plants, and Microorganisms'. *Ecology and Evolution* 11(12):7154–63. doi: 10.1002/ECE3.7648.

Johnson, Christopher J., James P. Bennett, Steven M. Biro, Juan Camilo Duque-Velasquez,

Cynthia M. Rodriguez, Richard A. Bessen, & Tonie E. Rocke. 2011. 'Degradation of the Disease-Associated Prion Protein by a Serine Protease from Lichens'. *PLoS ONE* 6(5). doi: 10.1371/journal.pone.0019836.

Joneson, Suzanne, & Françis Lutzoni. 2009. 'Compatibility and Thigmotropism in the Lichen Symbiosis: A Reappraisal'. *Symbiosis* 47(2):109–15. doi: 10.1007/BF03182294.

Katoh, Kazutaka, Kazuharu Misawa, Kei Ichi Kuma, & Takashi Miyata. 2002. 'MAFFT: A Novel Method for Rapid Multiple Sequence Alignment Based on Fast Fourier Transform'. *Nucleic Acids Research* 30(14):3059–66. doi: 10.1093/NAR/GKF436.

Kosecka, Magdalena, Beata Guzow-Krzemińska, Ivana Černajová, Pavel Škaloud, Agnieszka Jabłońska, & Martin Kukwa. 2021. 'New Lineages of Photobionts in Bolivian Lichens Expand Our Knowledge on Habitat Preferences and Distribution of Asterochloris Algae'. *Scientific Reports* 11(1):1–12. doi: 10.1038/s41598-021-88110-0.

Lacey, Maureen E., & Jonathan S. West. 2006. *The Air Spora*. Dordrecht: Springer-Verlag.

Lange, Otto L., T. G. Allan Green, Beate Melzer, Angelika Meyer, & Hans Zellner. 2006. 'Water Relations and CO2 Exchange of the Terrestrial Lichen Teloschistes Capensis in the Namib Fog Desert: Measurements during Two Seasons in the Field and under Controlled Conditions'. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 201(4):268–80. doi: 10.1016/j.flora.2005.08.003.

Leavitt, Steven D., Ekaphan Kraichak, Matthew P. Nelsen, Susanne Altermann, Pradeep K. Divakar, David Alors, Theodore L. Esslinger, Ana Crespo, & Thorsten Lumbsch. 2015. 'Fungal Specificity and Selectivity for Algae Play a Major Role in Determining Lichen Partnerships across Diverse Ecogeographic Regions in the Lichen-Forming Family Parmeliaceae (Ascomycota)'. *Molecular Ecology* 24(14):3779–97. doi: 10.1111/mec.13271.

Lendemer, James C. 2011. 'A Standardized Morphological Terminology and Descriptive Scheme for Lepraria (Stereocaulaceae)'. *The Lichenologist* 43(5):379–99. doi: 10.1017/S0024282911000326.

Lüttge, U., & B. Büdel. 2010. 'Resurrection Kinetics of Photosynthesis in Desiccation-Tolerant Terrestrial Green Algae (Chlorophyta) on Tree Bark'. *Plant Biology* 12(3):437–44. doi: 10.1111/j.1438-8677.2009.00249.x.

Mahé, Frédéric, Torbjørn Rognes, Christopher Quince, Colomban de Vargas, & Micah Dunthorn. 2015. 'Swarmv2: Highly-Scalable and High-Resolution Amplicon Clustering'. *PeerJ* 2015(12):1–12. doi: 10.7717/peerj.1420.

Malavasi, Veronica, Zuzana Škvorová, Yvonne Němcová, & Pavel Škaloud. 2022. 'Laetitia Sardoa Gen. & Sp. Nov., a New Member of the Chlorellales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) Isolated from Sardinia Island'. *Phycologia* 61(4):375–83. doi: 10.1080/00318884.2022.2054252.

Marshall, William A. 1996. 'Aerial Dispersal of Lichen Soredia in the Maritime Antarctic'. *New Phytologist* 134(3):523–30. doi: 10.1111/j.1469-8137.1996.tb04370.x.

Marshall, William A., & Peter Convey. 1997. 'Dispersal of Moss Propagules on Signy Island, Maritime Antarctic'. Polar Biology 18(6):376–83. doi: 10.1007/s003000050203.

Marshall, William A., & Matthew O. Chalmers. 1997. 'Airborne Dispersal of Antarctic Terrestrial Algae and Cyanobacteria'. *Ecography* 20(6):585–94. doi: 10.1111/j.1600-0587.1997.tb00427.x.

Martellos, S., M. Conti, & P. L. Nimis. 2023. 'Aggregation of Italian Lichen Data in ITALIC 7.0'. *Journal of Fungi* 9(5):12.

McCarthy, P. M., & J. A. Healy. 1978. 'Dispersal of Lichen Propagules by Slugs'. *The Lichenologist* 10(1):131–32. doi: 10.1017/S002428297800016X.

McKnight, Donald T., Roger Huerlimann, Deborah S. Bower, Lin Schwarzkopf, Ross A. Alford, & Kyall R. Zenger. 2019. 'Methods for Normalizing Microbiome Data: An Ecological Perspective'. *Methods in Ecology and Evolution* 10(3):389–400. doi: 10.1111/2041-210X.13115.

McMurdie, Paul J., & Susan Holmes. 2014. 'Waste Not, Want Not: Why Rarefying Microbiome Data Is Inadmissible'. *PLoS Computational Biology* 10(4). doi: 10.1371/journal.pcbi.1003531.

Meeßen, Joachim, & Sieglinde Ott. 2013. 'Recognition Mechanisms during the Pre-Contact State of Lichens: I. Mycobiont-Photobiont Interactions of the Mycobiont of Fulgensia Bracteata'. *Symbiosis* 59(3):121–30. doi: 10.1007/s13199-013-0232-4.

Metz, Sebastian, David Singer, Isabelle Domaizon, Fernando Unrein, & Enrique Lara. 2019. 'Global Distribution of Trebouxiophyceae Diversity Explored by High-Throughput Sequencing and Phylogenetic Approaches'. *Environmental Microbiology* 21(10):3885–95. doi: 10.1111/1462-2920.14738.

Miadlikowska, Jolanta, Conrad L. Schoch, Stacie A. Kageyama, Katalin Molnar, François Lutzoni, & Bruce McCune. 2011. 'Hypogymnia Phylogeny, Including Cavernularia, Reveals Biogeographic Structure'. *Bryologist* 114(2):392–400. doi: 10.1639/0007-2745-114.2.392.

Mikhailyuk, Tatiana I., Eduard M. Demchenko, & Sergiy Ya Kondratyuk. 2003. 'Algae of

Granite Outcrops from the Left Bank of the River Pivdennyi Bug (Ukraine)'. *Biologia - Section Botany* 58(4):589–601.

Miller, Jesse E. D., Heather T. Root, & Hugh D. Safford. 2018. 'Altered Fire Regimes Cause Long-Term Lichen Diversity Losses'. *Global Change Biology* 24(10):4909–18. doi: 10.1111/GCB.14393.

Miller, Mark A., Wayne Pfeiffer, & Terri Schwartz. 2010. 'Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees'. *2010 Gateway Computing Environments Workshop, GCE 2010*. doi: 10.1109/GCE.2010.5676129.

Molina, M. Carmen, Pradeep K. Divakar, Ning Zhang, Natalia González, & Lena Struwe. 2013. 'Non-Developing Ascospores in Apothecia of Asexually Reproducing Lichen-Forming Fungi'. *International Microbiology* 16(3):145–55. doi: 10.2436/20.1501.01.189.

Moya, Patricia, Arantzazu Molins, Salvador Chiva, Joaquín Bastida, & Eva Barreno. 2020. 'Symbiotic Microalgal Diversity within Lichenicolous Lichens and Crustose Hosts on Iberian Peninsula Gypsum Biocrusts'. *Scientific Reports* 10(1):1–14. doi: 10.1038/s41598-020-71046-2.

Muggia, Lucia, Lucie Vančurová, Pavel Škaloud, Ondřej Peksa, Mats Wedin, & Martin Grube. 2013. 'The Symbiotic Playground of Lichen Thalli - a Highly Flexible Photobiont Association in Rock-Inhabiting Lichens'. *FEMS Microbiology Ecology* 85(2):313–23. doi: 10.1111/1574-6941.12120.

Muggia, Lucia, Matthew P. Nelsen, Paul M. Kirika, Eva Barreno, Andreas Beck, Hanna Lindgren, H. Thorsten Lumbsch, & Steven D. Leavitt. 2020. 'Formally Described Species Woefully Underrepresent Phylogenetic Diversity in the Common Lichen Photobiont Genus Trebouxia (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): An Impetus for Developing an Integrated Taxonomy'. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 149(July 2019):106821. doi: 10.1016/j.ympev.2020.106821.

Muñoz, Jesús. 2004. 'Wind as a Long-Distance Southern Hemisphere'. *Science* 304:1144–46. doi: 10.1126/science.1095210.

Nash, Thomas H. 1996. *Lichen Biology*. Cambridge University Press.

Nelsen, Matthew P., & Andrea Gargas. 2009. 'Symbiont Flexibility in Thamnolia Vermicularis (Pertusariales : Icmadophilaceae)'. *The Bryologist* 112(2):404–17.

Nguyen, Lam Tung, Heiko A. Schmidt, Arndt Von Haeseler, and Bui Quang Minh. 2015. 'IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies'. *Molecular Biology and Evolution* 32(1):268. doi: 10.1093/MOLBEV/MSU300.

Noetzel, Rosa de la Torre, Ana Z. Miller, José M. de la Rosa, Claudia Pacelli, Silvano Onofri, Leopoldo García Sancho, Beatriz Cubero, Andreas Lorek, David Wolter, & Jean P. de Vera. 2018. 'Cellular Responses of the Lichen Circinaria Gyrosa in Mars-like Conditions'. *Frontiers in Microbiology* 9(MAR):308. doi: 10.3389/FMICB.2018.00308/BIBTEX.

Norros, Veera, Üllar Rannik, Tareq Hussein, Tuukka Petaja, Timo Vesala, & Otso Ovaskainen. 2014. 'Do Small Spores Disperse Further than Large Spores ?' *Ecology* 95(6):1612–21.

North, Beth A., & Joseph S. Davis. 1988. 'Airborne Algae from North-Central Florida'. *Florida Scientist* 51(2):92–99.

Novakovskaya, I. V., Y. A. Dubrovskiy, E. N. Patova, A. B. Novakovskiy, & I. N. Sterlyagova. 2020. 'Influence of Ecological Factors on Soil Algae in Different Types of Mountain Tundra and Sparse Forests in the Northern Urals'. *Phycologia* 59(4):320–29. doi: 10.1080/00318884.2020.1754736.

Nyati, Shyam, Silke Werth, & Rosmarie Honegger. 2013. 'Genetic Diversity of Sterile Cultured Trebouxia Photobionts Associated with the Lichen-Forming Fungus Xanthoria Parietina Visualized with RAPD-PCR Fingerprinting Techniques'. *Lichenologist* 45(6):825–40. doi: 10.1017/S0024282913000546.

Ohmura, Yoshihito, Masanobu Kawachi, Fumie Kasai, Makoto M. Watanabe, & Shunji Takeshita. 2006. 'Genetic Combinations of Symbionts in a Vegetatively Reproducing Lichen, Parmotrema Tinctorum, Based on ITS RDNA Sequences'. *Bryologist* 109(1):43–59. doi: 10.1639/0007-2745(2006)109[0043:GCOSIA]2.0.CO;2.

Oksanen, Ilona, Katileena Lohtander, Per Paulsrud, & Jouko Rikkinen. 2002. 'A Molecular Approach to Cyanobacterial Diversity in a Rock-Pool Community Involving Gelatinous Lichens and Free-Living Nostoc Colonies'. *Annales Botanici Fennici* 39(2):93–99.

Oksanen, Jari, F. Guillaume Blanchet, Michael Friendly, Roeland Kindt, Pierre Legendre, Dan McGlinn, Peter R. Minchin, R. B. O'hara, Gavin L. Simpson, Peter Solymos, et al. 2022. 'Package "Vegan"'.

Otálora, Mónica A. G., Clara Salvador, Isabel Martínez, & Gregorio Aragón. 2013. 'Does the Reproductive Strategy Affect the Transmission and Genetic Diversity of Bionts in Cyanolichens? A Case Study Using Two Closely Related Species'. *Microbial Ecology* 65(2):517–30. doi: 10.1007/s00248-012-0136-5.

Ott, Sieglinde. 1987. 'Sexual Reproduction and Developmental Adaptations in Xanthoria Parietina'. *Nordic Journal of Botany* 7(2):219–28. doi: 10.1111/j.1756-

1051.1987.tb00933.x.

Paliy, O., & V. Shankar. 2016. 'Application of Multivariate Statistical Techniques in Microbial Ecology'. *Molecular Ecology* 25(5):1032–57. doi: 10.1111/mec.13536.

Paradis, Emmanuel, Julien Claude, and Korbinian Strimmer. 2004. 'APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R Language'. *Bioinformatics* 20(2):289–90. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTG412.

Parrando, R. T., & J. S. Davis. 1972. 'Some Airborne Algae from North Central Florida'. *Quarterly Journal of the Florida Academy of Sciences* 35(4):232–38.

Patova, E. N., & I. V. Novakovskaya. 2018. 'Soil Algae of the Northeastern European Russia'. *Novosti Sistematiki Nizshikh Rastenii* 52(2):311–53. doi: 10.31111/nsnr/2018.52.2.311.

Paul, Fiona, Jürgen Otte, Imke Schmitt, & Francesco Dal Grande. 2018. 'Comparing Sanger Sequencing and High-Throughput Metabarcoding for Inferring Photobiont Diversity in Lichens'. *Scientific Reports* 8(1):1–7. doi: 10.1038/s41598-018-26947-8.

Peksa, Ondřej, Tereza Gebouská, Zuzana Škvorová, Lucie Vančurová, & Pavel Škaloud. 2022. 'The Guilds in Green Algal Lichens - An Insight into the Life of Terrestrial Symbiotic Communities'. *FEMS Microbiology Ecology* 98(2):1–17. doi: 10.1093/femsec/fiac008.

Peters, Shanan E., Jon M. Husson, & John Czaplewski. 2018. 'Macrostrat: A Platform for Geological Data Integration and Deep-Time Earth Crust Research'. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 19(4):1393–1409. doi: 10.1029/2018GC007467.

Piercey-Normore, Michele D., & Paula T. DePriest. 2001. 'Algal Switching among Lichen Symbioses'. *American Journal of Botany* 88(8):1490–98.

Pyatt, F. Brian. 1973. 'Lichen Propagules'. Pp. 117–45 in *The Lichens*, editor V. Ahmadjian & M. E. Hale. London: ACADEMIC PRESS, INC.

Rambaut, A. 2018. 'FigTree v1.4.4'. *Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh.* Retrieved (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

Ramette, Alban. 2007. 'Multivariate Analyses in Microbial Ecology'. *FEMS Microbiology Ecology* 62(2):142–60. doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00375.x.

Rapprich, V. 2011. 'Nový Pohled Na Vulkanologii Vinařické Hory'. *Geoscience Research Reports* 29–33.

Revell, Liam J. 2012. 'Phytools: An R Package for Phylogenetic Comparative Biology (and Other Things)'. *Methods in Ecology and Evolution* 3(2):217–23. doi: 10.1111/J.2041-210X.2011.00169.X.

Revill, Donald L., Kenneth W. Stewart, & Harold E. Schlichting. 1967. 'Passive Dispersal

of Viable Algae and Protozoa By Certain Craneflies and Midges'. *Ecology* 48(6):1023–27. doi: 10.2307/1934558.

Richardson, D. H. S., D. C. Smith, & D. H. Lewis. 1967. 'Carbohydrate Movement between the Symbionts of Lichens'. *Nature* 214(5091):879–82. doi: 10.1038/214879a0.

Rikkinen, Jouko. 2003. 'Ecological and Evolutionary Role of Photobiont-Mediated Guilds in Lichens'. *Symbiosis* 34(2):99–110.

Rikkinen, Jouko, Ilona Oksanen, & Katileena Lohtander. 2002. 'Lichen Guilds Share Related Cyanobacterial Symbionts'. *Science* 297(5580):357. doi: 10.1126/science.1072961.

Rindi, Fabio, & Michael D. Guiry. 2003. 'Composition and Distribution of Subaerial Algal Assemblages in Galway City, Western Ireland'. *Cryptogamie, Algologie* 24(3):245–67.

Rippin, Martin, Sebastian Lange, Nicole Sausen, & Burkhard Becker. 2018. 'Biodiversity of Biological Soil Crusts from the Polar Regions Revealed by Metabarcoding'. *FEMS Microbiology Ecology* 94(4):1–15. doi: 10.1093/FEMSEC/FIY036.

Romeike, J., T. Friedl, G. Helms, & S. Ott. 2002. 'Genetic Diversity of Algal and Fungal Partners in Four Species of Umbilicaria (Lichenized Ascomycetes) Along a Transect of the Antarctic Peninsula'. *Mol. Biol. Evol* 19(8):1209–17.

Ronnas, Cecilia, Silke Werth, Otso Ovaskainen, Várkonyi Gergely, Christoph Scheidegger, & Tord Snäll. 2017. 'Discovery of Long-Distance Gamete Dispersal in a Lichen-Forming Ascomycete'. *New Phytologist* 2016:216–26. doi: 10.1111/nph.14714.

Rosas, Irma, Guadalupe Roy-Ocotla, & Pedro Mosiño. 1989. 'Meteorological Effects on Variation of Airborne Algae in Mexico'. *International Journal of Biometeorology* 33(3):173–79. doi: 10.1007/BF01084602.

Roturier, Samuel, Sofia Bäcklund, Maria Sundén, & Urban Bergsten. 2007. 'Influence of Ground Substrate on Establishment of Reindeer Lichen after Artificial Dispersal'. *Silva Fennica* 41(2):269–80. doi: 10.14214/sf.296.

Ruppert, Krista M., Richard J. Kline, & Md Saydur Rahman. 2019. 'Past, Present, and Future Perspectives of Environmental DNA (EDNA) Metabarcoding: A Systematic Review in Methods, Monitoring, and Applications of Global EDNA'. *Global Ecology and Conservation* 17:e00547. doi: 10.1016/j.gecco.2019.e00547.

Ruprecht, Ulrike, Georg Brunauer, & Roman Türk. 2014. 'High Photobiont Diversity in the Common European Soil Crust Lichen Psora Decipiens'. *Biodiversity and Conservation* 23(7):1771–85. doi: 10.1007/s10531-014-0662-1.

Sahu, Nivedita, & Anjana Devi Tangutur. 2015. 'Airborne Algae: Overview of the Current Status and Its Implications on the Environment'. *Aerobiologia* 31(1):89–97. doi:

10.1007/s10453-014-9349-z.

Samolov, Elena, Karen Baumann, Burkhard Büdel, Patrick Jung, Peter Leinweber, Tatiana Mikhailyuk, Ulf Karsten, & Karin Glaser. 2020. 'Biodiversity of Algae and Cyanobacteria in Biological Soil Crusts Collected along a Climatic Gradient in Chile Using an Integrative Approach'. *Microorganisms* 8(7):1–28. doi: 10.3390/microorganisms8071047.

Sanders, William B. 2001. 'Preliminary Light Microscope Observations of Fungal and Algal Colonization and Lichen Thallus Initiation on Glass Slides Placed near Foliicolous Lichen Communities within a Lowland Tropical Forest'. *Symbiosis* 31(1–3):85–94.

Sanders, William B. 2002. 'In Situ Development of the Foliicolous Lichen Phyllophiale (Trichotheliaceae) from Propagule Germination to Propagule Production'. *American Journal of Botany* 89(11):1741–46. doi: 10.3732/ajb.89.11.1741.

Sanders, William B. 2005. 'Observing Microscopic Phases of Lichen Life Cycles on Transparent Substrata Placed in Situ'. *Lichenologist* 37(5):373–82. doi: 10.1017/S0024282905015070.

Sanders, William B. 2014. 'Complete Life Cycle of the Lichen Fungus Calopadia Puiggarii (Pilocarpaceae, Ascomycetes) Documented in Situ: Propagule Dispersal, Establishment of Symbiosis, Thallus Development, and Formation of Sexual and Asexual Reproductive Structures'. *American Journal of Botany* 101(11):1836–48. doi: 10.3732/ajb.1400272.

Sanders, William B., & Robert Lücking. 2002. 'Reproductive Strategies, Relichenization and Thallus Development Observed in Situ in Leaf-Dwelling Lichen Communities'. *New Phytologist* 155(3):425–35. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00472.x.

Sanders, William B., & Hiroshi Masumoto. 2021. 'Lichen Algae: The Photosynthetic Partners in Lichen Symbioses'. *The Lichenologist* 53(5):347–93. doi: 10.1017/s0024282921000335.

Sanders, William B., & Benjamin J. Brisky. 2022. 'Airborne Ascospore Discharge with Co-Dispersal of Attached Epihymenial Algae in Some Foliicolous Lichens'. *American Journal of Botany* 109(1):58–66. doi: 10.1002/ajb2.1778.

Schlichting, H. E. 1969. 'The Importance of Airborne Algae and Protozoa'. *Journal of the Air Pollution Control Association* 19(12):946–51. doi: 10.1080/00022470.1969.10469362.

Schmidt, S. K., & J. L. Darcy. 2015. 'Phylogeny of Ulotrichalean Algae from Extreme High-Altitude and High-Latitude Ecosystems'. *Polar Biology* 38(5):689–97. doi: 10.1007/S00300-014-1631-6/FIGURES/5.

Schulz, Karoline, Tatiana Mikhailyuk, Mirko Dreßler, Peter Leinweber, & Ulf Karsten. 2016. 'Biological Soil Crusts from Coastal Dunes at the Baltic Sea: Cyanobacterial and Algal Biodiversity and Related Soil Properties'. *Microbial Ecology* 71(1):178–93. doi: 10.1007/s00248-015-0691-7.

Schuster, Günter. 1985. *Die Jugendentwicklung von Flechten : Ein Indikator Fur Klimabedingungen Und Umweltbelastung*. Vaduz: J. Cramer.

Schwendener, S. 1869. *Die Algentypen Der Flechtengonidien*. Basel: Universitaetsbuchdruckerei von C. Schultze.

Seymour, Fabian A., Peter D. Crittenden, & Paul S. Dyer. 2005. 'Sex in the Extremes: Lichen-Forming Fungi'. *Mycologist* 19(2):51–58. doi: 10.1017/S0269915X05002016.

Sharma, Naveen K., Ashwani K. Rai, & Surendra Singh. 2006. 'Meteorological Factors Affecting the Diversity of Airborne Algae in an Urban Atmosphere'. *Ecography* 29(5):766–72. doi: 10.1111/j.2006.0906-7590.04554.x.

Sharma, Naveen K., Surendra Singh, & Ashwani K. Rai. 2006. 'Diversity and Seasonal Variation of Viable Algal Particles in the Atmosphere of a Subtropical City in India'. *Environmental Research* 102(3):252–59. doi: 10.1016/j.envres.2006.04.003.

Sharma, Naveen Kumar, Ashwani Kumar Rai, Surendra Singh, & Richard Malcolm Brown. 2007. 'Airborne Algae: Their Present Status and Relevance'. *Journal of Phycology* 43(4):615–27. doi: 10.1111/j.1529-8817.2007.00373.x.

Sherwood, Alison R., Kimberly Y. Conklin, & Zylee J. Liddy. 2014. 'What's in the Air? Preliminary Analyses of Hawaiian Airborne Algae and Land Plant Spores Reveal a Diverse and Abundant Flora'. *Phycologia* 53(6):579–82. doi: 10.2216/14-059.1.

Sherwood, Alison R., Monica N. Dittbern, Emily T. Johnston, & Kimberly Y. Conklin. 2017. 'A Metabarcoding Comparison of Windward and Leeward Airborne Algal Diversity across the Ko'olau Mountain Range on the Island of O'ahu, Hawai'I1'. *Journal of Phycology* 53(2):437–45. doi: 10.1111/jpy.12502.

Sherwood, Alison R., Rachael M. Wade, & Kimberly Y. Conklin. 2020. 'Seasonality of Tropical Airborne Algae: A 16-Month Study Based on High-Throughput Sequencing in the Hawaiian Islands'. *Grana* 59(5):354–65. doi: 10.1080/00173134.2020.1738541.

Singh, Hans W., Rachael M. Wade, & Alison R. Sherwood. 2018. 'Diurnal Patterns of Airborne Algae in the Hawaiian Islands: A Preliminary Study'. *Aerobiologia* 34(3):363–73. doi: 10.1007/s10453-018-9519-5.

Skuja, H. 1943. 'Ein Fall von Fakultativer Symbiose Zwischen Opcrculatem Discomycet Und Einer Chlamydomonade'. *Archiv Für Protistenkunde* 96(3):365–76.

Slocum, R. D., V. Ahmadjian, & K. C. Hildreth. 1980. 'Zoosporogenesis In Trebouxia

Gelatinosa: Ultrastructure Potential For Zoospore Release And Implications For The Lichen Association'. *The Lichenologist* 12(2):173–87. doi: 10.1017/S0024282980000151.

Smith, DC. 1979. 'Is a Lichen a Good Model of Interactions in Nutrient-Limited Environments?' Pp. 291–301 in *Strategies of microbial life in extreme environments: report of the Dahlem Workshop on Strategy of Life in Extreme Environments*, editor M. Shilo. Berlin: Verlag Chemie.

Solarz, Wojciech, Kamil Najberek, Elżbieta Wilk-Woźniak, & Aleksandra Biedrzycka. 2020. 'Raccoons Foster the Spread of Freshwater and Terrestrial Microorganisms—Mammals as a Source of Microbial EDNA'. *Diversity and Distributions* 26(4):453–59. doi: 10.1111/DDI.13027.

Soons, Merel B., Gerrit W. Heil, Ran Nathan, & Gabriel G. Katul. 2004. 'Determinants of Long-distance Seed Dispersal by Wind in Grasslands'. *Ecology* 85(11):3056–68. doi: 10.1890/03-0522.

Spribille, Toby. 2019. 'Lichen Symbionts Outside of Symbiosis: How Do They Find Their Match? A Commentary on: "A Case Study on the Re-Establishment of the Cyanolichen Symbiosis: Where Do the Compatible Photobionts Come From?"' *Annals of Botany* 124(3):VI–VII. doi: 10.1093/aob/mcz130.

Spribille, Toby, Veera Tuovinen, Philipp Resl, Dan Vanderpool, Heimo Wolinski, M. Catherine Aime, Kevin Schneider, Edith Stabentheiner, Merje Toome-Heller, Göran Thor, Helmut Mayrhofer, Hanna Johannesson, & John P. McCutcheon. 2016. 'Basidiomycete Yeasts in the Cortex of Ascomycete Macrolichens'. *Science* 353(6298):488–92. doi: 10.1126/science.aaf8287.

Steinová, Jana, Pavel Škaloud, Rebecca Yahr, Helena Bestová, & Lucia Muggia. 2019. 'Reproductive and Dispersal Strategies Shape the Diversity of Mycobiont-Photobiont Association in Cladonia Lichens'. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 134(February):226–37. doi: 10.1016/j.ympev.2019.02.014.

Stephenson, Steven L. 2010. *The Kingdom Fungi: The Biology of Mushrooms, Molds, and Lichens by Steven L. Stephenson | Goodreads*. Timber Press.

Stewart, Adeline, Delphine Rioux, Fréderic Boyer, Ludovic Gielly, François Pompanon, Amélie Saillard, Wilfried Thuiller, Jean Gabriel Valay, Eric Maréchal, & Eric Coissac. 2021. 'Altitudinal Zonation of Green Algae Biodiversity in the French Alps'. *Frontiers in Plant Science* 12(June):1–17. doi: 10.3389/fpls.2021.679428.

Stubbs, Constance S. 1995. ' Dispersal of Soredia by the Oribatid Mite, Humerobates Arborea '. *Mycologia* 87(4):454–58. doi: 10.1080/00275514.1995.12026554.

Suutari, Milla, Markus Majaneva, David P. Fewer, Bryson Voirin, Annette Aiello, Thomas Friedl, Adriano G. Chiarello, & Jaanika Blomster. 2010. 'Molecular Evidence for a Diverse Green Algal Community Growing in the Hair of Sloths and a Specific Association with Trichophilus Welckeri (Chlorophyta, Ulvophyceae)'. *BMC Evolutionary Biology* 10(1). doi: 10.1186/1471-2148-10-86.

Szyja, Michelle, Burkhard Büdel, & Claudia Colesie. 2018. 'Ecophysiological Characterization of Early Successional Biological Soil Crusts in Heavily Human-Impacted Areas'. *Biogeosciences* 15:1919–31. doi: 10.5194/bg-15-1919-2018.

Škaloud, Pavel. 2009. 'Species Composition and Diversity of Aero-Terrestrial Algae and Cyanobacteria of the Boreč Hill Ventaroles'. Fottea 9(1):65–80. doi: 10.5507/fot.2009.006.

Škaloud, Pavel, Jana Steinová, Tereza Řídká, Lucie Vančurová, & Ondřej Peksa. 2015. 'Assembling the Challenging Puzzle of Algal Biodiversity: Species Delimitation within the Genus Asterochloris (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)'. Journal of Phycology 51(3):507–27. doi: 10.1111/jpy.12295.

Škaloud, Pavel, Thomas Friedl, Christine Hallmann, Andreas Beck, & Francesco Dal Grande. 2016. 'Taxonomic Revision and Species Delimitation of Coccoid Green Algae Currently Assigned to the Genus Dictyochloropsis (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)'. Journal of Phycology 52(4):599–617. doi: 10.1111/jpy.12422.

Škaloud, Pavel, Fabio Rindi, Christian Boedeker, & Frederik Leliaert. 2018. Freshwater Flora of Central Europe, Vol 13: Chlorophyta: Ulvophyceae (Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 13: Chlorophyta: Ulvophyceae). Vol. 13. Springer-Verlag.

Škvorová, Zuzana, Ivana Černajová, Jana Steinová, Ondřej Peksa, Patricia Moya, & Pavel Škaloud. 2022. 'Promiscuity in Lichens Follows Clear Rules: Partner Switching in Cladonia Is Regulated by Climatic Factors and Soil Chemistry'. Frontiers in Microbiology 12(January):1–15. doi: 10.3389/fmicb.2021.781585.

Štefánek, M. 2006. *Plán Péče o Přírodní Památku Vinařická Hora Na Období 2006–2015*. Praha.

Štifterová, Anna, & Jiří Neustupa. 2015. 'Community Structure of Corticolous Microalgae within a Single Forest Stand: Evaluating the Effects of Bark Surface Ph and Tree Species'. Fottea 15(2):113–22. doi: 10.5507/fot.2015.013.

Štifterová, Anna, & Jiří Neustupa. 2017. 'Small-Scale Variation of Corticolous Microalgal Covers: Effects of Microhabitat, Season, and Space'. Phycological Research 65(4):299–311. doi: 10.1111/pre.12187.

Tamme, Riin, Lars Götzenberger, Martin Zobel, James M. Bullock, Danny A. P. Hooftman,

Ants Kaasik, & Meelis Pärtel. 2014. 'Predicting Species' Maximum Dispersal Distances from Simple Plant Traits'. *Ecology* 95(2):505–13. doi: 10.1890/13-1000.1.

Tamura, Koichiro, Glen Stecher, & Sudhir Kumar. 2021. 'MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11'. *Molecular Biology and Evolution* 38(7):3022–27. doi: 10.1093/MOLBEV/MSAB120.

Tesson, Sylvie V. M., & Tina Šantl-Temkiv. 2018. 'Ice Nucleation Activity and Aeolian Dispersal Success in Airborne and Aquatic Microalgae'. *Frontiers in Microbiology* 9(NOV):1–14. doi: 10.3389/fmicb.2018.02681.

Tesson, Sylvie V. M., Ambelas Skjøth, & Tina Šantl-temkiv. 2016. 'Airborne Microalgae: Insights, Opportunities, and Challenges'. 82(7):1978–91. doi: 10.1128/AEM.03333-15.Editor.

Thomson, Fiona J., Angela T. Moles, Tony D. Auld, & Richard T. Kingsford. 2011. 'Seed Dispersal Distance Is More Strongly Correlated with Plant Height than with Seed Mass'. *Journal of Ecology* 99(6):1299–1307. doi: 10.1111/J.1365-2745.2011.01867.X.

Thüs, Holger, Lucia Muggia, Sergio Pérez-Ortega, Sergio E. Favero-Longo, Suzanne Joneson, Heath O'Brien, Matthew P. Nelsen, Rhinaixa Duque-Thüs, Martin Grube, Thomas Friedl, Juliet Brodie, Carrie J. Andrew, Robert Lücking, François Lutzoni, & Cécile Gueidan. 2011. 'Revisiting Photobiont Diversity in the Lichen Family Verrucariaceae (Ascomycota)'. *European Journal of Phycology* 46(4):399–415. doi: 10.1080/09670262.2011.629788.

Tong, Xunliang, Hongtao Xu, Lihui Zou, Meng Cai, Xuefeng Xu, Zuotao Zhao, Fei Xiao, & Yanming Li. 2017. 'High Diversity of Airborne Fungi in the Hospital Environment as Revealed by Meta-Sequencing-Based Microbiome Analysis'. *Scientific Reports* 7(June 2016):1–8. doi: 10.1038/srep39606.

Tormo, R., D. Recio, I. Silva, & A. F. Muñoz. 2001. 'A Quantitative Investigation of Airborne Algae and Lichen Soredia Obtained from Pollen Traps in South-West Spain'. *European Journal of Phycology* 36(4):385–90. doi: 10.1080/09670260110001735538.

Tschermak-Woess, E. 1978. 'Myrmecia Reticulata as a Phycobiont and Free-Living Free-Living Trebouxia the Problem of Stenocybe Septata'. *The Lichenologist* 10(1):69–79. doi: 10.1017/S0024282978000080.

U'Ren, Jana M., François Lutzoni, Jolanta Miadlikowska, Alexander D. Laetsch, & A. Elizabeth Arnold. 2012. 'Host and Geographic Structure of Endophytic and Endolichenic Fungi at a Continental Scale'. *American Journal of Botany* 99(5):898–914. doi: 10.3732/ajb.1100459.

Vančurová, Lucie, Veronika Kalníková, Ondřej Peksa, Zuzana Škvorová, Jiří Malíček,

Patricia Moya, Kryštof Chytrý, Ivana Černajová, & Pavel Škaloud. 2020. 'Symbiosis between River and Dry Lands: Phycobiont Dynamics on River Gravel Bars'. *Algal Research* 51:1–13. doi: 10.1016/j.algal.2020.102062.

Vančurová, Lucie, Jiří Malíček, Jana Steinová, & Pavel Škaloud. 2021. 'Choosing the Right Life Partner: Ecological Drivers of Lichen Symbiosis'. *Frontiers in Microbiology* 12(December). doi: 10.3389/fmicb.2021.769304.

Vázquez-Nion, D., J. Rodríguez-Castro, M. C. López-Rodríguez, I. Fernández- Silva, & B. Prieto. 2016. 'Subaerial Biofilms on Granitic Historic Buildings: Microbial Diversity and Development of Phototrophic Multi-Species Cultures'. *Biofouling* 32(6):657–69. doi: 10.1080/08927014.2016.1183121.

Veselá, Veronika, Veronica Malavasi, & Pavel Škaloud. 2023. 'Life without a Partner: The Diversity of Free-Living Green Algal Symbionts of Lichens (an Overview)'. 1–34. [v přípravě]

Větrovský, Tomáš, Petr Baldrian, & Daniel Morais. 2018. 'SEED 2: A User-Friendly Platform for Amplicon High-Throughput Sequencing Data Analyses'. *Bioinformatics* 34(13):2292–94. doi: 10.1093/bioinformatics/bty071.

Videv, Pavel V, Georg Gärtner, Blagoy A. Uzunov, Petya H. Dimitrova, & P. Maya. 2017. 'Epimycotic Algae on the Medicinal Fungus Trametes Versicolor(L.) Lloyd'. *International Journal of Advanced Research in Botany* 3(2). doi: 10.20431/2455-4316.0302004.

Vojtková, H. 2017. 'Algae and Their Biodegradation Effects on Building Materials in the Ostrava Industrial Agglomeration'. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 92(1). doi: 10.1088/1755-1315/92/1/012073.

Voytsekhovich, A., & A. Beck. 2016. 'Lichen Photobionts of the Rocky Outcrops of Karadag Massif (Crimean Peninsula)'. *Symbiosis* 68(1–3):9–24. doi: 10.1007/s13199-015-0346-y.

Walser, Jean Claude. 2004. 'Molecular Evidence for Limited Dispersal of Vegetative Propagules in the Epiphytic Lichen Lobaria Pulmonaria'. *American Journal of Botany* 91(8):1273–76. doi: 10.3732/ajb.91.8.1273.

Watanabe, Shin, & Louise A. Lewis. 2017. 'Phylogenetic Interpretation of Light and Electron Microscopic Features of Selected Members of the Phylogroup Moewusinia (Chlorophyceae), with New Generic Taxonomy'. *Phycologia* 56(3):329–53. doi: 10.2216/16-64.1.

Weber, Bettina, Burkhard Büdel, & Jayne Belnap. 2016. *Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands*. Cham: Springer International Publishing.

Weiner, J. 2015. ‘Tagcloud: Tag Clouds R Package Version 0.6’.

Weiss, Sophie, Zhenjiang Zech Xu, Shyamal Peddada, Amnon Amir, Kyle Bittinger, Antonio Gonzalez, Catherine Lozupone, Jesse R. Zaneveld, Yoshiki Vázquez-Baeza, Amanda Birmingham, Embriette R. Hyde, & Rob Knight. 2017. ‘Normalization and Microbial Differential Abundance Strategies Depend upon Data Characteristics’. *Microbiome* 5(1):1–18. doi: 10.1186/s40168-017-0237-y.

Werth, Silke. 2011. ‘Biogeography and Phylogeography of Lichen Fungi and Their Photobionts’. Pp. 191–208 in *Biogeography of Microscopic Organisms is Everything Small Everywhere?*

Werth, Silke, & Victoria L. Sork. 2014. ‘Ecological Specialization in Trebouxia (Trebouxiophyceae) Photobionts of Ramalina Menziesii (Ramalinaceae) across Six Range-Covering Ecoregions of Western North America’. *American Journal of Botany* 101(7):1127–40. doi: 10.3732/ajb.1400025.

Werth, Silke, Helene H. Wagner, Felix Gugerli, Rolf Holderegger, Daniela Csencsics, Jesse M. Kalwij, & Christoph Scheidegger. 2006. ‘Quantifying Dispersal and Establishment Limitation in a Population of an Epiphytic Lichen’. *Ecology* 87(8):2037–46.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, & J. Taylor. 1990. ‘Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics’. Pp. 315–22 in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Elsevier.

Wickham, Hadley. 2009. *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. 1st ed. New York: Springer New York.

Wieners, Paul Christian, Opayi Mudimu, & Wolfgang Bilger. 2012. ‘Desiccation-Induced Non-Radiative Dissipation in Isolated Green Lichen Algae’. *Photosynthesis Research* 113(1–3):239–47. doi: 10.1007/S11120-012-9771-4/TABLES/1.

Wilkinson, David M., Symeon Koumoutsaris, Edward A. D. Mitchell, & Isabelle Bey. 2012. ‘Modelling the Effect of Size on the Aerial Dispersal of Microorganisms’. 89–97. doi: 10.1111/j.1365-2699.2011.02569.x.

Woo, Anthony C., Manreetpal S. Brar, Yuki Chan, Maggie C. Y. Lau, Frederick C. C. Leung, James A. Scott, Lilian L. P. Vrijmoed, Peyman Zawar-Reza, & Stephen B. Pointing. 2013. ‘Temporal Variation in Airborne Microbial Populations and Microbially-Derived Allergens in a Tropical Urban Landscape’. *Atmospheric Environment* 74:291–300. doi: 10.1016/j.atmosenv.2013.03.047.

Wornik, Sabine, & Martin Grube. 2010. ‘Joint Dispersal Does Not Imply Maintenance of Partnerships in Lichen Symbioses’. *Microbial Ecology* 59(1):150–57. doi: 10.1007/s00248-009-9584-y.

Wyczanska, Maja, Karoline Wacker, Paul S. Dyer, & Silke Werth. 2023. 'Local-Scale Panmixia in the Lichenized Fungus Xanthoria Parietina Contrasts with Substantial Genetic Structure in Its Trebouxia Photobionts'. *Lichenologist* 7:69–79. doi: 10.1017/S002428292300004X.

Xu, Maonian, Hugo De Boer, Elin Soffia Olafsdottir, Sesselja Omarsdottir, & Starri Heidmarsson. 2020. 'Phylogenetic Diversity of the Lichenized Algal Genus Trebouxia (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): A New Lineage and Novel Insights from Fungal-Algal Association Patterns of Icelandic Cetrarioid Lichens (Parmeliaceae, Ascomycota)'. *Botanical Journal of the Linnean Society* 194(4):460–68. doi: 10.1093/botlinnean/boaa050.

Yahr, Rebecca, Rytas Vilgalys, & Paula T. Depriest. 2004. 'Strong Fungal Specificity and Selectivity for Algal Symbionts in Florida Scrub Cladonia Lichens'. *Molecular Ecology* 13(11):3367–78. doi: 10.1111/j.1365-294X.2004.02350.x.

Zahradníková, Martina, Heidi L. Andersen, Tor Tønsberg, & Andreas Beck. 2017. 'Molecular Evidence of Apatococcus, Including A. Fuscideae Sp. Nov., as Photobiont in the Genus Fuscidea'. *Protist* 168(4):425–38. doi: 10.1016/j.protis.2017.06.002.

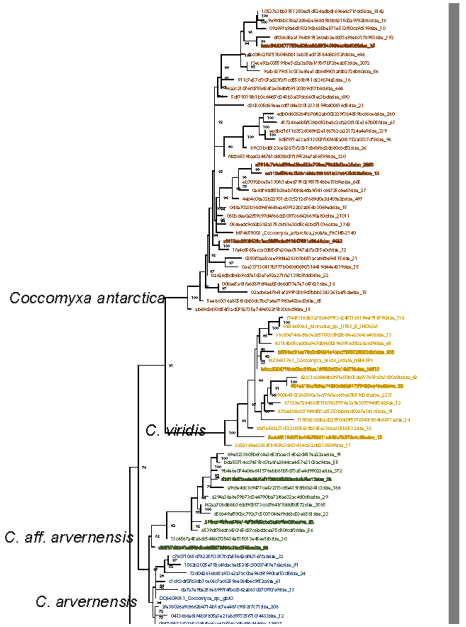
Zancan, Santina, Renata Trevisan, & Maurizio G. Paoletti. 2006. 'Soil Algae Composition under Different Agro-Ecosystems in North-Eastern Italy'. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 112(1):1–12. doi: 10.1016/j.agee.2005.06.018.

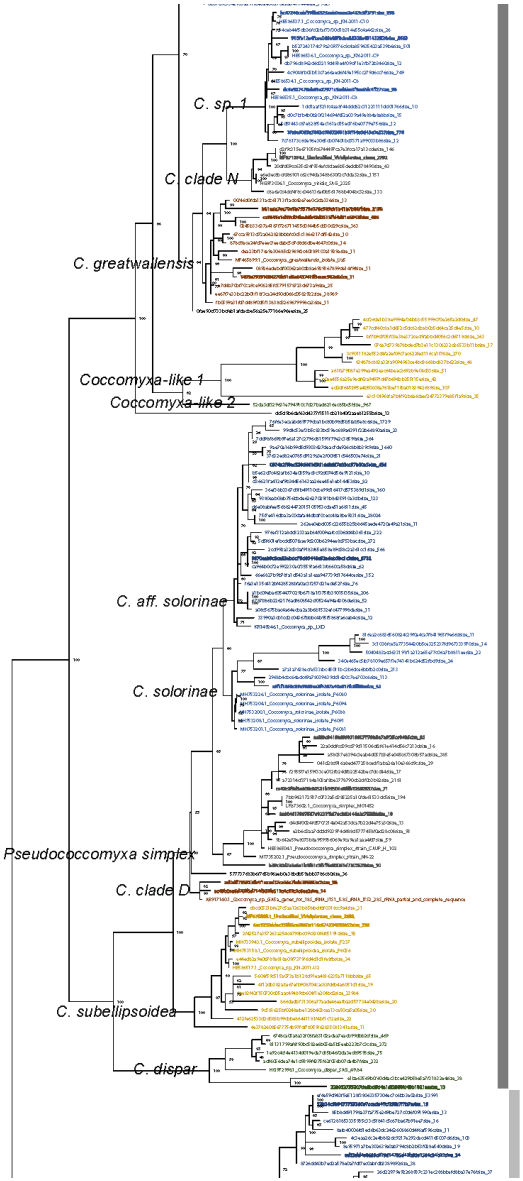
Zhu, Huan, Shuyin Li, Zhengyu Hu, & Guoxiang Liu. 2018. 'Molecular Characterization of Eukaryotic Algal Communities in the Tropical Phyllosphere Based on Real-Time Sequencing of the 18S RDNA Gene'. *BMC Plant Biology* 18(1):1–14. doi: 10.1186/s12870-018-1588-7.

Zúñiga, Catalina, Diego Leiva, Margarita Carú, & Julieta Orlando. 2017. 'Substrates of Peltigera Lichens as a Potential Source of Cyanobionts'. *Microbial Ecology* 74(3):561–69. doi: 10.1007/s00248-017-0969-z.

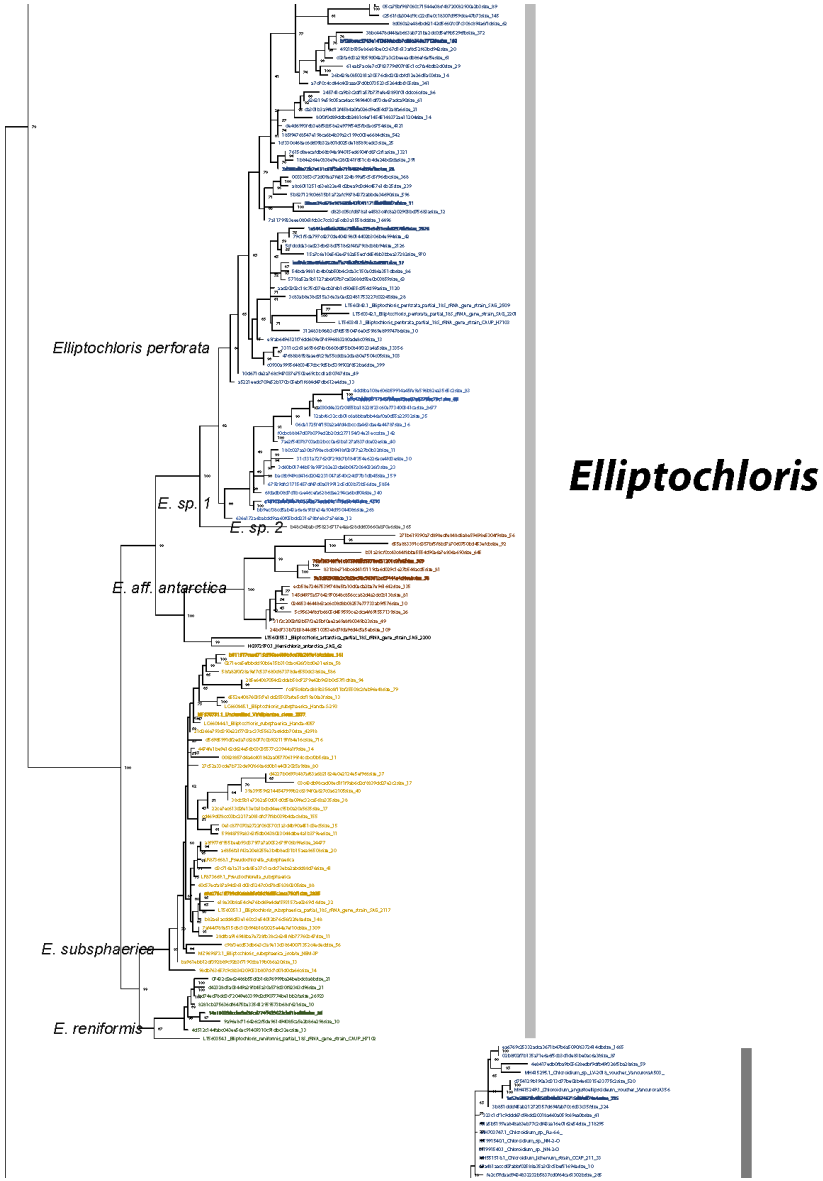
9 Přílohy

Příloha 1: Fylogenetický strom obsahující všechny sekvence zelených řas získané metabarcodingem vytvořený na základě ITS2 rDNA pomocí metody Maximum Likelihood (ML). Hodnoty u větvení udávají statistickou podporu (bootstrap). Jednotlivé druhy jsou odlišeny barevně.

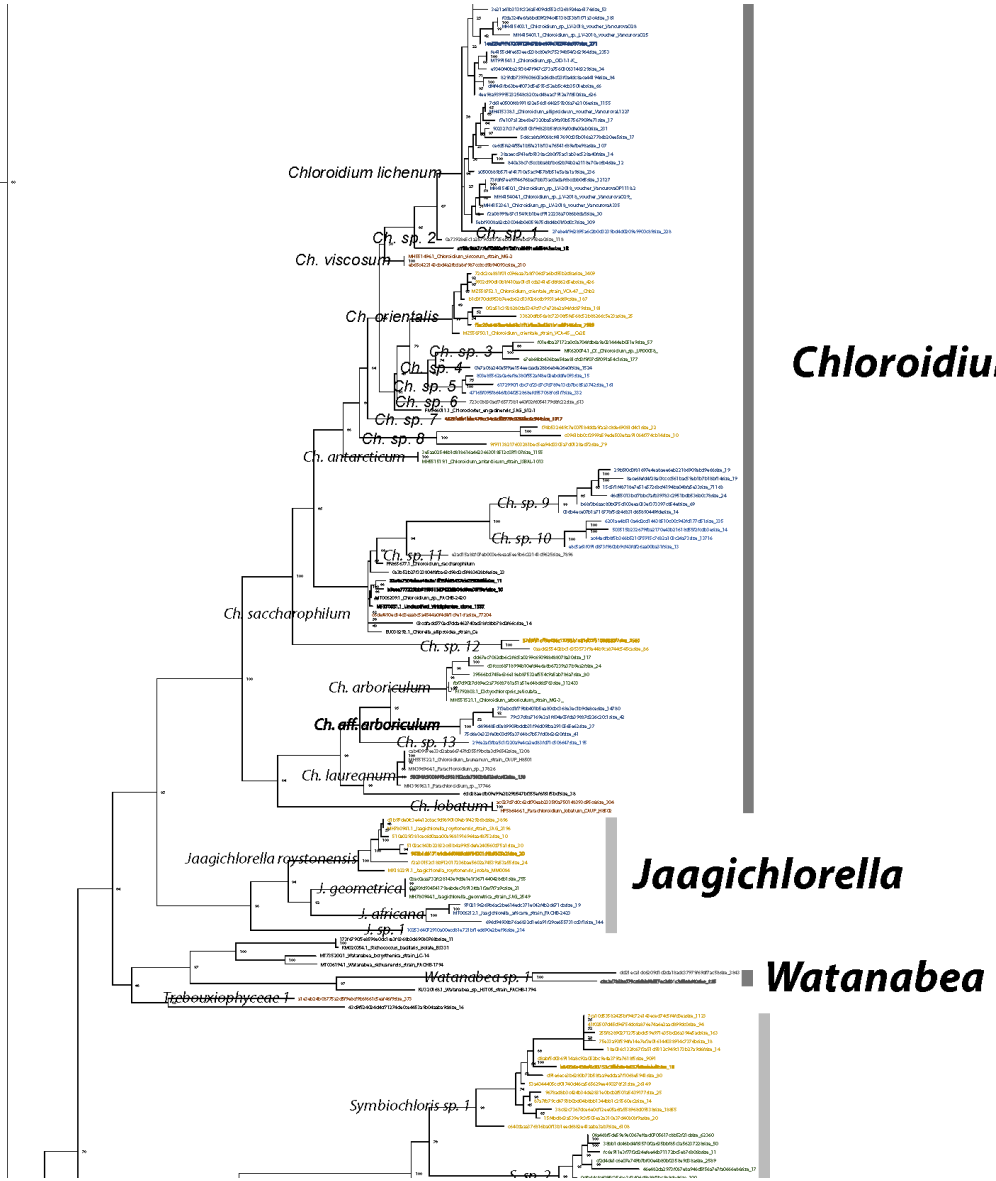


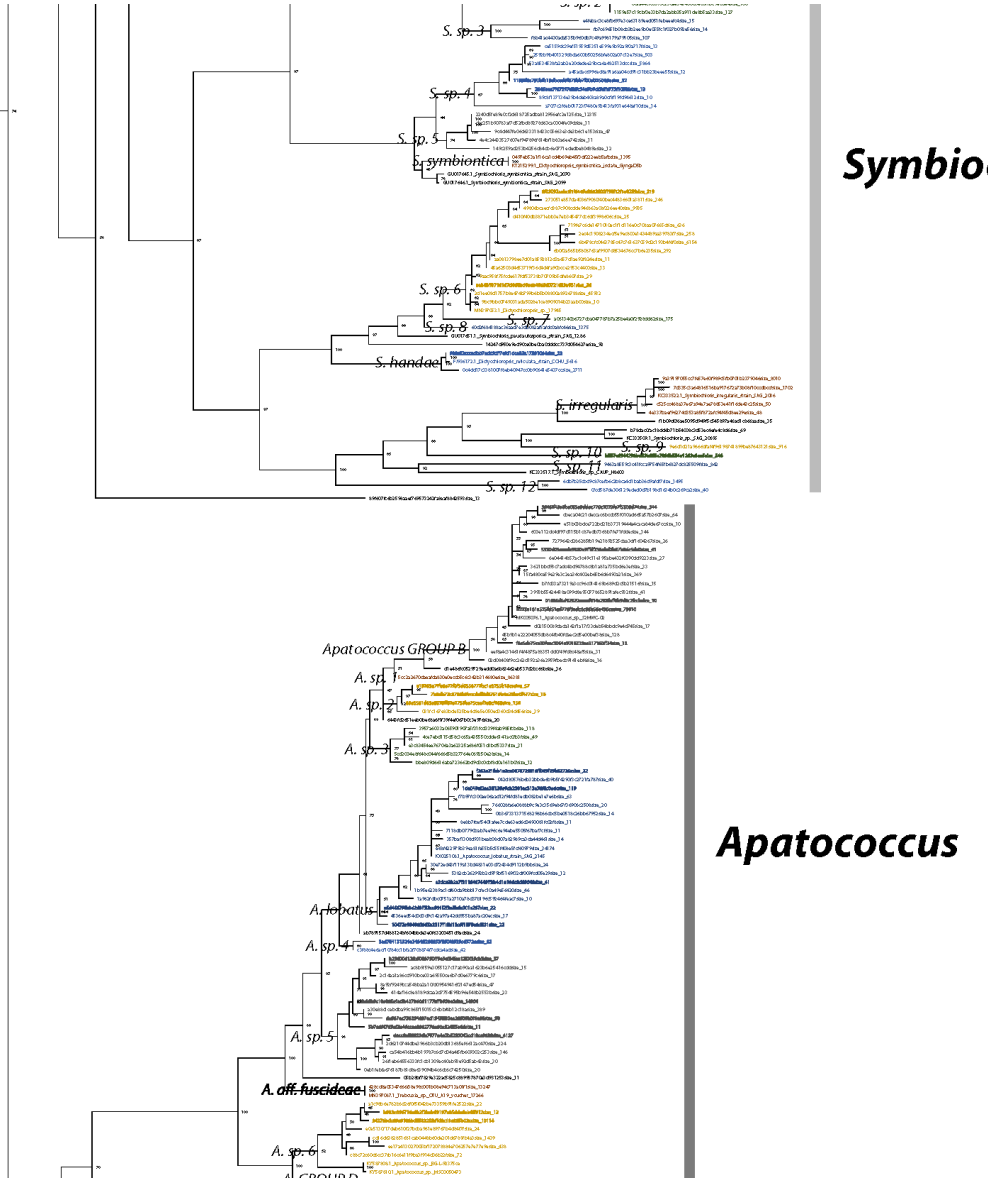

C. sp. 1
C. clade W
C. greatwallensis
Coccomyxa-like 1
Coccomyxa-like 2
C. aff. solorinae
C. solorinae
Pseudococcomyxa simplex
C. clade D
C. subellipsoidea
C. dispar

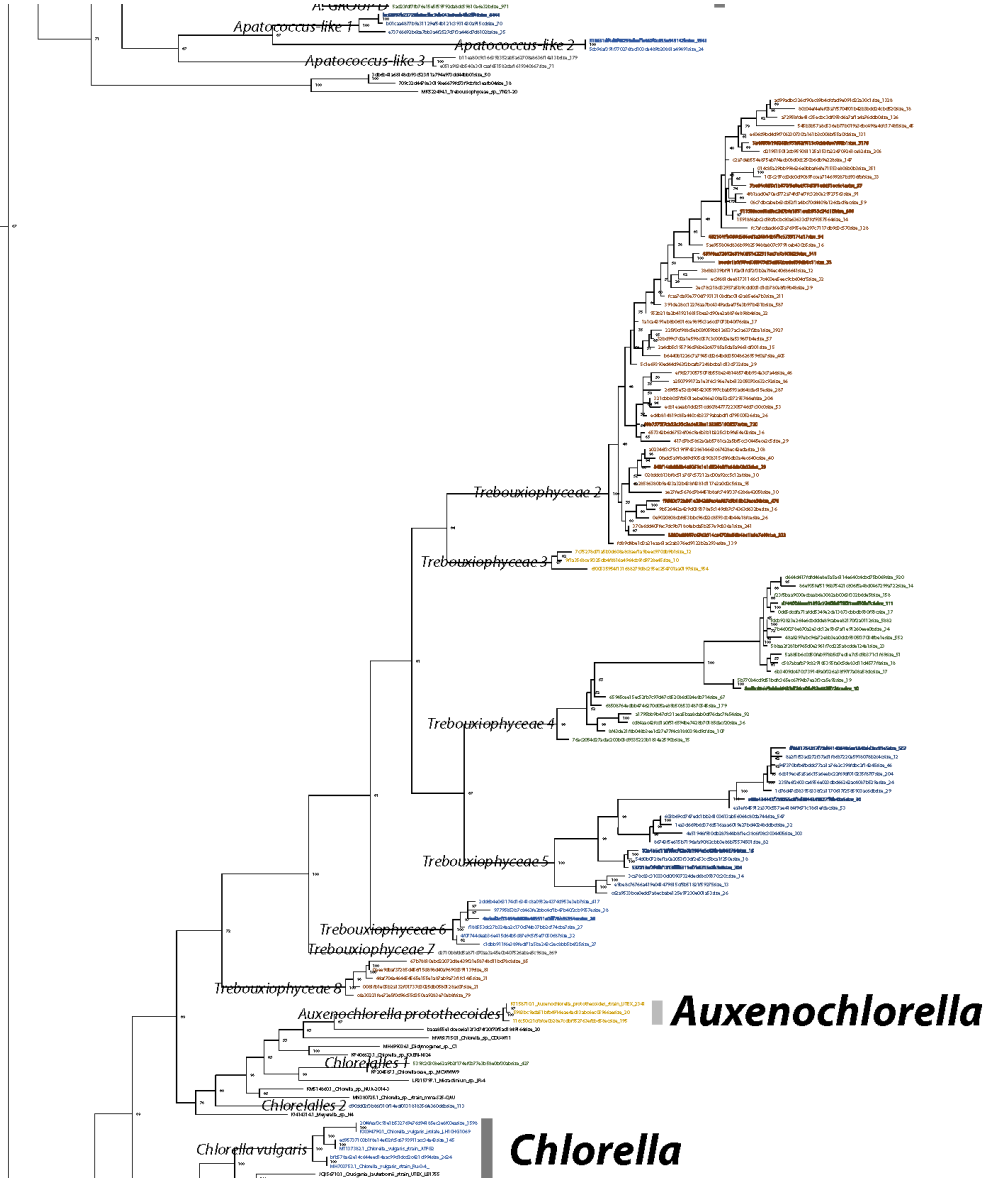
Coccomyxa

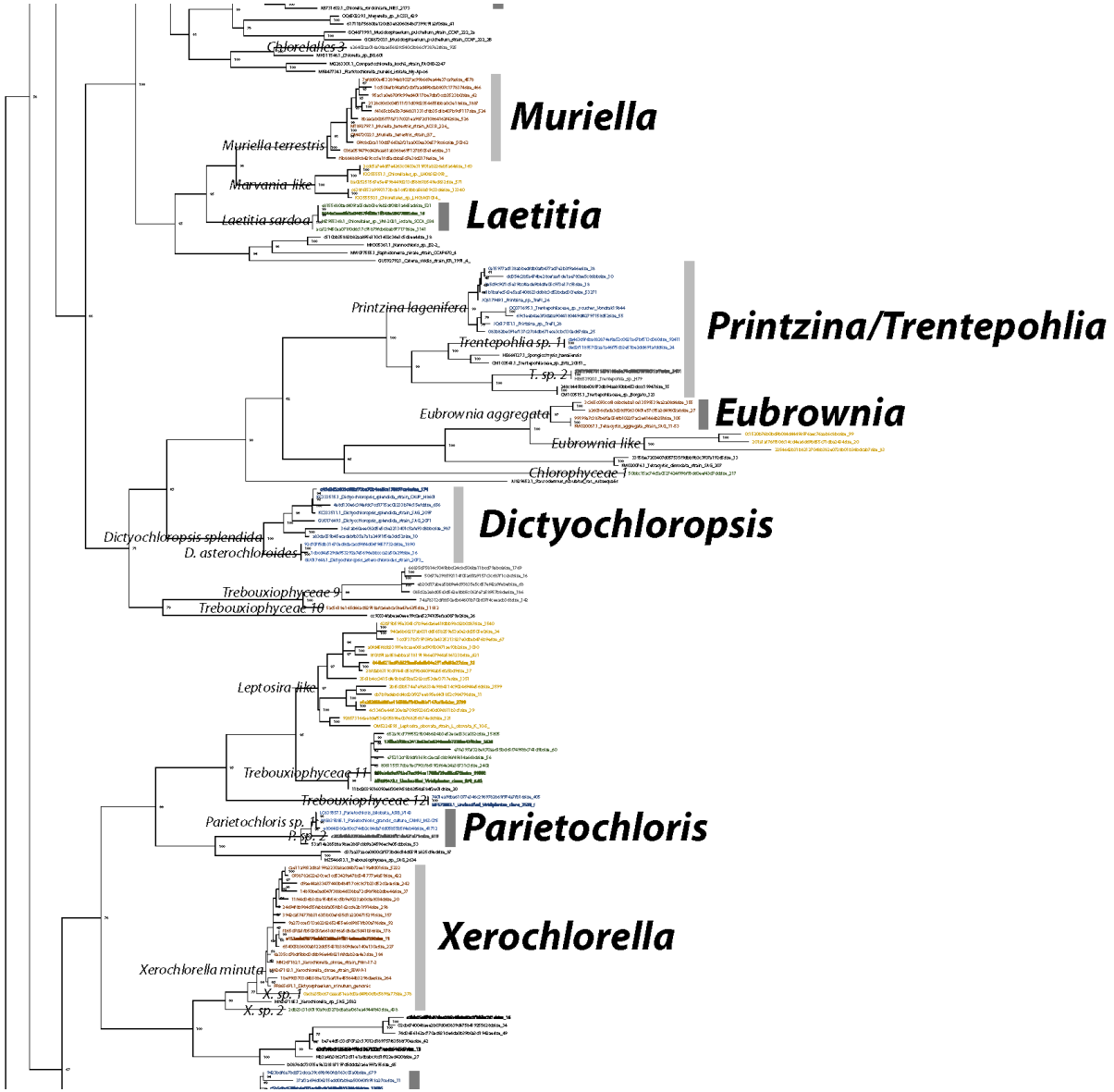


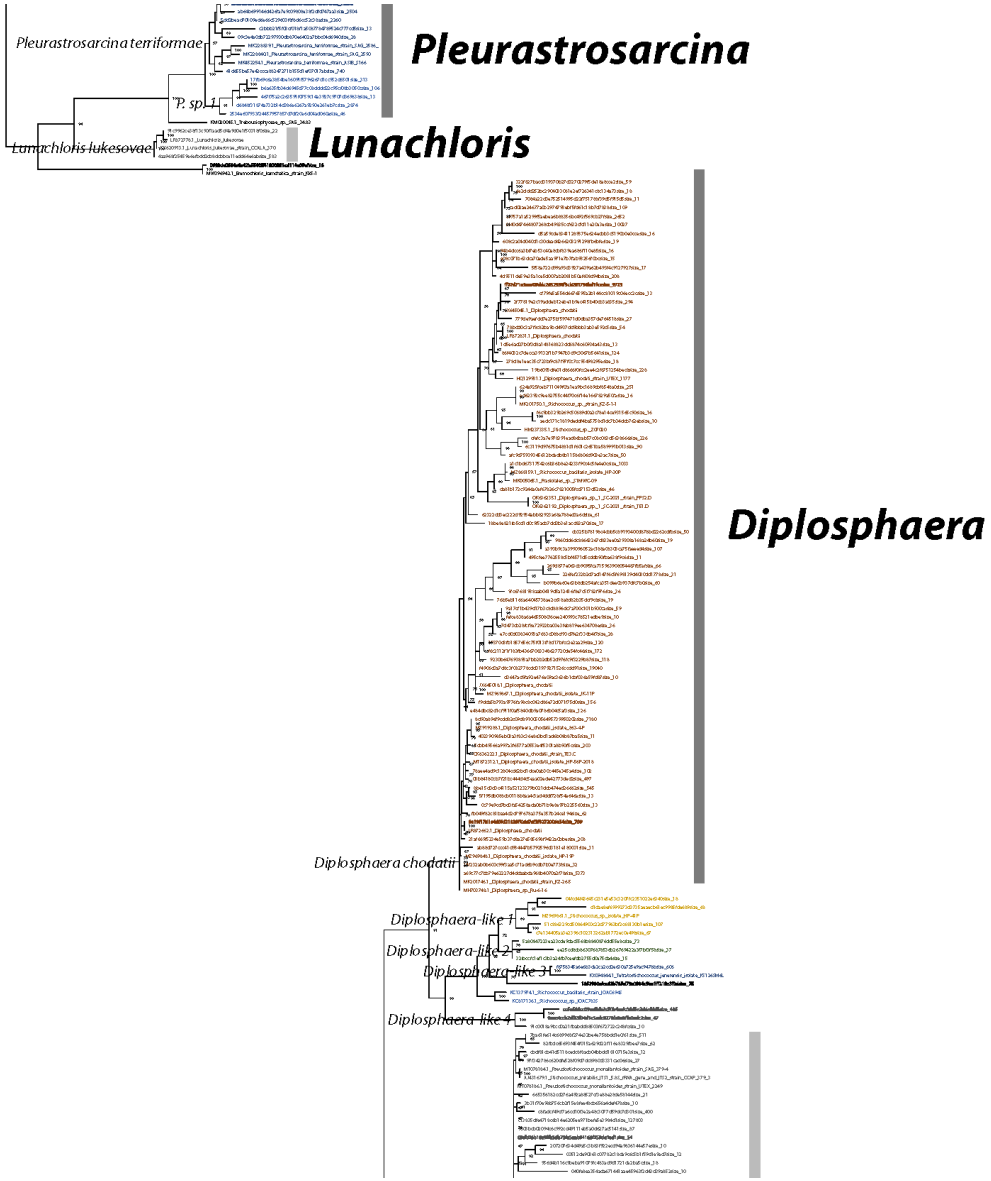
Elliptochloris

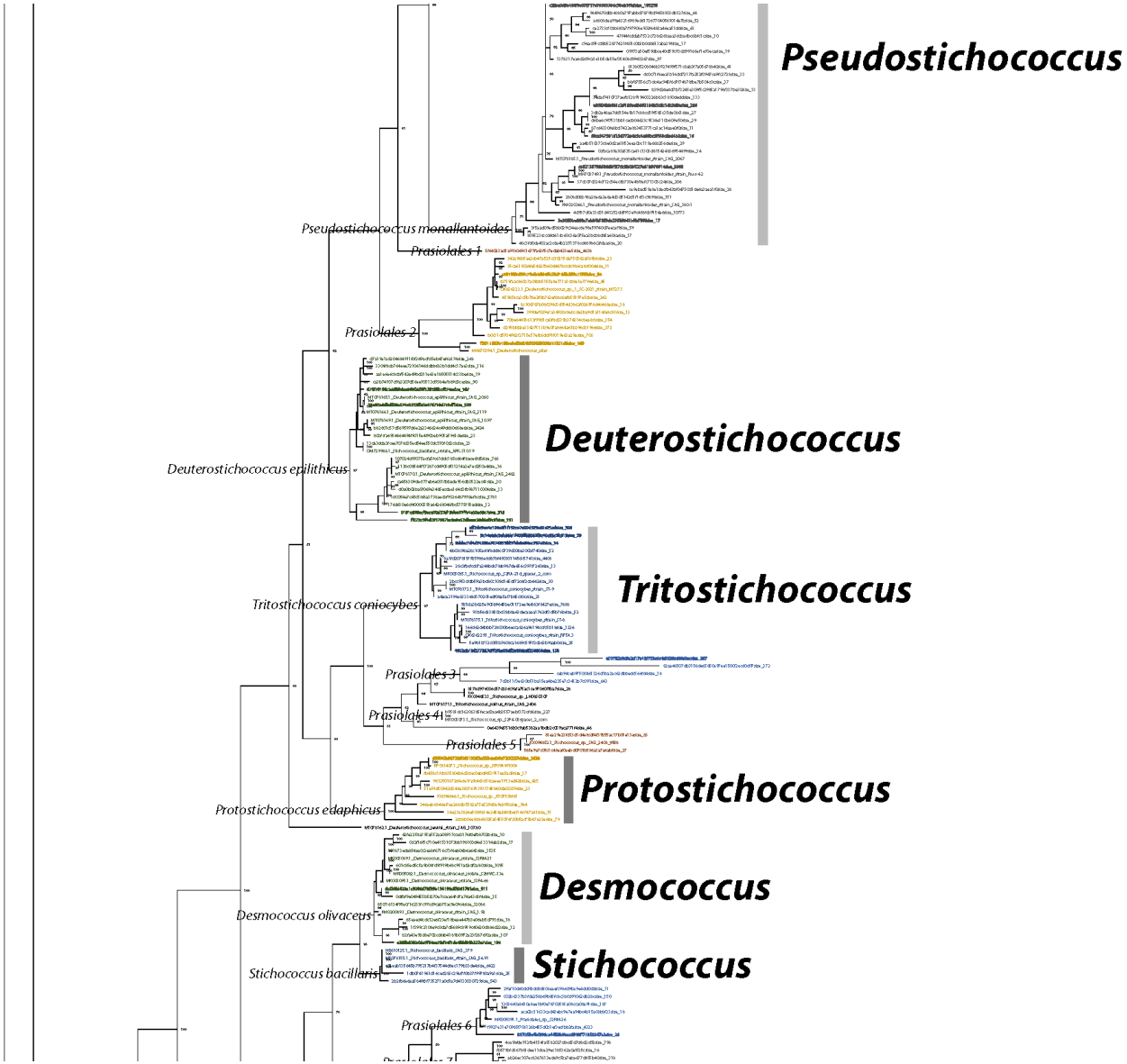

Chloroidium lichenum
Ch. sp. 2
Ch. sp. 1
Ch. viscosum
Ch. orientalis
Ch. sp. 3
Ch. sp. 4
Ch. sp. 5
Ch. sp. 6
Ch. sp. 7
Ch. sp. 8
Ch. antarcticum
Ch. sp. 9
Ch. sp. 10
Ch. sp. 11
Ch. saccharophilum
Ch. sp. 12
Ch. arboricum
Ch. aff. arboricum
Ch. sp. 13
Ch. laureanum
Ch. lobatum
Jaagichlorella roystonensis
J. geometrica
J. africana
J. sp. 1
Watanabea sp. 1
Trebouxiophyceae 1
Symbiochloris sp. 1
S. sp. 2
Chloroidium
Jaagichlorella
Watanabea

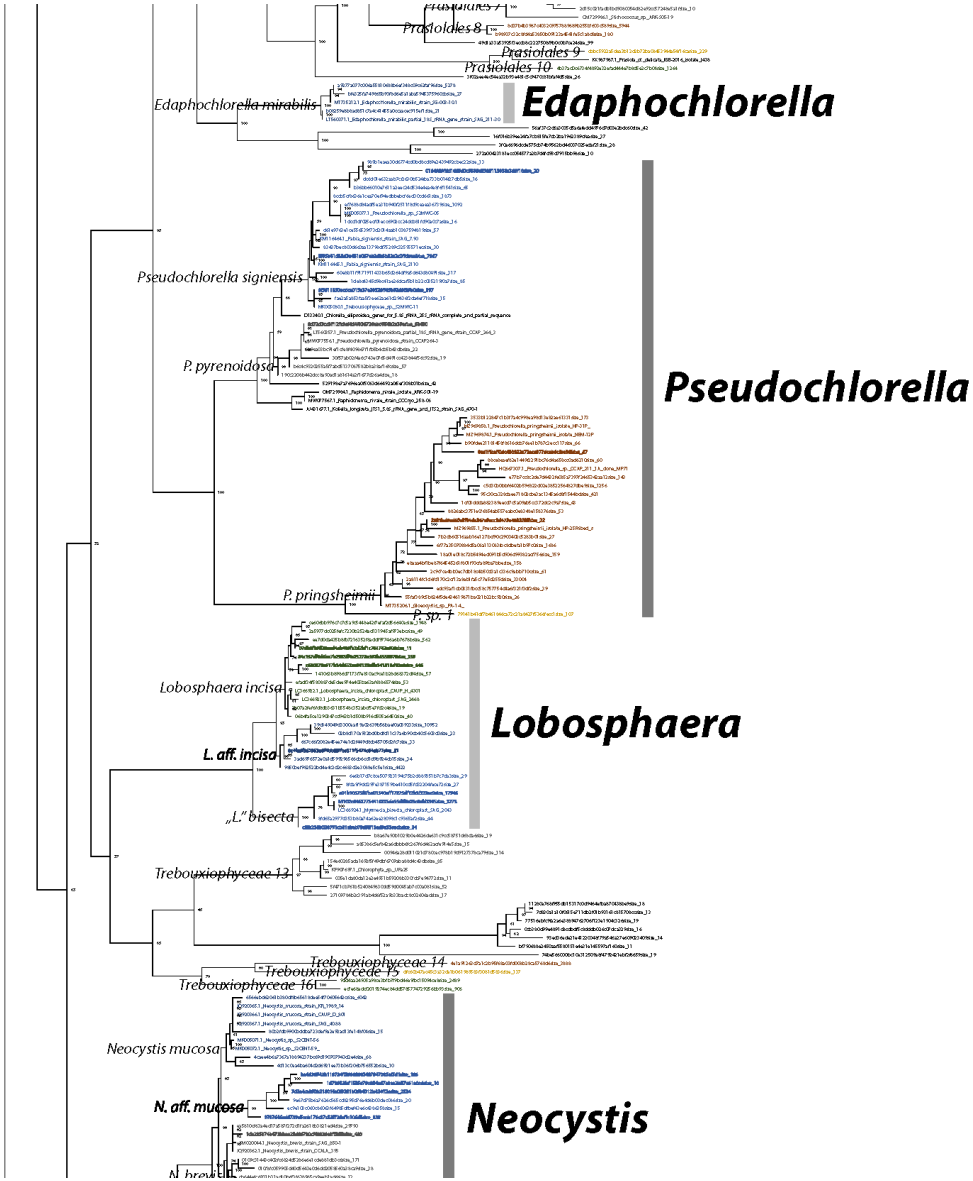

S. sp. 3
S. sp. 4
S. sp. 5
S. symbiontica
S. sp. 6
S. sp. 8
S. sp. 7
S. handae
S. irregularis
S. sp. 10
S. sp. 9
S. sp. 11
S. sp. 12
Symbiochloris
Apatococcus GROUP B
A. sp. 1
A. sp. 2
A. sp. 3
A. lobatus
A. sp. 4
A. sp. 5
A. aff. fuscidae
A. sp. 6
Apatococcus

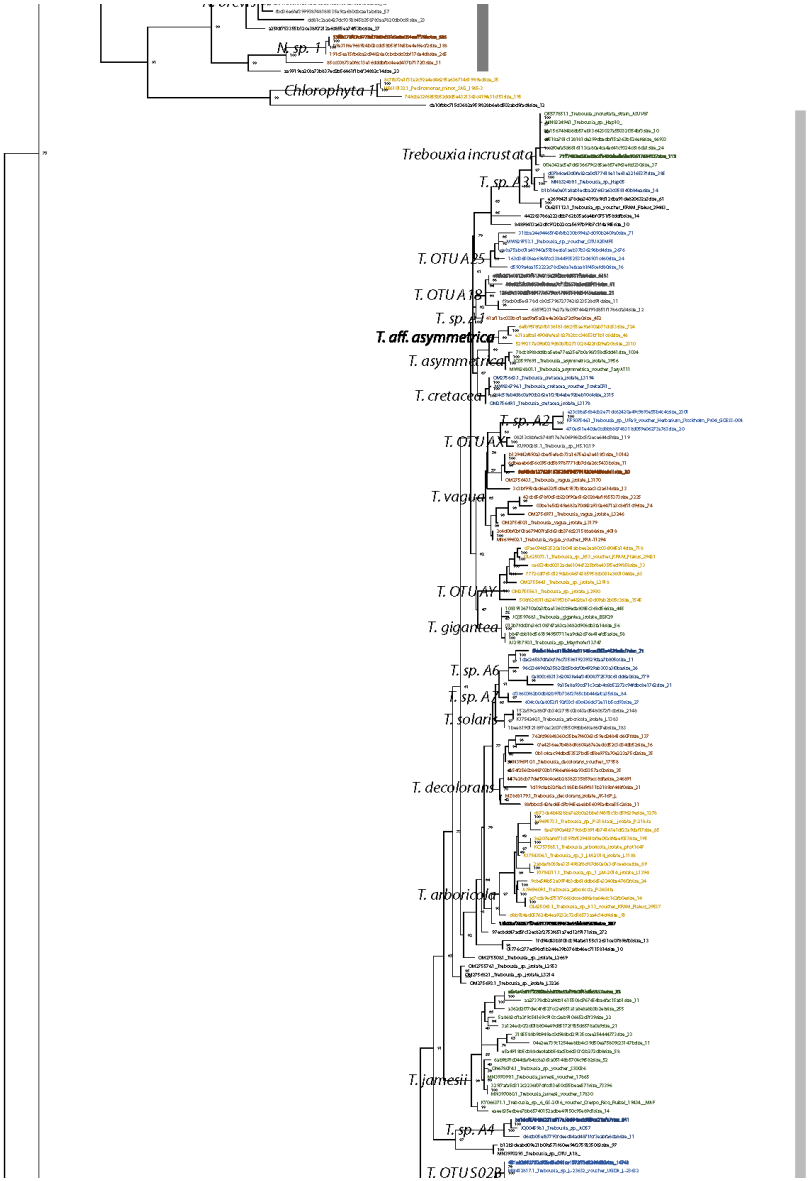

Apatococcus-like 1
Apatococcus-like 2
Apatococcus-like 3
Trebouxiophyceae 2
Trebouxiophyceae 3
Trebouxiophyceae 4
Trebouxiophyceae 5
Trebouxiophyceae 6
Trebouxiophyceae 7
Trebouxiophyceae 8
Auxenochlorella protothecoides
Auxenochlorella
Chlorelales 1
Chlorelales 2
Chlorella vulgaris
Chlorella


Chlorellales 2
Muriella
Muriella terrestris
Marvania like
Laetitia
Laetitia sardoa
Printzina lagenifera
Printzina/Trentepohlia
Trentepohlia sp. 1
T. sp. 2
Eubrownia
Eubrownia aggregata
Eubrownia like
Chlorophyceae 1
Dictyochloropsis
Dictyochloropsis splendida
D. asterochloroides
Trebouxiophyceae 9
Trebouxiophyceae 10
Leptosira like
Trebouxiophyceae 11
Trebouxiophyceae 12
Parietochloris
Parietochloris sp. 1
P. sp. 2
Xerochlorella
Xerochlorella minuta
X. sp. 1
X. sp. 2

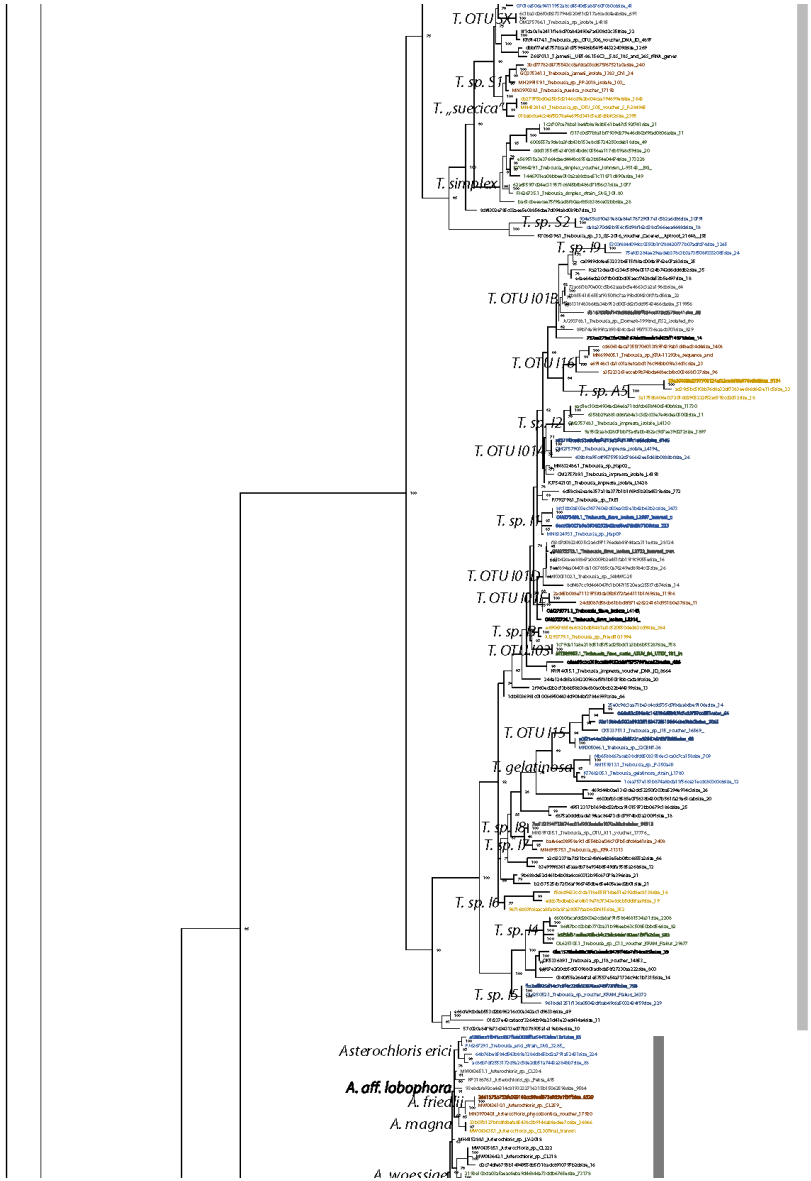

Pleurastrosarcina terriformae
P. sp.
Pleurastrosarcina
Lunachloris lukesovae
Lunachloris
Diplosphaera
Diplosphaera chodatii
Diplosphaera-like 1
Diplosphaera-like 2
Diplosphaera-like 3
Diplosphaera-like 4

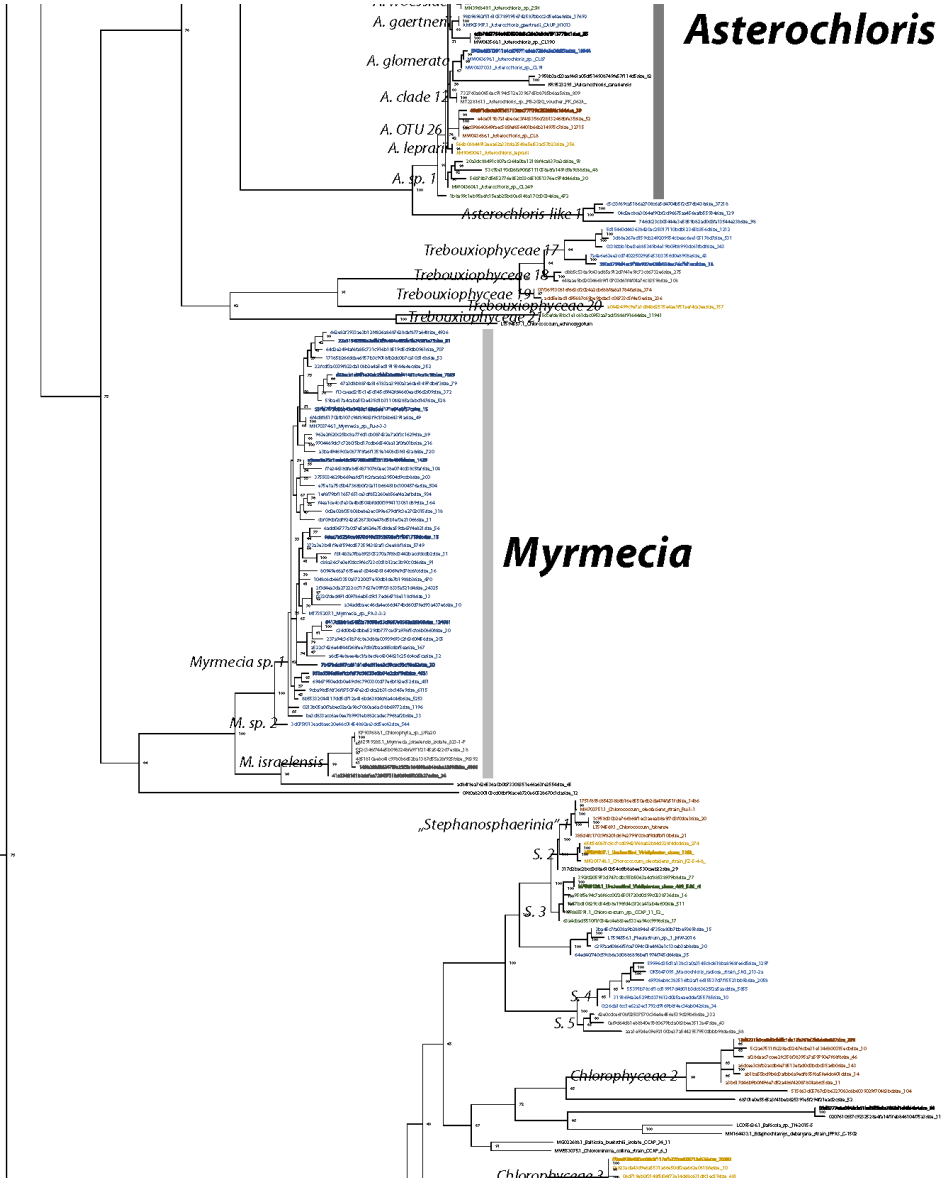

Pseudostichococcus
Pseudostichococcus monallantoides
Prasiolales 1
Prasiolales 2
Deuterostichococcus
Deuterostichococcus epilithicus
Tritostichococcus
Tritostichococcus coniocybes
Prasiolales 3
Prasiolales 41
Prasiolales 5
Protostichococcus
Protostichococcus edaphicus
Desmococcus
Desmococcus olivaceus
Stichococcus
Stichococcus bacillaris
Prasiolales 6

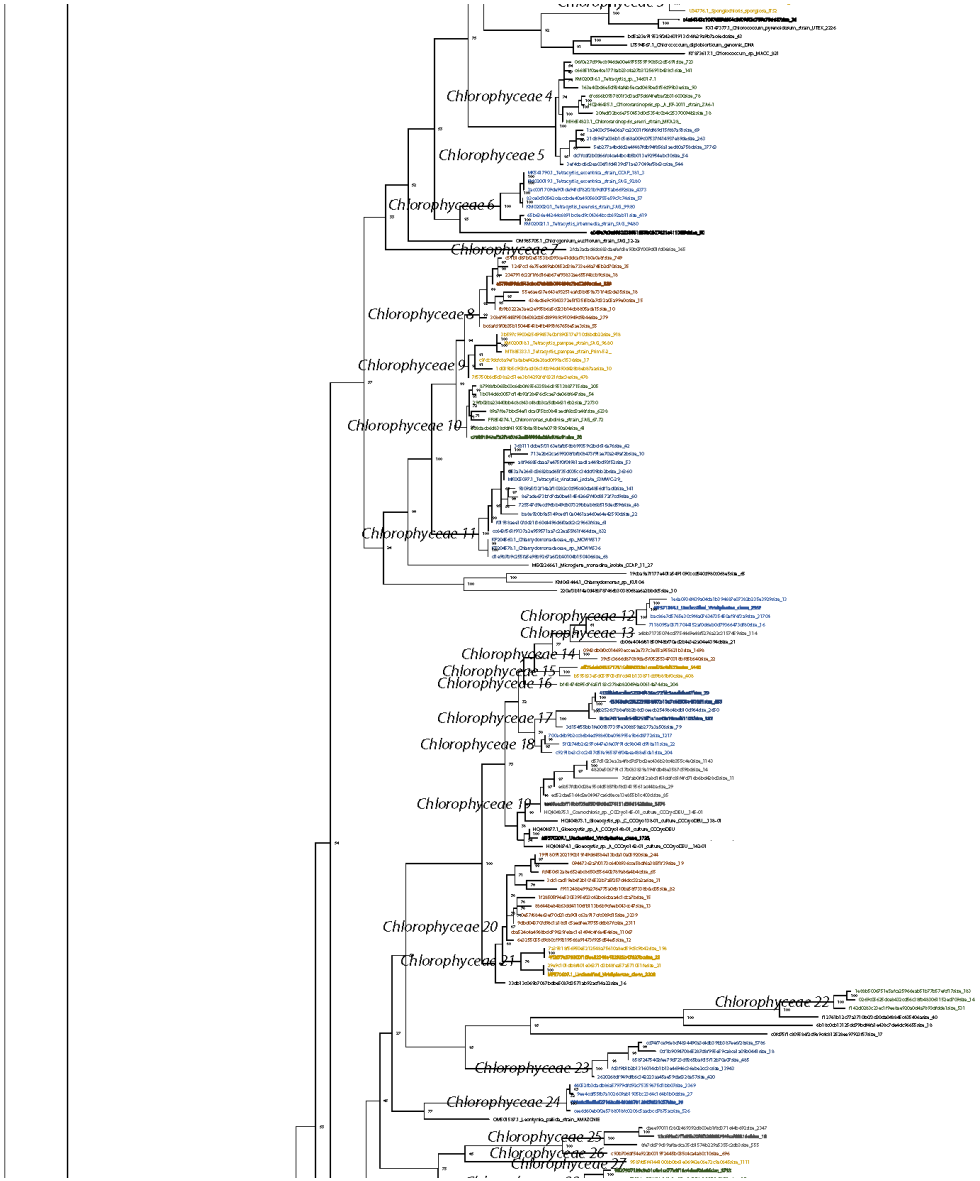

Prasiolales 8
Prasiolales 9
Prasiolales 10
Edaphochlorella mirabilis
Edaphochlorella
Pseudochlorella signiensis
P. pyrenoidosa
P. pringsheimii
P. sp. 1
Pseudochlorella
Lobosphaera incisa
L. aff. incisa
„L." bisecta
Lobosphaera
Trebouxiophyceae 13
Trebouxiophyceae 14
Trebouxiophyceae 15
Trebouxiophyceae 16
Neocystis mucosa
N. aff. mucosa
Neocystis

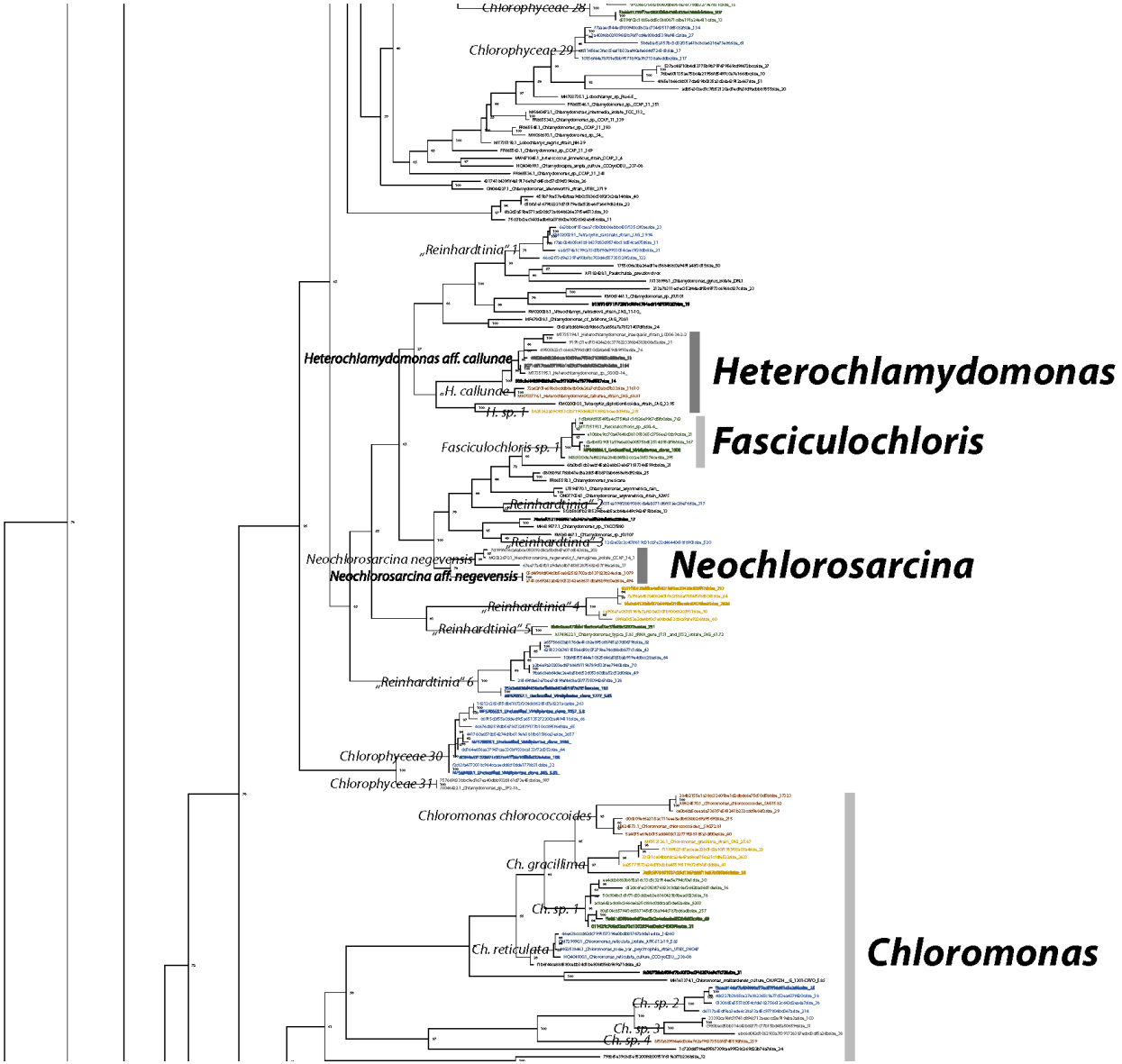

N. sp. 1
Chlorophyta 1
Trebouxia incrustata
T. sp. A3
T. OTU A25
T. OTU A18
T. sp. A5
T. aff. asymmetrica
T. asymmetrica
T. cretacea
T. sp. A2
T. OTU AX
T. vaguae
T. OTU AY
T. gigantea
T. sp. A6
T. sp. A1
T. solaris
T. decolorans
T. arboricola
T. jamesii
T. sp. A4
T. OTU S02B

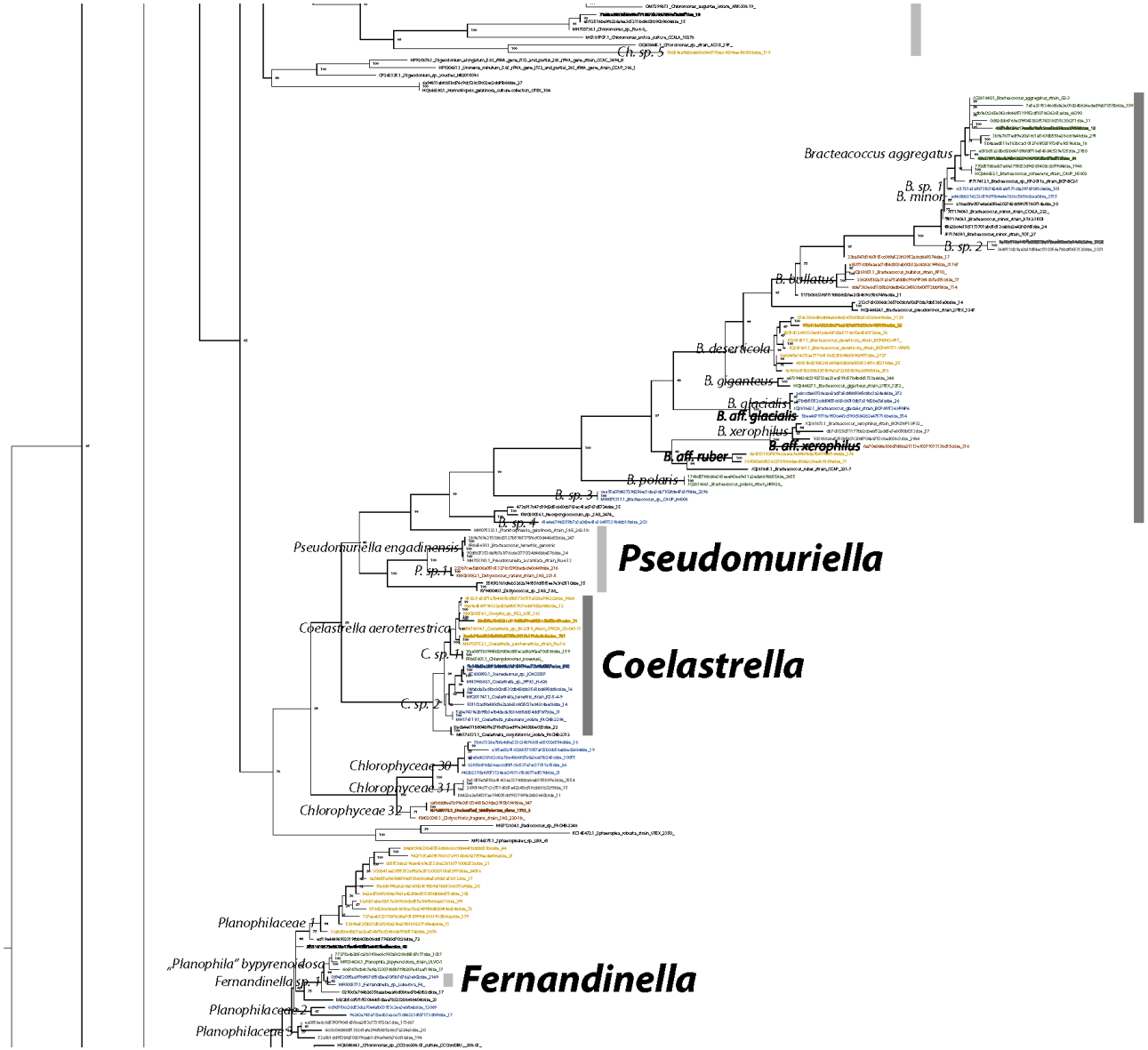
Trebouxia

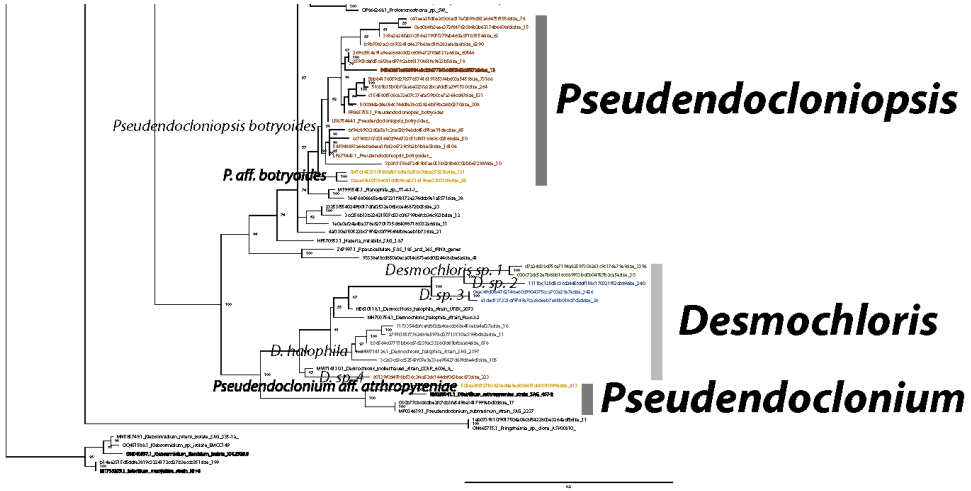

T. OTU 5X
T. sp. S1
T. „suecica"
T. simplex
T. sp. S2
T. sp. I91
T. OTU I01B
T. OTU I16
T. sp. A5
T. sp. I2
T. OTU I07
T. sp. I
T. OTU I01
T. OTU I01E
T. sp. I81
T. OTU I03
T. OTU I15
T. gelatinosa
T. sp. I8
T. sp. I7
T. sp. I6
T. sp. I4
T. sp. I5
Asterochloris ericii
A. aff. lobophora
A. friedlii
A. magna
A. woessiae


Asterochloris
A. gaertneri
A. glomerata
A. clade 12
A. OTU 26
A. leprarii
A. sp. 1
Asterochloris like 1
Trebouxiophyceae 17
Trebouxiophyceae 18
Trebouxiophyceae 19
Trebouxiophyceae 20
Trebouxiophyceae 21
Myrmecia
Myrmecia sp. 1
M. sp. 2
M. israelensis
„Stephanosphaerinia"
S. 2
S. 3
S. 4
S. 5
Chlorophyceae 2
Chlorophyceae 3


Chlorophyceae 4
Chlorophyceae 5
Chlorophyceae 6
Chlorophyceae 7
Chlorophyceae 8
Chlorophyceae 9
Chlorophyceae 10
Chlorophyceae 11
Chlorophyceae 12
Chlorophyceae 13
Chlorophyceae 14
Chlorophyceae 15
Chlorophyceae 16
Chlorophyceae 17
Chlorophyceae 18
Chlorophyceae 19
Chlorophyceae 20
Chlorophyceae 21
Chlorophyceae 22
Chlorophyceae 23
Chlorophyceae 24
Chlorophyceae 25
Chlorophyceae 26
Chlorophyceae 27


Chlorophyceae 28
Chlorophyceae 29
„Reinhardtinia" 1
Heterochlamydomonas aff. callunae
„H. callunae"
H. sp. 1
Heterochlamydomonas
Fasciculochloris sp. 1
Fasciculochloris
„Reinhardtinia" 2
„Reinhardtinia" 3
Neochlorosarcina negevensis
Neochlorosarcina aff. negevensis
Neochlorosarcina
„Reinhardtinia" 4
„Reinhardtinia" 5
„Reinhardtinia" 6
Chlorophyceae 30
Chlorophyceae 31
Chloromonas chlorococcoides
Ch. gracillima
Ch. sp. 1
Ch. reticulata
Ch. sp. 2
Ch. sp. 3
Ch. sp. 4
Chloromonas


Ch. sp. 5
Bracteacoccus aggregatus
B. sp. 1
B. minor
B. sp. 2
B. bullatus
B. desertcola
B. giganteus
B. glacialis
B. aff. glacialis
B. xerophilus
B. aff. xerophilus
B. aff. ruber
B. polaris
B. sp. 3
B. sp. 4
Bracteacoccus
Pseudomurìella engadinensis
P. sp. 11
Pseudomuriella
Coelastrella aeroterrestrica
C. sp. 11
C. sp. 2
Coelastrella
Chlorophyceae 30
Chlorophyceae 31
Chlorophyceae 32
Planophilaceae 1
„Planophila" bypyrenoidosa
Fernandinella sp. 1
Fernandinella
Planophilaceae 2
Planophilaceae 3


Pseudendocloniopsis botryoides
P. aff. botryoides
Pseudendocloniopsis
Desmochloris sp. 1
D. sp. 2
D. sp. 3
D. halophila
D. sp. 4
Desmochloris
Pseudendoclonium aff. atthropyrenige
Pseudendoclonium

Příloha 2: Přehled lišejníků. Oranžově epifytické lišejníky, šedě terikolní a žlutě saxikolní. Čeleď a způsob rozmnožování dle ITALIC 7.0 (Martellos et al. 2023).

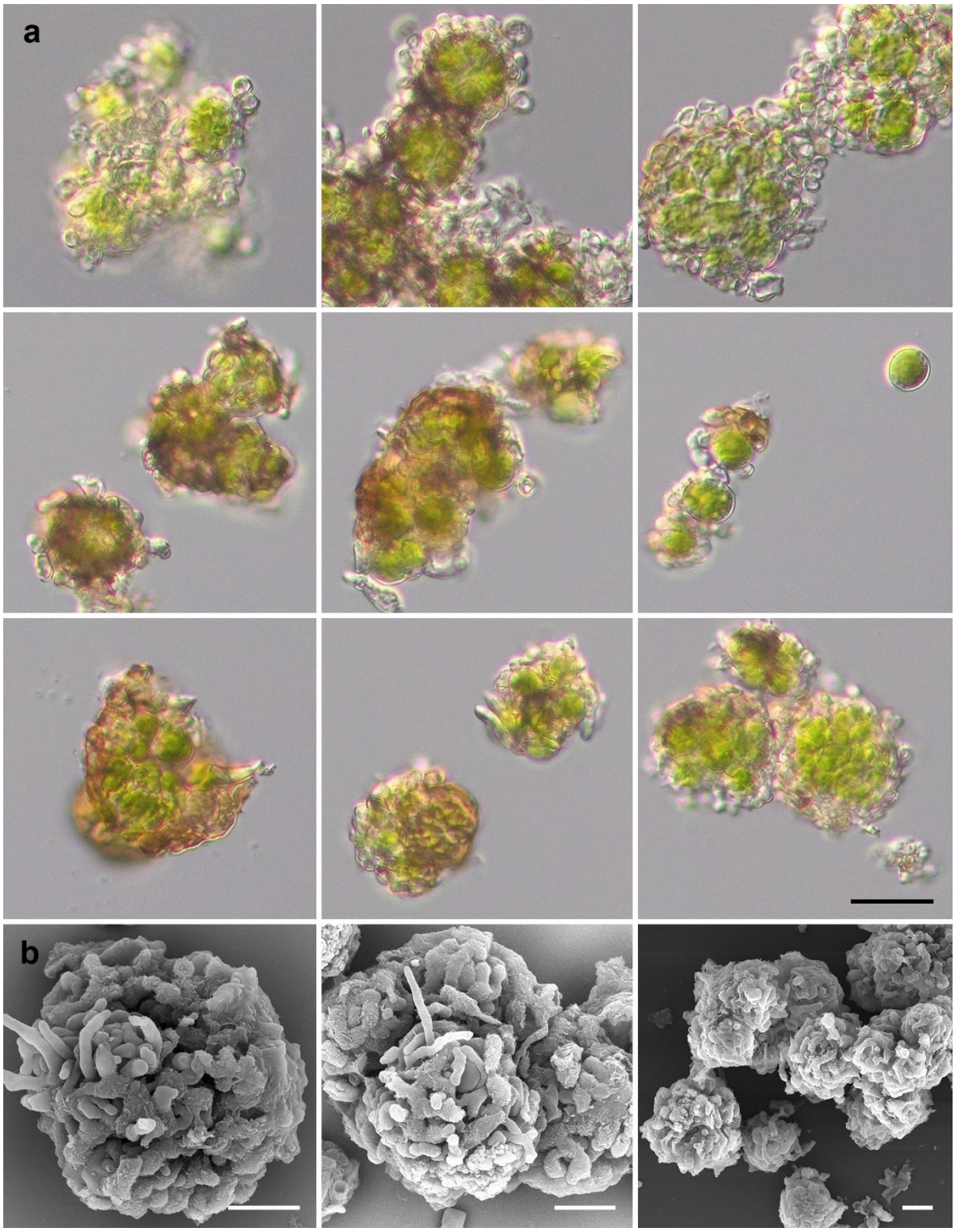
ID	Lišejník	Čeleď	Rozmnožování	Fotobiont
EP01	*Parmelia sulcata*	Parmeliaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I7*
EP02	*Physcia tenella*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP03	*Candelariella reflexa*	Candelariaceae	soredie	/
EP04	*Xanthoria parietina*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP05	*Xanthoria parietina*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP06	*Physcia* cf. *aipolia*	Physciaceae	spory	*Trebouxia OTU I01B*
EP07	*Lecanora* sp.	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP08	*Candelariella vitellina*	Candelariaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP09	*Physcia* cf. *caesia*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01D*
EP10	*Physcia aipolia*	Physciaceae	spory	*Trebouxia* sp. *I2*
EP11	*Physcia tenella*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP12	*Lecanora* sp.	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia simplex*
EP13	*Parmelia sulcata*	Parmeliaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP14	*Phaeophyscia* cf. *orbicularis*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01D*
EP15	*Melanelixia* cf. *glabratula*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP16	*Melanelixia glabratula*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP17	*Physcia adscendens*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP18	*Ramalina* sp.	Ramalinaceae	?	*Trebouxia jamesii*
EP19	*Ramalina* sp.	Ramalinaceae	?	*Trebouxia jamesii*
EP20	*Physcia adscendens*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP21	*Physcia caesia*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01D*
EP22	*Candelariella reflexa*	Candelariaceae	soredie	/
EP23	*Bacidina mendax*	Ramalinaceae	spory	/
EP24	*Bacidina mendax*	Ramalinaceae	spory	/
EP25	*Scoliciosporum sarothamni*	Scoliciosporaceae	soredie	/
EP26	*Parmelia sulcata*	Parmeliaceae	soredie	*Trebouxia gelatinosa*
EP27	*Parmelia sulcata*	Parmeliaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP28	*Cladonia* sp.	Cladoniaceae	soredie	*Asterochloris magna*
EP29	*Melanelixia glabratula*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP30	*Melanelixia* cf. *glabratula*	Parmeliaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I8*
EP31	*Xanthoria parietina*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP32	*Xanthoria parietina*	Teloschistaceae	spory	/

ID	Lišejník	Čeleď	Rozmnožování	Fotobiont
EP33	*Physcia adscendens*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP34	*Xanthoria* cf. *polycarpa*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP35	*Physcia tenella*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01E*
EP36	*Physcia* sp.	Physciaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I10*
EP37	*Xanthoria* cf. *polycarpa*	Teloschistaceae	spory	/
EP38	*Physcia* cf. *orbicularis*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01D*
EP39	*Pertusaria* sp.	Pertusariaceae	soredie	*Symbiochloris* sp. *12*
EP40	*Pertusaria* sp.	Pertusariaceae	soredie	*Symbiochloris* sp. *12*
EP41	*Physcia tenella*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
EP42	*Physcia* cf. *nigricans*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I12*
EP43	*Physcia* cf. *stellaris*	Physciaceae	spory	*Trebouxia OTU I01B*
EP44	*Phaeophyscia orbicularis*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I11*
EP45	*Lepraria* sp.	Stereocaulaceae	soredie	*Asterochloris gaertnerii*
EP46	*Candelariella vitellina*	Candelariaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP47	*Physcia* cf. *caesia*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I10*
EP48	*Physcia* cf. *caesia*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia* sp. *I10*
EP49	*Lecania naegeli*	Ramalinaceae	spory	/
EP50	*Amandinea punctata*	Caliciaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP51	*Amandinea punctata*	Caliciaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
EP52	*Scoliciosporum sarothamni*	Scoliciosporacea e	soredie	/
VIN1/1	*Cladonia rangiformis*	Cladoniaceae	fragmentace	*Asterochloris woessiae*
VIN1/2	*Cladonia foliacea*	Cladoniaceae	fragmentace/spor y	*Asterochloris woessiae*
VIN1/3	*Cladonia subulata*	Cladoniaceae	soredie/spory	*Asterochloris glomerata*
VIN1/4	*Xanthoparmelia protomatrae*	Parmeliaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/5	*Xanthoparmelia stenophylla*	Parmeliaceae	spory	*Trebouxia vagua*
VIN1/6	*Xanthoparmelia conspersa*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia vagua*
VIN1/7	*Xanthoparmelia loxodes*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia incrustata*
VIN1/8	*Xanthoparmelia verruculifera*	Parmeliaceae	izídie	*Trebouxia vagua*

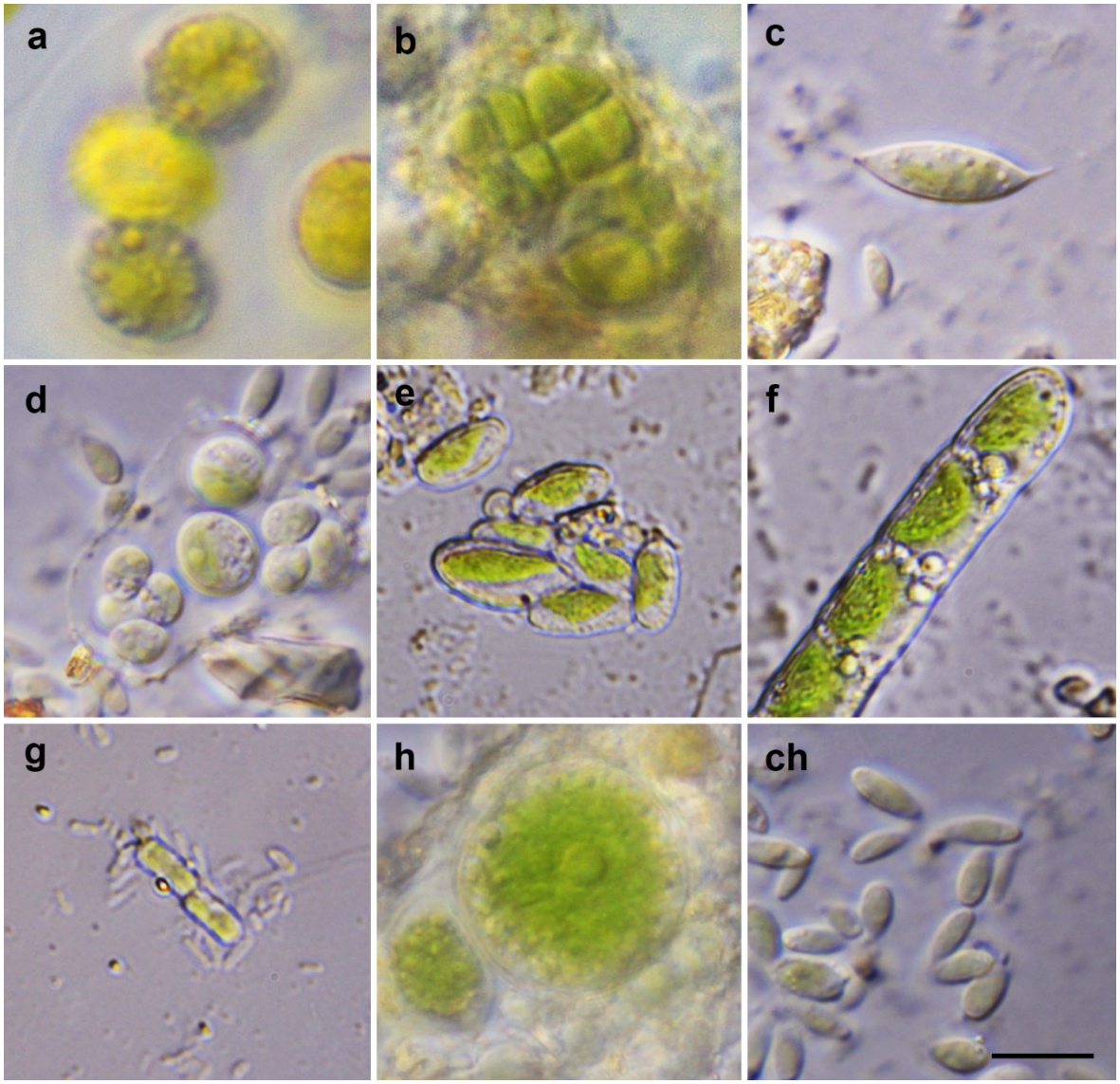
ID	Lišejník	Čeleď	Rozmnožování	Fotobiont
VIN1/9	*Protoparmeliopsis muralis*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/10	*Candelariella vitellina*	Candelariaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/11	*Acarospora* cf. *fuscata*	Acarosporaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/12	*Buellia aethalea*	Caliciaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/13	*Scoliciosporum umbrinum*	Scoliciosporaceae	spory	/
VIN1/14	*Lecidea fuscoatra*	Lecideaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/15	*Rhizocarpon geographicum*	Rhizocarpaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/16	*Lecanora rupicola*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/17	*Aspiciliella* cf. *intermutans*	Megasporaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/18	*Circinaria hoffmaniana*	Megasporaceae	spory	/
VIN1/19	*Lecidella carpathica*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/20	*Amandinea punctata*	Caliciaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/21	*Polysporina simplex*	Acarosporaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/22	*Caloplaca atroflava*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN1/23	*Trapelia placodioides*	Trapeliaceae	soredie	*Pseudochlorella pyrenoidosa*
VIN1/24	*Rimularia furvella*	Trapeliaceae	izídie	*Pseudostichococcus monallantoides*
VIN1/25	*Verrucaria sp.*	Verrucariaceae	spory	/
VIN1/26	*Lepraria* cf. *elobata*	Stereocaulaceae	soredie	*Asterochloris friedlii*
VIN2/1	*Physcia tenella*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
VIN2/2	*Physcia caesia*	Physciaceae	soredie	/
VIN2/3	*Phaeophyscia orbicularis*	Physciaceae	soredie	/
VIN2/4	*Phaeophyscia nigricans*	Physciaceae	soredie	/
VIN2/5	*Physcia adscendens*	Physciaceae	soredie	*Trebouxia OTU I01B*
VIN2/6	*Xanthoria parietina*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
VIN2/7	*Verrucaria* sp.	Verrucariaceae	spory	*Diplosphaera chodatii*
VIN2/8	*Buellia aethalea*	Caliciaceae	spory	/
VIN2/9	*Lecidella stigmatea*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*

ID	Lišejník	Čeleď	Rozmnožování	Fotobiont
VIN2/10	*Lecanora dispersa*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia decolorans*
VIN2/11	*Caloplaca* cf. *holocarpa*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia decolorans*
VIN2/12	*Lecanora polytropa*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN2/13	*Polysporina simplex*	Lecanoraceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN2/14	cf. *Placynthiella icmalea*	Trapeliaceae	soredie	/
VIN2/15	*Candelariella vitellina*	Candelariaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN2/16	*Caloplaca atroflava*	Teloschistaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN2/17	*Verrucaria* sp.	Verrucariaceae	spory	*Diplosphaera chodatii*
VIN2/18	*Trapelia coarctata*	Trapeliaceae	spory	*Pseudochlorella pyrenoidosa*
VIN2/19	*Scoliciosporum umbrinum*	Scoliciosporaceae	spory	*Pseudochlorella pringsheimii*
VIN2/20	cf. *Bacidina*	Ramalinaceae	soredie	/
VIN2/21	*Acarospora cf. fuscata*	Acarosporaceae	spory	*Trebouxia incrustata*
VIN2/22	*Amandinea punctata*	Caliciaceae	spory	/
VIN2/23	cf. *Bacidina*	Ramalinaceae	soredie	/
VIN2/24	cf. *Bacidina*	Ramalinaceae	soredie	*Trebouxia incrustata*

Příloha 3: Soredie epifytických lišejníků z blízkého okolí lokality VIN2 ve světelném (a) a skenovacím elektronovém mikroskopu (b). Měřítka: (a) 20 µm, (b) 10 µm.



Příloha 4: Přímá pozorování společenstev půdních řas vyvíjejících se na plastových krycích sklíčkách. (a) *Chlamydomonas*-like, (b) *Diplosphaera*-like, (c) *Keratococcus*, (d) *Pseudochlorella*, (e) *Chloroidium*, (f) *Klebsormidium*, (g) *Stichococcus*, (h) *Trebouxia*/*Asterochloris*, (ch) *Coccomyxa*. Měřítko 10 µm.



9.1 Elektronické přílohy

Elektronická příloha 1: Relativní abundance druhů detekovaných metabarcodingem (EP1_druhy.csv).

Elektronická příloha 2: ML strom rodu *Trebouxia* obsahující Sanger sekvence lišejníků, environmentální sekvence a referenční sekvence dle Muggia et al. 2020 a Peksa et al. 2022 (EP2_Trebouxia.png).

Elektronická příloha 3: ML strom rodu *Asterochloris* obsahující Sanger sekvence lišejníků, environmentální sekvence a referenční sekvence (Škaloud, nepublikováno; EP3_Asterochloris.png).

Elektronická příloha 4: ML strom rodů *Pseudochlorella*, *Symbiochloris*, *Diplosphaera* a *Pseudostichococcus* obsahující Sanger sekvence lišejníků, environmentální sekvence a relevantní BLAST výsledky (EP4_ostatni.png).

Elektronická příloha 5: Rychlosti a směry větru naměřené na lokalitě za období únor 2022–duben 2023 (EP5_vitr.csv)