

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Eliška Mot'ková

Bakterie v lišejníkové symbióze

Bacteria in the lichen symbiosis

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Školitelka: Mgr. Jana Steinová, 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, 3. 8. 2023

Podpis:

Poděkování

Můj dík patří zejména školitelce Mgr. Janě Steinové, Ph.D. za mnohé rady i podporu, které mi při psaní bakalářské práce poskytla.

Abstrakt

Tato práce poskytuje přehled dosud publikovaných poznatků týkajících se bakterií v lišejníkové symbióze. Na začátku je popsána lišejníková symbióza a organismy, které se jí účastní. Zvláštní pozornost je věnována symbiotickým bakteriím vyskytujícím se v lišejníkových stélkách, které mají v této symbióze nezastupitelnou roli. Důraz je kladen především na různé funkce, které bakterie v lišejníkové symbióze mohou mít. Tyto funkce zahrnují například fixaci vzdušného dusíku, tvorbu kobalaminu, nezbytného pro růst některých řas, vylučování antimikrobiálních látek a recyklaci živin obsažených ve starých částech stélky. V práci jsou dále uvedeny hlavní skupiny bakterií, které se vyskytují v lišejníkové symbióze, spolu s faktory, které ovlivňují jejich výskyt. Nejhojněji se vyskytující skupinou bakterií v lišejnících jsou alfa proteobakterie. Jejich výskyt v lišejnících je pravděpodobně ovlivněn i častým výskytem těchto bakterií v substrátu, na kterém lišejník roste. Dalšími hojně zastoupenými skupinami bakterií v lišejnících jsou zástupci kmene Firmicutes, aktinobakterie či acidobakterie. Všechny důležité skupiny bakterií lišejníky přebírají jak vertikálním přenosem, tak přenosem horizontálním.

Klíčová slova: alfa proteobakterie, fixace dusíku, antagonistická aktivita, mikrobiota, biofilm

Abstract

This thesis summarizes the most recent research on bacteria in lichen symbiosis. Lichen symbiosis and the partners participating in it are described in the first part of the thesis. The emphasis is mainly on the different functions that bacteria can have in lichen symbiosis. These functions include, for example, the fixation of atmospheric nitrogen, the production of cobalamin, essential for the growth of some algae, the secretion of antimicrobial substances and the recycling of nutrients contained in old parts of the litter. The main groups of bacteria that occur in the lichen symbiosis are also discussed, along with the factors that influence their occurrence. The most abundant group of bacteria in lichens are the Alphaproteobacteria. Their abundance in lichens is probably influenced by the frequent occurrence of these bacteria in the substrate on which the lichen grows. Other abundant groups of bacteria in lichens are representatives of Firmicutes, actinobacteria or acidobacteria. All important groups of bacteria are acquired by lichens through both vertical transfer and horizontal transfer.

Key words: Alphaproteobacteria, nitrogen fixation, antagonistic activity, microbiota, biofilm

Obsah

Úvod	1
1 Partneri v lišejníkové symbióze.....	2
1.1 Mykobiont	3
1.2 Fotobiont	3
1.3 Kvasinky.....	4
1.4 Bakterie	4
2 Funkce bakterií	5
2.1 Fixace dusíku.....	5
2.2 Tvorba kobalaminu.....	6
2.3 Tolerance vůči kovům	6
2.4 Antagonistická aktivita.....	6
2.5 Dekompozice staré stélky.....	7
2.6 Produkce hormonů.....	8
2.7 Rozpouštění fosfátů.....	8
2.8 Další funkce bakterií.....	9
3 Faktory ovlivňující diverzitu bakterií ve stélkách lišejníků	10
3.1 Lokalizace ve stélce.....	10
3.2 Geografické rozdíly	11
3.3 Vliv stanoviště a substrátu.....	12
3.4 Rozdíly ve složení bakteriálních společenstev mezi jednotlivými druhy.....	13
3.5 Vliv fotobionta na složení mikrobiálních společenstev.....	14
3.6 Vliv stáří stélky	14
4 Bakterie v průběhu rozšiřování lišejníku.....	15
5 Metody zkoumání bakterií v lišejnících	16
6 Diverzita bakterií	17
Závěr.....	21
Seznam použité literatury	23

Úvod

Symbiotické bakterie jsou rozšířeny napříč různými organismy. Například střevní mikrobiota živočichů i člověka je pro jejich život velmi důležitá (Andersson et al., 2008; Barke et al., 2010). I u rostlin jsou známy symbiotické bakterie žijící v jejich kořenovém systému, které napomáhají jejich životaschopnosti (Andrade et al., 1997). Lišejníková mikrobiota je neméně důležitá pro život lišejníků. Stejně jako u rostlin a živočichů, je druhově specifická a je utvářena z různých skupin bakterií, přičemž některé jsou zastoupeny více než jiné (Grube et al., 2009). Uvádí se, že bakterií ve stélce může žít až 10^8 buněk bakterií na 1 gram živé hmotnosti lišejníku (Grube et al., 2009). Bakterie v lišejníkové symbióze jsou pro organismy tvořící lišejník přínosné v mnoha různých aspektech. Napomáhají např. recyklaci živin, vytvářejí důležité hormony, fixují vzdušný dusík nebo mohou být prospěšné pro fotobionta tím, že mu poskytují vitamin B₁₂. V posledních přibližně patnácti letech je diverzita a role bakterií v lišejníkové symbióze poměrně intenzivně studována. Někteří autoři dokonce nazývají lišejníkové bakterie bakteriobiontem (Swamy a Gayathri 2021; Jiang et al. 2017; Pankratov 2023) a staví je na podobnou úroveň jako mykobionta, fotobionta či cyanobionta.

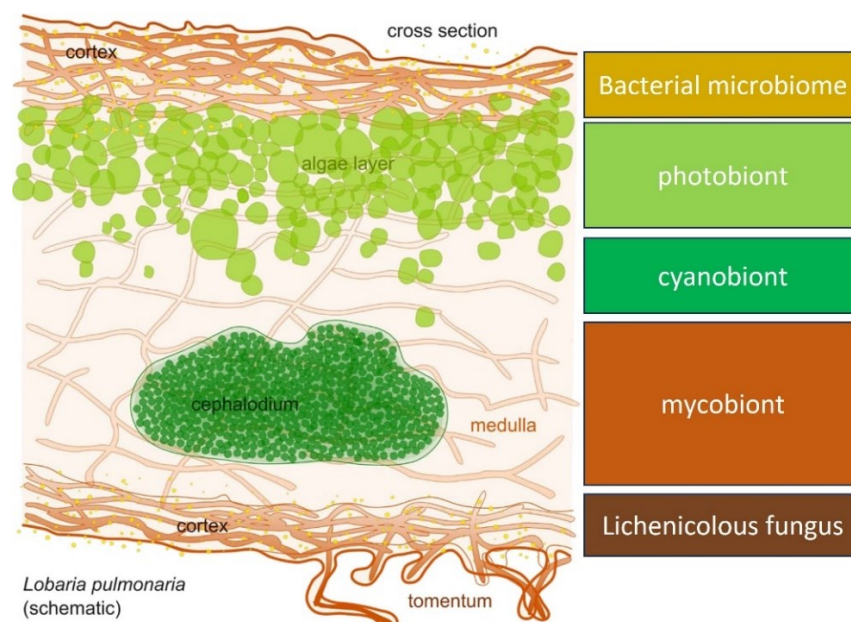
Bakterie v lišejnících byly poprvé popsány v práci Uphof (1925). Od tohoto objevu bylo k tématu publikováno pouze malé množství článků (Henkel a Plotnikova 1973; Henckel a Yuzhakova 1936; Panosyan a Nikogosyan 1966; Lenova a Blum 1983 citováno podle Grimm et al. 2021). K intenzivnímu rozvoji výzkumu bakterií spojených s lišejníky došlo až v nultých letech dvacátého století s rozvojem molekulárních a zobrazovacích metod (např. sekvenace nukleových kyselin či FISH kombinovaná s konfokální mikroskopií). Poprvé byly tyto metody využity ke studiu lišejníkové mikrobioty v roce 2006 (Cardinale et al., 2006), v pozdějších letech na tuto studii různí autoři začali navazovat a množství publikovaných článků se značně zvýšilo (např. Grube et al. 2009; Printzen et al. 2012; Sigurbjörnsdóttir, Andrésson, a Vilhelmsson 2015; Eymann et al. 2017; Pankratov et al. 2020; Xu et al. 2022; Pankratov 2023). K dnešku bylo na téma bakterií v lišejníkové symbióze publikováno přibližně 90 prací.

Cílem této práce je shrnout dostupnou literaturu zabývající se výskytem symbiotických necyanobakteriálních bakterií v lišejnících, jejich funkcí, diverzitou a faktory, které tuto diverzitu ovlivňují.

1 Partneři v lišejníkové symbióze

Symbiotické vztahy hub s jinými organismy, především s fotoautotrofním organismem, jsou velice staré. Jedním z často uváděných příkladů houbových symbiotických interakcí jsou lišejníky, o kterých se v literatuře uvádí, že existovaly již nejméně před 415 miliony let (Honegger et al., 2013). Jedná se především o suchozemské organismy, ačkoliv existují určité výjimky, kterými jsou lišejníky žijící ve vodním prostředí, a to jak v mořském (West et al., 2018), tak ve sladkovodním (Jones et al., 2014). Mohou se vyskytovat v široké škále klimatických podmínek: od tropických deštných lesů až po polární oblasti. V některých biotopech jsou tak rozšířeny, že tvoří zásadní část celkové hmotnosti veškeré biomasy (Miranda-González and McCune, 2020). Lišejníky jsou hojně rozšířeny napříč ekosystémy i díky své schopnosti dobře zvládat extrémní podmínky. Například lišejníky z Antarktidy jsou schopné snášet teploty klesající i k $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a srážky nepřesahující 50 mm za rok. Jiné druhy lišejníků, adaptované na život v poušti, jsou naopak schopny se vyrovnat i s teplotami dosahujícími $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Spribille et al., 2022). Některé lišejníky jsou však schopny přežít i ještě extrémnější podmínky. Druh *Xanthoria parietina* byl např. schopen růst i po úpravě pro skenovací elektronovou mikroskopii (Honegger, 1995), která zahrnuje kroky jako je např. ponoření do kapalného dusíku o teplotě $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dále byly v literatuře popsány i případy, kdy byly lišejníky schopny přežít i ve vesmírných podmínkách (Brandt et al., 2015; de Vera, 2012).

Lišejníky byly tradičně nahlíženy jako mutualistické soužití jednoho heterotrofního mykobionta a autotrofního fotobionta (Nash, 1996). V současnosti je objevováno stále více dalších organismů zapojujících se do lišejníkové symbiózy a pojetí lišejníků jako symbiotického organismu se tak rozšiřuje o další partnery jako např. kvasinky či bakterie (viz Obr. 1) (Bates et al. 2011; Spribille et al. 2016).



Obr. 1 – Schéma řezu stélkou lišejníku *Lobaria pulmonaria* zobrazující organismy podílející se na lišejníkové symbióze (upraveno podle Eymann et al. (2017)).

1.1 Mykobiont

Mykobiont tvoří většinu stélky a utváří výsledný morfologický tvar lišejníků, a proto je to právě houbová složka, která dává lišejníkům jméno. Tvar lišejníků se ovšem může výjimečně u některých druhů lišit podle toho, s jakým druhem fotobionta mykobiont žije v soužití (Lücking et al., 2021). V současnosti je známo přibližně 19 400 druhů lichenizovaných hub (Lücking et al., 2017). Více než 98 % z nich spadá do kmene Ascomycota, čítajícího více než 60 000 popsaných druhů (Kirk et al., 2001). Lichenizace je chápána jako výhodná životní strategie z nutričního hlediska, vyskytující se u nezanedbatelného počtu druhů hub (Honegger, 2009).

Mykobiont přispívá do lišejníkové symbiózy mnoha způsoby. Jedním z jeho nejdůležitějších přínosů pro všechny organismy tvořící lišejníkovou stélku je to, že mykobiont řídí vodní režim (Larson, 1979). Další úlohou mykobionta, prospěšnou pro celý lišejník je ochrana fotobionta před predací tím, že vylučuje sekundární metabolity (Gauslaa, 2005). Zároveň některé sekundární metabolity odstiňují UV záření, které by mohlo fotobionta poškodit (Solhaug et al., 2003). Bylo prokázáno, že mykobiont fotobionta před poškozením světlem nechrání pouze svými sekundárními metabolity, ale je schopen i aktivně přesouvat ve stélce buňky fotobionta podle aktuálních světelných podmínek (Honegger 1990 citováno podle Grimm et al., 2021).

1.2 Fotobiont

Fotobiontem lišejníků bývá nejčastěji zelená řasa nebo sinice (Sanders and Masumoto, 2021), nejběžnějším z nich je zelená řasa, a to přibližně v 85 % druhů, následují je sinice, které jsou druhými nejčastějšími partnery, vyskytující se u přibližně 10 % druhů, a nejméně obvyklým bývá soužití s oběma fotobionty najednou, kterého jsou schopny přibližně 4 % druhů (Honegger, 2009). Nejčastějšími fotobionty mezi zelenými řasami (Chlorophyta) jsou řasy z řádů Trebouxiales a Trentepohliales (Spribille et al., 2022). V minulosti nebylo pozorováno, že by se fotobionti pohlavně rozmnožovali, a usuzovalo se, že je to zapříčiněno tím, že mykobiont pomocí vylučovaných látek bránil rozmnožování fotobionta (Kroken and Taylor, 2000). Podle nejnovějších studií však k pohlavnímu rozmnožování docházet může a bylo pozorováno u zelených řas rodu *Asterochloris* (Trebouxiales) (Škaloud et al., 2015).

Fotobiont poskytuje mykobiontu své asimiláty. Zelené řasy poskytují čtyř- až šestiuhlíkaté cukerné alkoholy, zatímco sinice produkuje glukózu (Richardson, Smith a Lewis 1967). V případě symbiotické interakce s některými druhy sinic nepřispívá fotobiont do lišejníkové symbiózy pouze produkty fotosyntézy, ale také tvorbou dusíkatých látek, které získává fixací vzdušného dusíku (Millbank and Kershaw, 1970). Některé lišejníky jsou takzvaně tripartitní a žijí v symbióze jak se zelenou řasou, tak se sinicí, kterou lišejníky využívají právě především k fixaci vzdušného dusíku (Millbank and Kershaw, 1970). Sinice v lišejnících se nachází v útvech zvaných cefalodia, ve kterých

jsou udržovány anoxické podmínky kvůli správnému fungování enzymu nitrogenázy zodpovědnému za fixaci vzdušného dusíku (Cornejo and Scheidegger, 2013).

1.3 Kvasinky

Relativně nově objeveným členem lišejníkové symbiózy jsou basidiomycetní kvasinky (např. Spribille et al. 2016). Zdá se, že v lišejnících jsou celosvětově relativně hojně rozšířeny (např. Spribille et al. 2016; Černajová a Škaloud 2019), studium kvasinek je ale poměrně nové a počty zkoumaných druhů jsou zatím omezené.

Přítomnost kvasinek byla zjištěna nejprve u rodů *Bryoria* a *Letharia* (Stribille et al., 2016). Černajová a Škaloud (2019) objevili basidiomycetní kvasinky v řadě druhů rodu *Cladonia*, kde byly zjištěny především v horní kůře, avšak mohou se vyskytovat i v jiných částech stélky. Dle práce Spribille et al. (2016) může mít výskyt kvasinek v lišejnících souvislost s produkcí sekundárních metabolitů, konkrétně autoři pozorovali, že frekvence výskytu kvasinek korelovala s koncentrací kyseliny vulpinové ve stélkách dvou druhů rodu *Bryoria*. Ve studii Mark et al. (2020), zaměřené na šest epifytických druhů lišejníků, se však vliv sekundárních metabolitů na diverzitu kvasinky jevil jako zanedbatelný. Hlavním faktorem ovlivňujícím výskyt kvasinek v lišejnících se tedy zdá být především mykobiont (spíše než fotobiont), avšak vztah mezi mykobiontem a kvasinkami nedosahuje takové specifičnosti jako vztah mykobionta s fotobiontem (Mark et al. 2020).

1.4 Bakterie

Další skupinou organismů zapojených do lišejníkové symbiózy jsou bakterie. Bakterie lišejníkům přináší řadu benefitů jako např. napomáhání fixaci anorganického dusíku či vylučování celé škály antimikrobiálních látek (např. Liba et al. 2006; Kim, Oh, a Park 2013). Pro lišejníky jsou bakterie díky těmto vlastnostem užitečné a je možné, že se podílí na schopnosti lišejníků vyrovnávat se s extrémními podmínkami prostředí. Naopak pro bakterie žijící v lišejníkové symbióze je tato asociace také výhodná, jelikož staré části lišejníkové stélky pro ně představují zdroj živin (Grube et al., 2015). Zároveň je možné, že extracelulární látky vylučované lišejníky mají vliv na schopnost bakterií přežít nepříznivé podmínky, například vysušení (Cernava et al., 2016).

2 Funkce bakterií

2.1 Fixace dusíku

Bakterie v lišejnících plní různé funkce. Jednou z nejčastěji diskutovaných je fixace dusíku. Pro lišejníky jsou z tohoto hlediska významné především sinice, které jsou však přítomny pouze u 10 % známých druhů lišejníků (Grimm et al., 2021). Další skupinou organismů schopnou fixovat vzdušný dusík v lišejnících jsou nefotosyntetizující bakterie. Za tuto schopnost zodpovídá gen *nifH*, který kóduje nitrogenázu (Mevarech et al., 1980), jež figuruje v cyklu zabudování anorganického dusíku do organických sloučenin (Bates et al. 2011). Tento gen však mají pouze některé sinice a některé heterotrofní bakterie, ne však mykobiont ani fotobiont. Proto se bakterie jeví jako velice důležitá složka lišejníkové symbiózy (Bates et al. 2011). Předpokládá se, že asociace s těmito mikroorganismy pomáhá lišejníkům přežít i v na živiny velice chudých substrátech. Nejrozšířenější skupinou schopnou fixovat dusík v lišejnících jsou bakterie z řádu Hyphomicrobiales (dříve Rhizobiales) (Eymann et al., 2017), které patří mezi alfaproteobakterie, což je zároveň i celkově nejrozšířenější skupina bakterií mezi lišejníky (Garg et al., 2016; Lee et al., 2014; Schneider et al., 2011). Hyphomicrobiales mohou tvořit i jednu třetinu z celkové diverzity lišejníkové mikrobioty (Erlacher et al., 2015). Geny pro fixaci anorganického dusíku byly ale nalezeny i u gamaproteobakterií a zástupců kmene Firmicutes (Grube et al., 2009). Poměrně překvapivým zjištěním je, že bakterie fixující dusík mohou koexistovat na jedné stélce lišejníku se sinicemi, jež též také mohou fixovat vzdušný dusík (Almendras et al., 2018). Předpokládá se, že dusík fixující bakterie se vyskytují ve většině druhů lišejníků, což je podpořeno zjištěním, že byly nalezeny napříč různými rody lišejníků (Liba et al. 2006; Bates et al. 2011; Grube et al. 2015). Četnost bakterií fixujících dusík ve stélce je závislá na obsahu organického dusíku na konkrétním stanovišti. Pokud je dusíku v okolním prostředí málo, množství bakterií fixujících dusík je vyšší (Cardinale et al., 2012). Vyšší podíl dusík fixujících bakterií byl zjištěn také ve stélcích lišejníků, které mají jako fotobionta zelenou řasu (Hodkinson and Lutzoni, 2009). Všem předchozím studiím však odporuje zjištění publikované v nové metagenomické studii (Tagirdzhanova et al., 2023), ve které autoři hledali *nifH* geny v genomech bakterií z více než 400 jedinců lišejníku. Překvapivým výsledkem bylo, že tento gen nebyl nalezen, až na jednu výjimku, v žádných studovaných bakteriálních genomech. Naopak hypotéza, že bakterie fixují dusík, je podpořena experimentem (Grube et al., 2009), v němž byly bakterie získané z lišejníků kultivovány na médiu obohaceném o organický dusík a na médiu bez dusíku. Jako bakterie schopné fixovat dusík byly vyhodnoceny ty vzorky, které vykazovaly stejnou rychlost růstu na médiu jak s dusíkem, tak bez něj. Stejně rychlosti růstu na obou médiích dosáhla desetina kultivovatelných bakterií izolovaných ze zkoumaných lišejníků. Zároveň výsledkům studie Tagirdzhanova et al. (2023) odporují výsledky práce Jiang et al. (2017), kde byly *nifH* geny nalezeny u celkem 67 bakteriálních izolátů v lišejnících rodu *Lobaria*, *Parmelia* a *Umbilicaria*, z nichž většina byla zařazena mezi řád Hyphomicrobiales. Stejně tak byly *nifH* geny v bakteriálním genomu nalezeny ve studii Grube et al. (2012).

2.2 Tvorba kobalaminu

Pro některé řasy je k životu nezbytný vitamin B₁₂ neboli kobalamin. Tato závislost byla prokázána u více než poloviny druhů řas napříč různými kmeny (Croft et al., 2005), jelikož obsahují B₁₂ dependentní methionin syntázy. Bez vitaminu B₁₂ tudíž nejsou schopny syntetizovat aminokyselinu methionin. Některé druhy řas mají methionin syntázy nezávislé na B₁₂, obdobně jako vyšší rostliny. Volně žijící řasy, které mají B₁₂ dependentní methionin syntázy, žijí v soužití s bakteriemi, které jim poskytují právě vitamin B₁₂ (Croft et al., 2005). U bakterií v lišejnících byla prokázána schopnost syntetizovat vitamin B₁₂, který pak využívá pravděpodobně fotobiont (Grube et al., 2015). Závislost na vitaminu B₁₂ nebyla studována u druhů žijících jako fotobionti lišejníků, ale byla prokázána u druhů příbuzných spadajících, stejně jako někteří fotobionti, do třídy Trebouxiaceae (Croft et al., 2005).

2.3 Tolerance vůči kovům

Lišejníky jsou schopny žít ve velice extrémních prostředích. Jedním z těchto extrémních prostředí jsou i substráty bohaté na toxické kovy. Předpokládá se, že další významnou rolí bakterií v lišejnících je podíl na schopnosti vyrovnat se s vysokými koncentracemi kovů v substrátu, konkrétně je to odolnost vůči mědi, kobaltu, zinku, arsenu, rtuti a dalším (Grube et al., 2015). V bakteriích žijících v lišejnících byly nalezeny geny související s rezistencí vůči těmto kovům. Tyto geny se vyskytovaly především u bakterií ze skupin *Bacilli* a *Chlorobia*, nicméně v malém množství byly nalezeny i u alfa-proteobakterií (Cernava et al., 2018; Grube et al., 2015). Na schopnost adaptace lišejníkové mikrobioty na zvýšenou koncentraci arsenu poukazuje studie kolektivu Cernava et al. 2018, kde autoři odebrali vzorky tří lišejníků ze tří stanovišť s různým obsahem arsenu v půdě. Následná analýza metagenomových sekvencí ukázala, že většina sekvencí (konkrétně 73 %) přiřazených funkcím souvisejícím s arsenem pocházela ze vzorku odebraného v místě s nejvyšší koncentrací arsenu. Nalezeny zde byly geny kódující proteiny resistance vůči arsenu *Acr3* a *ArsH*, dále zde byly nalezeny geny kódující arsenovou efluxní pumpu, arsenát reduktázu a arsen transportující ATPázu. Zároveň v této studii autoři sledovali četnost genu pro methyltransferázu *ArsM* v mikrobiotě lišejníků odebraných v místech s různou koncentrací arsenu. Zde však nevyšla najevo žádná korelace mezi obsahem arsenu v okolí a četností genu *ArsM* v bakteriích.

2.4 Antagonistická aktivita

Během svého života čelí lišejníky různým infekcím a patogenům. Může se jednat o patogenní bakterie, houby nebo i lichenikolní lišejníky. Bakterie vyskytující se v lišejnících mohou napomáhat obranyschopnosti lišejníků produkcí různých mikrobicidních látek (Bellio et al., 2017; Cernava et al., 2015; Subbaiyan et al., 2022). Pokud je stélka lišejníku infikována houbovým parazitem, dojde ke změně

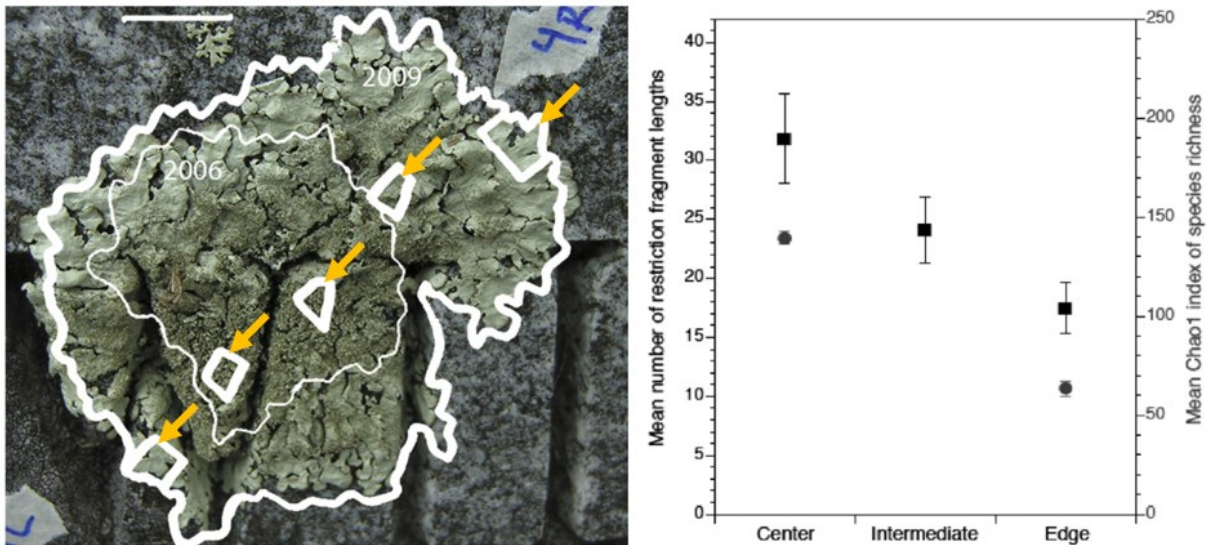
struktury bakteriálních společenstev (Grube et al., 2012). Mikrobiální komunity se po napadení stélky stávají výrazně různorodějšími. Mezi důležité antagonistické skupiny bakterií patří zástupci rodů *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas* nebo *Burkholderia* (Cernava et al., 2015). Uvedené rody představují kultivovatelné bakterie. Je však možné, že tuto schopnost mají i jiné nekultivovatelné druhy. Při infekci patogenem je velice významná produkce látky spermidinu, která má mikrobicidní účinky. Bakterie v lišejnících mají antagonistický vliv především na lišejníkové patogeny, bylo ale zjištěno, že obdobný účinek mají i na rostlinné patogeny (Cernava et al., 2015), což je dáno tím, že některé bakterie vyskytující se v lišejnících se mohou vyskytovat i v rostlinách, kde plní podobnou funkci. Proto jsou lišejníkové bakterie schopny zabránit růstu i rostlinným patogenům (Cernava et al., 2015).

V současné době se začíná uvažovat o tom, že bakterie asociované s lišejníky by mohly představovat zajímavý zdroj bioaktivních látek využitelných v medicíně (González et al., 2005; Lauterwein et al., 1995). Bylo například objeveno, že bakterie *Streptomyces uncialis* izolovaná z lišejníku rodu *Cladonia* má potenciál při výzkumu léčby rakoviny (Luo et al., 2021; Williams et al., 2008). Tato bakterie vytvářela v kulturách látku cladoniamid G, o které autoři práce Williams et al. (2008) uvádí, že má cytotoxické účinky proti lidským buňkám rakoviny prsu. Dalším potenciálně zajímavým lišejníkem by v tomto ohledu mohl být rod *Roccella*, zatím málo prozkoumaný přímořský lišejník obsahující aktinobakterie (Parrot et al., 2015). Kultivovatelné aktinobakterie dnes patří k významným zdrojům antibiotik (Parrot et al., 2015). Tyto bakterie mají geny pro polyketidsyntázy typu I a II (Sigurbjörnsdóttir et al., 2014), které vytvářejí bioaktivní metabolity a téměř z poloviny mají mikrobicidní účinky. Mezi jejich produkty patří například známé antibiotikum streptomycin.

2.5 Dekompozice staré stélky

V několika studiích bylo prokázáno, že ve starých částech lišejníkové stélky je největší druhová bohatost bakterií a zároveň se zde vyskytuje více bakterií než v mladých, rostoucích částech stélky (viz Obr. 2) (Mushegian et al. 2011; Cardinale et al. 2012). Jedním z možných vysvětlení je, že ve starší části stélky měly bakterie nejdříve čas pro rozvoj a osidlování (Mushegian et al., 2011). Další možnou interpretací stejných výsledků je, že ve starších částech stélky je třeba odbourávat určité látky, které pak mohou být využity pro další růst stélky v juvenilních částech (Cardinale et al. 2012; Grube et al. 2015). Např. u bakterií vyskytujících se v lišejnících byla prokázána schopnost degradovat fenolické sloučeniny nebo chitin, což jsou látky, které se mohou vyskytovat v buněčné stěně obou hlavních symbiontů (Grube et al., 2015; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016). Po degradaci starých buněčných stěn může být materiál využit pro tvorbu nových. Je také možné, že větší množství bakterií a vysoká druhová bohatost ve starých částech stélky může být výsledkem obou vysvětlení, tedy jak dekompozice a následné recyklace starších částí stélky, tak tím, že bakterie měly více času pro růst a

osídlení stélky. Bakterie zároveň látky ze starších částí stélky využívají jako zdroj energie pro svůj další růst a množení (Grube et al., 2015).



Obr. 2 - Srovnání početnosti bakterií ve vzorcích odebraných v různých částech stélky (šipky ve stélce označují místo odběru) (upraveno podle Mushegian et al. 2011).

2.6 Produkce hormonů

Lišejníky ke svému růstu potřebují různé fytohormony, mezi nimiž jsou významné především auxiny (Wang et al., 2010). Bakterie mohou přispívat růstu lišejníků právě produkcí auxinů (Grube et al., 2015, 2009), což jsou látky, které podporují růst mykobionta i fotobionta (Lau et al., 2009). Bylo prokázáno, že bakterie žijící v symbióze s lišejníky jsou schopné produkovat kyselinu indol-3-octovou, která je významným auxinem a je také důležitým hormonem růstu právě v lišejnících (Grube et al., 2009). Schopnost produkovat auxiny byla pozorována u bakterií z řádu Hyphomicrobiales (Erlacher et al., 2015), ale i u bakterií z jiných řádů, například u rodů *Acinetobacter*, *Bacillus* nebo *Burkholderia* (Grube et al., 2009).

2.7 Rozpouštění fosfátů

Další funkcí, kterou podle výzkumů bakterie vykonávají v lišejnících, je rozpouštění fosfátů. Ty jsou v půdě často ve své nerozpustné formě, a tudíž nejsou přímo využitelné pro organismy (Richardson et al. 2001). Různé studie se shodují na tom, že solubilizovat anorganické fosfáty je schopna řada bakterií (Aschenbrenner et al., 2017; Grube et al., 2015; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016) a v lišejnících je výskyt těchto bakterií velice hojný. Liba et al. (2006) uvádí, že tuto schopnost by mohla mít dokonce až polovina bakterií v lišejnících.

2.8 Další funkce bakterií

Z výše uvedeného je zřejmé, že bakterie zastávají v lišejnících velice různorodé funkce a je pravděpodobné, že zde uvedený výčet není kompletní. Mezi další funkce, které jsou přisuzovány bakteriím žijícím v lišejnících, patří například to, že se mohou podílet na metabolismu síry, železa a draslíku v lišejnících (Aschenbrenner et al., 2017; Cernava et al., 2017).

Mezi další známé funkce bakterií vyskytujících se v lišejnících patří tvorba látek, které jsou pak využity lišejníky, pokud se ocitnou v oxidačním stresu (Cernava et al., 2017; Erlacher et al., 2015; Grube et al., 2015). V práci Kim, Oh, a Park (2014) autoři hledali v arktickém lišejníku rodu *Ochrolechia* bakterie produkující fenolické látky, které jsou schopny vázat volné radikály a tím zabraňovat oxidačnímu stresu (Agati et al., 2012). Autoři se v této práci soustředili na pět bakteriálních izolátů náležejících do rodů *Sphingomonas* a *Burkholderia*, z nichž všechny vykazovaly antioxidační aktivitu. Dále v této práci diskutovali, že antioxidanty, produkované bakteriemi by mohly představovat jeden z mechanismů napomáhající lišejníkům vyrovnat se s extrémním prostředím a že tyto bakterie a jejich produkty by mohly mít potenciál v medicínských oborech. Obdobně ve studii Cernava et al. (2017) autoři detekovali geny související s oxidačním stresem u všech sledovaných bakteriálních taxonů v lišejníku *Lobaria pulmonaria*. Jednalo se konkrétně o geny kódující redox senzitivní regulátor transkripce a rubrerythrin. Mimo tyto geny podílející se na vyrovnání se s oxidačním stresem autoři této studie našli i geny zapojující se při tepelném šoku (*DnaK* a *GroEL*) a stresu z kyselého prostředí (arginin dekarboxyláza).

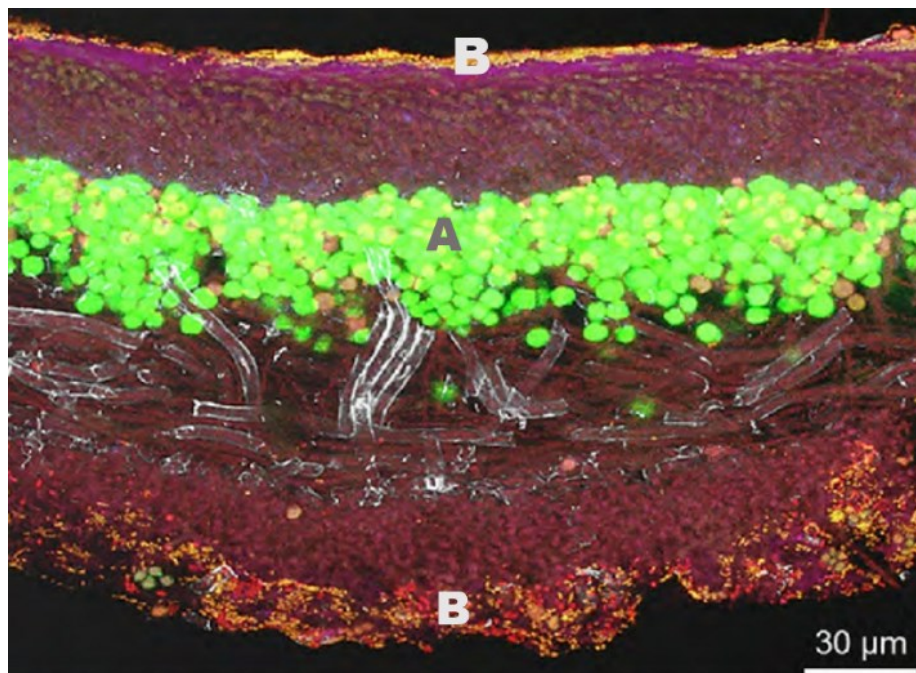
Bakterie mohou být dále i významné při vysychání, kdy lišejníkům pomáhají vyrovnat se s osmotickým stresem (Cernava et al., 2019, 2016). Při vysychání lišejníky patrně zároveň naopak napomáhají přežití bakterií, jelikož lišejníkové extracelulární polysacharidy pravděpodobně pomáhají bakteriím vyrovnat se se suchem (Cernava et al., 2016).

3 Faktory ovlivňující diverzitu bakterií ve stélkách lišejníků

Složení mikrobioty lišejníků není náhodné a je určeno různými faktory. Tyto faktory mohou být abiotické, například geografická poloha nebo poměry na stanovišti, kde lišejníky rostou. Lišejníková mikrobiota je ale do jisté míry ovlivněna i faktory biotickými, jakými jsou např. druh mykobionta nebo fotobionta.

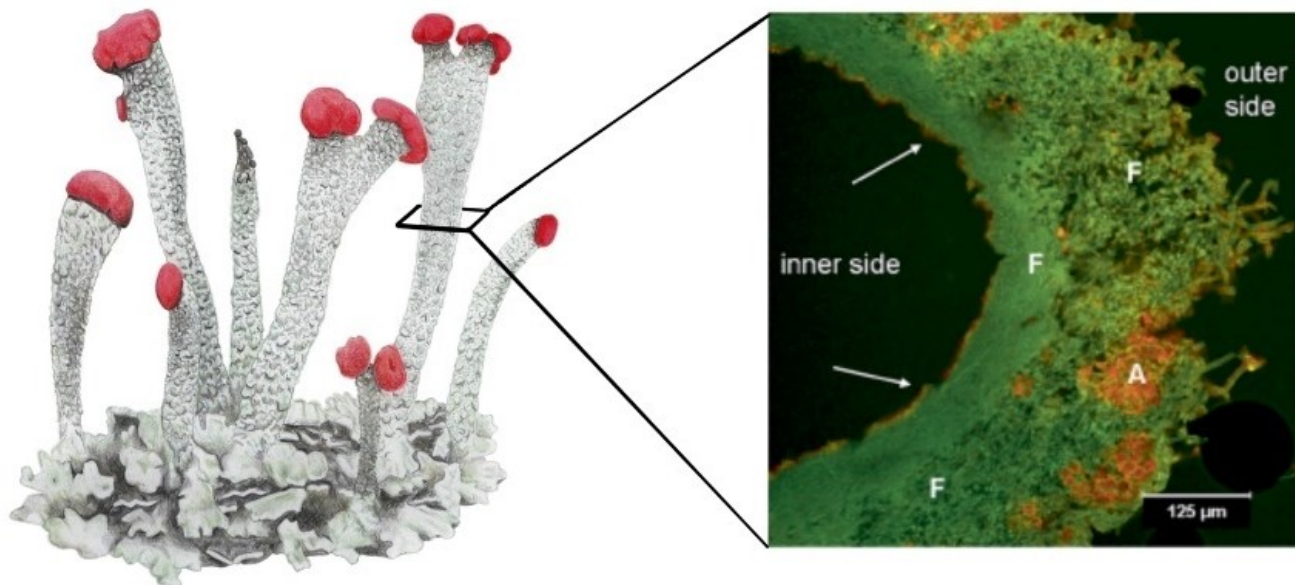
3.1 Lokalizace ve stélce

Diverzita bakterií v lišejníkové stélce se liší v závislosti na tom, v jaké části stélky je studována. Zdaleka nejvíce bakterií se vyskytuje na povrchu stélky, nicméně dosud není jasné, nakolik se může se jednat o komenzální bakterie, které nijak nepřispívají do lišejníkové symbiózy (Erlacher et al., 2015; Schneider et al., 2011). Bakterie žijící uvnitř stélky se většinou nevyskytují rovnoměrně v celé stélce, ale jsou místa, kde se obvykle nachází vyšší počet bakteriálních buněk (Cardinale et al., 2008; Grube et al., 2009). Velké počty bakteriálních buněk tvoří ve stélce lišejníků kontinuální vrstvu nazývanou bakteriální biofilm. Ten se nejčastěji nachází ve spodní korové straně ale i ve svrchní korové vrstvě, či obou (Cardinale et al., 2008; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016). Naopak jiné části lišejníkových stélek jsou na bakterie chudší, jako např. dřev, ve které bakterie byly pozorovány v malých počtech. Bakteriální biofilmy bývají odděleny od vrstvy fotobiontů (Grube et al., 2009) a kontakt fotobionta s bakteriemi je tedy omezený (viz Obr. 3). Bakterie se zpravidla vyskytují jako biofilmy na površích houbových hyf mykobionta v oblasti korové vrstvy (Cardinale et al., 2012, 2008).



Obr. 3 - Řez stélkou lišejníku *Lobaria pulmonaria* – B vrstvy bakterií (žlutě alfa-proteobakterie, červeně ostatní eubakterie), A (zeleně) vrstva fotobionta. Bakterie tvoří vrstvy u povrchu na vnitřní a vnější straně a zároveň jsou odděleny od vrstvy fotobionta. Konfokální laserová skenovací mikroskopie (Aschenbrenner et al., 2017).

U zástupců rodu *Cladonia*, pro které je typická tvorba podécií (viz Obr. 4), bylo zkoumáno, jak jsou rozmístěny bakterie v podéciu. Podécium je duté a bakterie se nejhojněji vykytují na jeho vnitřní straně, takže souvisle pokrývají povrch celé vnitřní dutiny (viz **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**) (Cardinale et al., 2008; Grube et al., 2009).



Obr. 4 - Vlevo *Cladonia macilenta*. Vpravo mikrofotografie řezu podéciem lišejníku rodu *Cladonia* (A – fotobiont, F – mykobiont, šipky – bakteriální biofilm na vnitřní straně podécia) (mikrofotografie z práce Cardinale et al. 2008)

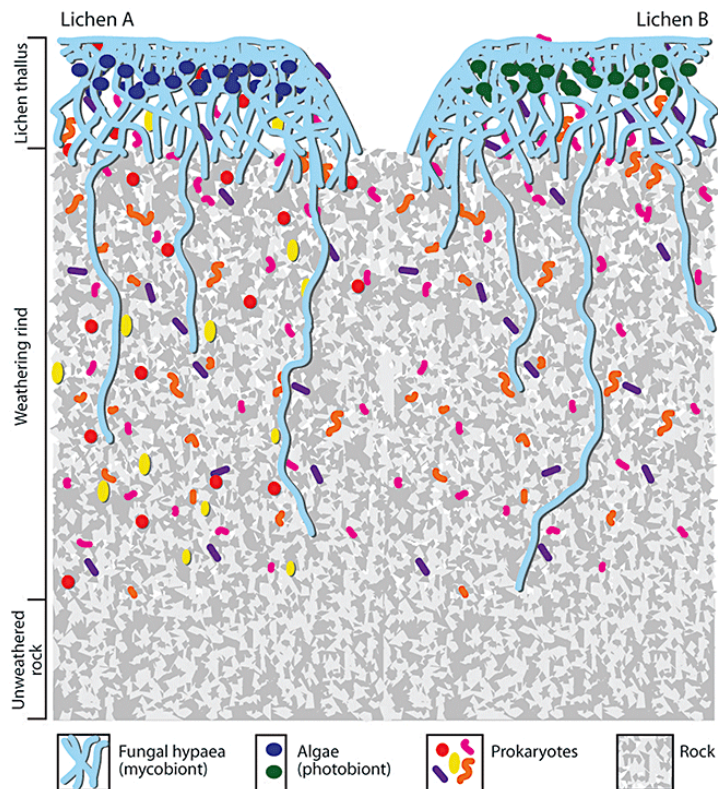
3.2 Geografické rozdíly

Celkově po celém světě lišejníková mikrobiota nevykazuje nějaké výrazné rozdíly v taxonomickém složení, jelikož většina bakterií je kosmopolitně rozšířená a bakteriální společenstva napříč různými habitaty mají malou nebo nevýznamnou geografickou strukturu (Humbert et al., 2010). Limitujícím pro výskyt bakterií spojených s lišejníky je tedy geografický výskyt lišejníků (Hodkinson et al., 2012). I přestože se výsledky většiny studií z různých oblastí shodují v tom, že v lišejnících dominují alfaproteobakterie, především na nižších taxonomických úrovních byly pozorovány určité geografické rozdíly (Grube et al., 2015; Swamy and Gayathri, 2021; Xu et al., 2022). Ve studii (West et al., 2018) došli autoři k závěru, že alfaproteobakterie nejsou dominantou všech lišejníků, ale pouze suchozemských. Přímořské lišejníky rodu *Lichina* obsahovaly mikrobiotu složenou především z bakterií z kmene Bacteroidetes (West et al., 2018). Dalším faktorem ovlivňujícím složení mikrobiálních komunit je nadmořská výška. V práci (Rolshausen et al. 2022) autoři studovali, jak jsou bakteriální komunity lišejníků ovlivněny nadmořskou výškou, a zjistili, že v čím vyšší nadmořské výšce lišejníky rostou, tím má chudší bakteriální společenstva. Zároveň pozorovali několik skokových posunů ve složení mikrobiálních komunit, které dle autorů odpovídaly vegetačním pásům na Zemi měnících se se vzdáleností od rovníku. I z jiných studií vyplývá, že blíže k polárním oblastem byla diverzita bakterií v lišejnících nižší (González et al., 2005; Printzen et al., 2012). Obdobný trend byl zjištěn

i u lišejníkových fotobintů, kdy blíže k pólům také klesala jejich druhová rozmanitost (Domaschke et al., 2012; Romeike et al., 2002). Překvapivým zjištěním je, že fylogenetická příbuznost bakterií je vyšší v polárních oblastech, a to bylo konkrétně zjištěno ze vzorků z Islandu a Antarktidy v porovnání se vzorky z boreálních (Německo) a subtropických (Španělsko) oblastí (Printzen et al., 2012).

3.3 Vliv stanoviště a substrátu

Složení bakteriálních komunit v lišejnících ovlivňuje dále i to, na jakém stanovišti konkrétní lišejník roste. Cardinale et al. (2012) např. zjistili, že ve stélkách lišejníků, které rostly na zastíněném stanovišti, se vyskytovalo více bakterií než v nezastíněných stélkách (Cardinale et al. 2012). Mikrobiota lišejníků je také ovlivněna substrátem, na kterém roste. Téměř polovina bakteriálních druhů žijících v lišejnících se může shodovat s bakteriemi v půdě či substrátu pod stélkami (Leiva et al., 2021). Lišejníky dokonce mohou naopak do určité míry ovlivňovat bakteriální komunity i v půdě pod sebou (Bjelland et al., 2011; Navarro-Noya et al., 2014). Ve studii Navarro-Noya et al. (2014) byla např. odebrána půda do hloubky 1 cm pod stélkou lišejníku rodu *Cladonia*. Tyto vzorky byly porovnávány se vzorky odebranými pod mechou a se vzorky půdy. Celkově byla u vzorků odebraných pod stélkami lišejníků zjištěna nižší alfa a fylogenetická diverzita ve srovnání se vzorky odebranými pod mechorosty či holou půdou. Zároveň zde bylo ve vzorcích odebraných pod lišejníkovými stélkami pozorováno odlišné složení bakteriálních společenstev ve srovnání s dalšími typy vzorku (které se naopak svým složením příliš nelišily). Autoři si tyto výsledky vysvětlují tím, že biologické krusty utvářené lišejníky působí na půdu více selektivně než ty, ve kterých převládají mechy nebo kůra. V jiné studii Bjelland et al. (2011) zabývající se také bakteriálními komunitami pod stélkami lišejníků, která byla provedena na epilithických druzích (rody *Ophioparma*, *Pertusaria*, *Rhizocarpon* a *Hydropunctaria*), došli autoři k závěru, že bakterie žijící v endoliticke části lišejníku mají oproti bakteriím žijícím v epilithické části pravděpodobně tu výhodu, že žijí ve stabilnějším prostředí, kde nejsou vystaveny slunečnímu záření, větru a dalším stresujícím podmínkám. Znázornění bakteriální komunity ovlivněné lišejníkem je na Obr. 5. Některé studie naznačují, že na složení mikrobioty by mohly mít i vliv bakterie přenášené srážkami. Pokud dopadnou na lišejník, mohou se v něm usídlit a ovlivnit složení výsledné bakteriální komunity (Llontop and Enrique, 2020).



Obr. 5 - Schéma znázorňující, jak lišejník ovlivňuje bakteriální komunitu v substrátu, na kterém roste (Bjelland et al., 2011).

3.4 Rozdíly ve složení bakteriálních společenstev mezi jednotlivými druhy

Druhové složení bakterií vyskytujících se v lišejnících závisí do určité míry na místě, kde se lišejník vyskytuje, ovšem ne zcela. To, jaké druhy bakterií budou ve stélce převládat, závisí mimo jiné na druhu lišejníku. Výsledky studií studujících faktory určující diverzitu bakterií v lišejnících se ne zcela shodují v tom, do jaké míry je složení mikrobiálních společenstev ovlivněno hostitelským druhem mykobionta. Z výsledku některých studií vyplynulo, že druh mykobionta neměl určující vliv na výsledné složení lišejníkové mikrobioty (Alonso-García a Villarreal A. 2022; Cardinale et al. 2012). Výsledky většiny studií však naopak poukazují na to, že bakteriální společenstvo je ke vztahu k mykobiontovi druhově specifické (Aschenbrenner et al., 2017; Bates et al., 2011; Cardinale et al., 2006; Wedin et al., 2016). Složení bakteriálních komunit se však může mírně lišit i v různých jedincích stejného druhu, jelikož mohou žít v mírně odlišných podmínkách (Rolshausen et al. 2022). To, že druhové složení bakteriální komunity je závislé na druhu lišejníku naznačuje i fakt, že během nákazy lišejníku *Cladonia symphylicarpa* lichenikolním lišejníkem *Diploschistes muscorum* se složení mikrobiální komunity postupně měnilo, a to konkrétně tak, že počty alfaproteobakterií klesaly, a naopak počty bakterií z řádu Burkholderiales rostly. Autoři se domnívají, že nárůst počtů bakterií z řádu Burkholderiales může souviset s tím, že druh *D. muscorum* má ve svých stélkách neobvykle mnoho

oxalátů, které jsou právě tyto bakterie schopny štěpit (Wedin et al., 2016). Čím více v průběhu infekce převažoval druh *D. muscorum*, tím složení bakteriální komunity odpovídalo tomuto druhu. Přejít ve složení lišejníkové mikrobioty je postupný a závislý na průběhu infekce (Wedin et al., 2016). Posun ve složení mikrobioty by ale také mohl být částečně ovlivněn výměnou fotobionta, který také ovlivňuje složení bakteriální komunity (Hodkinson et al., 2012; Wedin et al., 2016). Při infekci lišejníku *Solorina crocea* lichenikolní houbou druhu *Rhagadostoma lichenicola*, vykazovaly infikované stélky vyšší rodovou diverzitu bakterií než stélky, které napadeny nebyly (Grube et al., 2012).

3.5 Vliv fotobionta na složení mikrobiálních společenstev

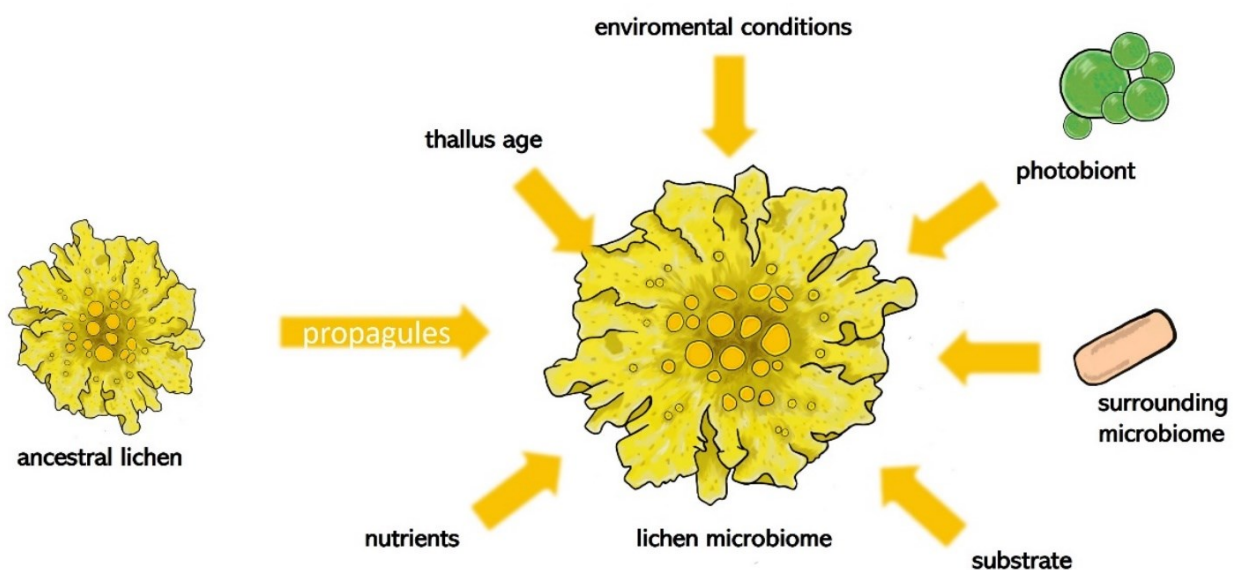
Dalším faktorem ovlivňujícím složení bakteriálních komunit může být i typ asociovaného fotobionta (Xu et al., 2022). Z výsledků této práce vyplynulo, že bakteriální komunity se lišily v závislosti na tom, zda se pocházely z lišejníků, ve kterých je fotobiontem zelená řasa nebo sinice. V dalších pracích bylo demonstrováno, že pokud je fotobiontem zelená řasa, tak je bakteriální komunita různorodější (Almendras et al., 2018; Hodkinson and Lutzoni, 2009). Možným vysvětlením tohoto fenoménu může být, že zelená řasa a sinice mají odlišný metabolismus fixace uhlíku. Zelené řasy totiž poskytují asimiláty ve formě cukerných alkoholů, pro které musí mít mykobiont speciální enzymy. Tyto enzymy nebo alespoň jejich prekurzory by pravděpodobně mohly poskytovat právě bakterie. Sinice na rozdíl od zelených řas poskytuje asimiláty ve formě glukózy, která je pro mykobionta snazší na zpracování (Spribille et al., 2022). Druhým vysvětlením souvislosti složení bakteriální komunity na typu asociovaného fotobionta by mohlo být, že lišejníky, které mají jako fotobionta sinice, dostávají dusík v organické formě právě od sinic, zatímco druhy obsahující jako fotobionta zelené řasy využívají dusík získaný především od bakterií (Hodkinson et al., 2012).

3.6 Vliv stáří stélky

Dalším faktorem ovlivňujícím výskyt bakterií může být stáří stélky (Cardinale et al., 2012). Nejvíce bakterií bylo nalezeno ve starších částech stélky. Zároveň zde je vyšší diverzita bakterií. Směrem k mladším částem stélky se druhová bohatost i počet bakterií snižuje (Mushegian et al., 2011).

4 Bakterie v průběhu rozšiřování lišejníku

Rozmnožování lišejníků může mimo jiné probíhat pomocí isidií nebo sorédií (Bowler a Rundel 1975). Jedná se o symbiotické propagule, ve kterých jsou rozšiřováni společně mykobiont a fotobiont. Uvnitř těchto propagulí nejsou žádné bakterie, ulpívají však na jejich povrchu v době, kdy se vytváří na mateřském lišejníku (Aschenbrenner et al., 2014). Ve studii Aschenbrenner et al. (2014) autoři uvádí, že 89 % bakteriálních linií z propagulí se shodovalo s bakteriemi z mateřského organismu. Z toho vyplývá, že když se isidie či sorédie šíří vzduchem, tak na sobě nese i bakterie z mateřského organismu (vertikální přenos symbiontů). Jakmile symbiotická částice dosedne a začne utvářet nového jedince, tak obsahuje bakterie, které byly na povrchu mateřské stélky. Bakteriální společenstvo se může měnit v průběhu života jedince, především na nižších taxonomických úrovních (Cardinale et al., 2012). Některé bakterie může jedinec získat i z půdy (horizontální přenos symbiontů) (Leiva et al., 2021). Výsledné složení lišejníkové mikrobioty tedy závisí na různých faktorech (viz Obr. 6) a mění se se změnami prostředí. Zatím nejsou známy přesné molekulární mechanismy zodpovědné za zapojení bakteriálních buněk do lišejníkové symbiomy. Dle studie práce Pankratov (2023) je možné, že pro navázání kontaktu mezi symbionty je klíčový protein TIGR02302, který by mohl mít obdobnou funkci jako nodulační proteiny vylučované hlízkovými bakteriemi, při navazování symbiomy s vyššími rostlinami.



Obr. 6 - Faktory ovlivňující pozdější složení lišejníkové mikrobioty (upraveno podle Grimm et al., 2021)

5 Metody zkoumání bakterií v lišejnících

Většina bakterií kolonizujících lišejníky představuje nekultivovatelné bakterie, které jsou z hlediska studia problematické, a proto jim nebyla v minulosti věnována taková pozornost jako bakteriím kultivovatelným, které však představují pouze menší část lišejníkové mikrobioty (Cardinale et al., 2008; Selbmann et al., 2010). Dle některých autorů by úspěšnost kultivací mohla zvýšit příprava agaru obohaceného o extrakt z lišejníků (Biosca et al., 2016).

Bakterie asociované s lišejníky jsou zkoumány především pomocí metody FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace), která dovoluje vizualizovat bakteriální buňky ve fluorescenčním mikroskopu. Lze tak například určit, v jaké části lišejníkové stélky se bakterie nachází. Tato metoda byla využita např. ve studiích Cardinale et al. (2012); Aschenbrenner et al. (2014); Cardinale, Grube, et al. (2012); Aschenbrenner et al. (2017). Zároveň lze pomocí metody FISH určit taxonomické složení mikrobiálního společenstva (obvykle na úrovni vyšších taxonomických jednotek), jestliže se použije sonda specifická pro alfaproteobakterie, betaproteobakterie, gamaproteobakterie, deltaproteobakterie, aktinobakterie či zástupce kmene Firmicutes (např. Cardinale et al. 2008, Schneider et al. 2011). Další hojně využívanou metodou při zkoumání bakterií v lišejnících je sekvenování genů pro 16S rRNA, které se používá především pro účely zjištění fylogenetické příslušnosti určitého druhu bakterie. Geny pro 16S rRNA se využívají z toho důvodu, že obsahují velice konzervované oblasti ale zároveň oblasti variabilní, které jsou charakteristické pro jednotlivé druhy. Pro usnadnění studia lišejníkové mikrobioty byly vyvinuty speciální 16S rRNA primery, které vylučují sinicové a plastidové sekvence a jsou zaměřeny na heterotrofní bakterie (Hodkinson a Lutzoni 2009). 16S rRNA sekvence byla využita např. ve studiích (Almendras et al. 2018; Hodkinson a Lutzoni 2009; Printzen et al. 2012; Sigurbjörnsdóttir, Andrésón, a Vilhelmsson 2015; Mushegian et al. 2011; Liba et al. 2006). Pro sekvenaci 16S rRNA či fragmentů DNA je využívána řada metod, mezi nimiž lze zmínit především metabarcoding, při kterém se obvykle zkoumá diverzita organismů, které studovaný vzorek obsahuje. Sekvenuje se pouze krátký úsek DNA a výsledkem je poté druhové složení mikrobiálního společenstva. Tato metoda byla využita např. v pracích (Maier et al. 2014; Bates et al. 2011; Grube et al. 2012). Dále lze pro sekvenaci DNA využít Sangerovu metodu sekvenování. Ta se používá obvykle v kombinaci s kultivačními postupy, kdy jsou sekvenovány čisté kultury bakterií získaných z lišejníků (Cernava et al., 2018; Leiva et al., 2021; Selbmann et al., 2010). Často využívanou metodou např. při hledání mutací je SSCP (single strand conformation polymorphism) založený na různé rychlosti pohybu jednovláknové DNA v gelu. Pomocí této metody lze zjistit mutaci i v jedné bázi. Tato metoda byla využita např. v pracích (Grube et al. 2009; Cardinale et al. 2008; Aschenbrenner et al. 2014; Cardinale et al. 2012).

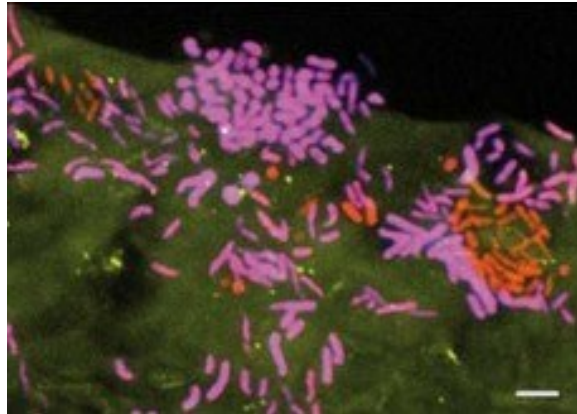
6 Diverzita bakterií

Složení bakteriálního společenstva v lišejnících vykazuje určité zákonitosti. Výsledky většiny studií se shodují v tom, že dominantní skupinou bakterií v lišejnících jsou alfa-proteobakterie (viz Obr. 7) (Grube et al. 2015; 2009; Garg et al. 2016; Cardinale, Grube, et al. 2012; Cardinale et al. 2012; Alonso-García a Villarreal A. 2022; Cardinale et al. 2008; Aschenbrenner et al. 2014; Lee et al. 2014; Schneider et al. 2011; Xu et al. 2022; Aschenbrenner et al. 2017; Eymann et al. 2017; Maier et al. 2014). Tvoří přibližně 70 % bakteriální diversity v lišejnících (Cardinale et al., 2012). Alfa-proteobakterie jsou zároveň jednou z dominantních bakteriálních skupin i v substrátu v okolí lišejníků (Leiva et al., 2021; Maier et al., 2014; Navarro-Noya et al., 2014). Mezi alfa-proteobakteriemi asociovanými s lišejníky je pak významný řád Hyphomicrobiales (Xu et al., 2022). Zástupci tohoto řádu jsou známí především ze symbióz s vyššími rostlinami a jsou označováni jako hlízkové bakterie. U rostlin přispívají k metabolismu dusíku (Andrade et al., 1997), z čehož se usuzuje, že v lišejnících by mohly pravděpodobně mít obdobnou roli (viz kapitola 2.1) (Erlacher et al., 2015). To, v jaké míře jsou bakterie z řádu Hyphomicrobiales v lišejnících zastoupeny, odpovídá především úživnosti substrátu, na kterém stélka roste (Cardinale et al., 2012). Zástupci řádu Hyphomicrobiales mohou tvořit až jednu třetinu diversity bakterií v lišejnících (Erlacher et al., 2015). Mezi bakteriemi náležejícími do řádu Hyphomicrobiales asociovanými s lišejníky pak převládá zejména linie LAR1 (Lichen-associated Rhizobiales-1) (Hodkinson et al., 2012; Hodkinson and Lutzoni, 2009). Dle studie Erlacher et al. (2015) se role bakterií ze skupiny Hyphomicrobiales neomezuje pouze na fixaci dusíku, ale patrně se zapojují i do syntézy auxinů, fixace oxidu uhličitého, syntézy chlorofylu nebo syntézy vitamínu B₁₂.

Nejčastěji nalézaným rodem alfa-proteobakterií v lišejnících je *Sphingomonas*. Zástupci tohoto rodu byli nalezeni např. u lišejníků rodů *Cetraria*, *Cladonia*, *Lichina*, *Lobaria*, *Peltigera*, *Umbilicaria* a *Usnea* (Aschenbrenner et al., 2017; Lee et al., 2014; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016; West et al., 2018). Dále byl v lišejnících opakovaně nalezen také rod *Methylobacterium* (Aschenbrenner et al., 2017; Hodkinson et al., 2012; Maier et al., 2014; Swamy and Gayathri, 2021), kterému je v mnoha pracích věnována pozornost, jelikož čeleď Methylobacteriaceae spadá do důležitého řádu Hyphomicrobiales. (Erlacher et al., 2015; Grube et al., 2015; Xu et al., 2022) Rod *Methylobacterium* byl nalezen jako jedním z součástí modelového druhu *Lobaria pulmonaria* a jedním z součástí rodů *Heterodermia* a *Peltigera* (Erlacher et al., 2015; Sigurbjörnsdóttir et al., 2015; Xu et al., 2022).

Ve studii Tagirdzhanova et al. (2023) byl nalezen v lišejnících bakteriální rod *Lichenihabitans*, který se vyskytoval u třetiny z celkem 437 zkoumaných lišejníkových metagenomů. Tento rod byl popsán v roce 2019 ve studii Noh et al. (2019) v antarktidském lišejníku *Psoroma antarcticum*. Rod *Lichenihabitans* se taxonomicky řadí mezi alfa-proteobakterie do řádu Hyphomicrobiales, konkrétně pak do skupiny LAR. Bakteriální rod *Lichenihabitans* se v současnosti zdá být specifický pro lišejníky, ale vysoce příbuzné bakterie byly již potvrzeny z fylosféry suchozemských rostlin (Nissinen et al., 2023). V roce 2020 byly objeveny dva druhy vysoce příbuzných bakterií *Lichenibacterium ramalinae*

a *Lichenibacterium minor*, a to v lišejníku rodu *Ramalina* (Pankratov et al. 2020). Tyto bakterie společně s *Lichenihabitans psoromatis* tvoří v rámci skupiny LAR1 tvoří fylogeneticky oddělenou linii. Na tyto studie dále navazuje práce autorů Pankratov et al. (2023), kteří popsali nový druh bakterie *Lichenifustis flavocetrariae* patřící do této skupiny v rámci LAR1 z lišejníku rodu *Flavocetraria*,.

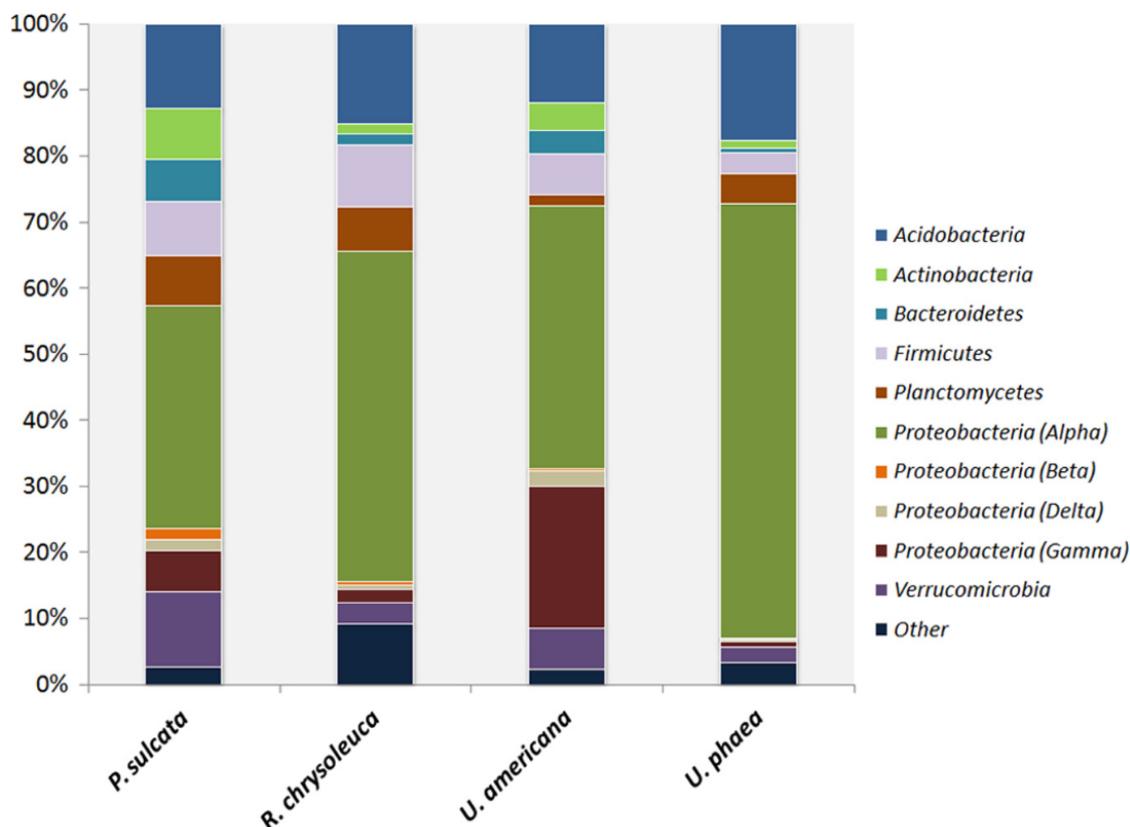


Obr. 7 - Obrázek zobrazující zastoupení bakterií ve stélce lišejníku druhu *Lobaria pulmonaria*. Růžově alfaproteobakterie, červeně jiné skupiny bakterií. Snímek byl pořízen pomocí metody FISH (Schneider et al., 2011).

V mnoha studiích bývají jako druhá nejhojnější bakteriální skupina označovány aktinobakterie (Cardinale et al., 2008; Cernava et al., 2015; Eymann et al., 2017; Grube et al., 2015; Lee et al., 2014; Leiva et al., 2021; Schneider et al., 2011; Sigurbjörnsdóttir et al., 2015; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016). Aktinobakterie získaly svůj název díky své morfologii, jelikož jejich buňky tvoří vlákna, která mohou připomínat houbové mycelium. Jedná se o bakterie, které jsou schopny tvořit spory. Celkově jsou aktinobakterie známy nejen ze symbióz s lišejníky ale také z různých symbiotických interakcí, jako je například symbióza s mravenci Barke et al. (2010). Déle jsou známy jako významná součást střevní mikrobioty člověka (Andersson et al., 2008). Mimo lišejníky jsou rozšířeny v různých prostředích od souše přes sladkovodní prostředí až po slané vody (Barka et al., 2015). Co se týče suchozemského prostředí, tak aktinobakterie díky svým značným rozkladným schopnostem, hrají roli dekompozitorů (Chater et al., 2010), a to hlavně v půdě, kde tvoří přibližně 13 % bakteriální diversity (Janssen, 2006). Aktinobakterie jsou taktéž významnou složkou biologických půdních krust, a to i pod lišejníky, kde byly podle práce Maier et al. (2014) druhou nejpočetnější skupinou hned po skupině proteobakterií. Podle výsledků studie Eymann et al. (2017) je možné, že na obsah aktinobakterií v lišejnících má značný vliv geografický výskyt lišejníku či jiné faktory. Když autoři této studie porovnávali mikrobiotu ze dvou vzorků lišejníku *Lobaria pulmonaria* odebraných na různých lokalitách v Rakousku a Německu, zjistili, že četnost aktinobakterií je značně rozdílná (zatímco zastoupení alfaproteobakterií se nelišilo). Zajímavostí je, že aktinobakterie jsou nejstarší bakterie potvrzené v lišejníkové symbióze, jejich zkamenělé fragmenty byly nalezeny mezi hyfami ve fosilním lišejníku ze

spodního devonu (Honegger et al., 2013). Dominantní skupiny bakterií jsou znázorněny ve schématu na Obr. 8.

V lišejníku druhu *Lobaria pulmonaria* byly nalezeny rody *Micrococcus* a *Rhodococcus*, které patří mezi aktinobakterie (Cernava et al., 2015). Další potvrzení zástupci této skupiny bakterií jsou rody *Streptosporangium*, nalezený v lišejníku rodu *Cladonia*, a *Streptomyces*, nalezený ve stélkách rodu *Hypogymnia* (Cardinale et al., 2006).



Obr. 8 – Schéma popisující zastoupení jednotlivých skupin bakterií u různých druhů lišejníků (Bates et al. 2011).

V lišejnících jsou dále hojně zastoupeny bakterie z kmene Firmicutes (Eymann et al., 2017; Printzen et al., 2012). Mimo lišejníky bývají nejčastěji zmiňovány v souvislosti se střevní mikrobiotou člověka nebo jako patogeny (Stojanov et al., 2020). Lze mezi nimi nalézt bakterie s různými typy metabolismů včetně anaerobního dýchání, acetogeneze nebo fototrofie (Béjà et al., 2002; Galperin, 2016; Logan, 2012). Často mají schopnost tvořit spory, které se snadno šíří vzduchem, a proto se šíří rychleji než jiné bakterie, které spory netvoří. V bakteriích náležejících do Firmicutes v lišejnících byly nalezeny *nifH* geny, což poukazuje na jejich význam při fixaci dusíku (Grube et al., 2009).

Mezi hojně nacházené zástupce této skupiny patří rody *Bacillus* a *Paenibacillus*. Oba byly potvrzeny u lišejníků rodů *Cladonia*, *Lobaria*, *Peltigera* a *Xanthoria* (Cernava et al. 2015; Cardinale, Puglia, a Grube 2006; Sigurbjörnsdóttir a Vilhelmsson 2016; Selbmann et al. 2010). Alespoň jeden rod z těchto dvou byl nalezen v lišejnících rodů *Hypogymnia*, *Lichina*, *Pseudevernia* a *Umbilicaria*

(Cardinale et al., 2006; Grube et al., 2009; Selbmann et al., 2010; West et al., 2018). Méně často nacházenými rody bakterií náležející do Firmicutes jsou *Bacterium* a *Staphylococcus*, jež byly potvrzeny u rodů *Cladonia*, *Hypogymnia* a *Lobaria* (Cardinale et al., 2006; Cernava et al., 2015).

Další skupinou hojně zmiňovanou v souvislosti s lišejníky jsou acidobakterie (Maier et al. 2014; Navarro-Noya et al. 2014; Bates et al. 2011; Hodkinson et al. 2012; Xu et al. 2022; Aschenbrenner et al. 2014; Eymann et al. 2017; Bjelland et al. 2011; Aschenbrenner et al. 2017; Hodkinson a Lutzoni 2009; Cernava et al. 2018; Sigurbjörnsdóttir, Andrésson, a Vilhelmsson 2015). Dle práce Grube et al. (2012) byly nejhojnější skupinou bakterií v lišejníku druhu *Solorina crocea* (oproti výsledkům jiných studií, kde v jiných rodech lišejníků byly jako dominantní skupina identifikovány alfaproteobakterie). Acidobakterie jsou taktéž zastoupeny v biologických půdních krustách, kde dle práce Maier et al. (2014) tvořily až 11 % bakteriální diverzity. Z výsledků práce Navarro-Noya et al. (2014) zabývající se podobným tématem však vyplynulo, že acidobakterie byly ve studovaných biologických půdních krustách dominantní skupinou. Acidobakterie byly už dříve označeny jako významná složka půdní mikrobioty (Janssen, 2006), kde se podílí na rozkladu rostlinné biomasy (Eichorst et al., 2011).

Dalšími významnými rody v lišejníkové mikrobiotě jsou rody *Burkholderia* (betaproteobakterie) a *Pseudomonas* (gamaproteobakterie). Oba rody mají významnou antimikrobiální aktivitu a jsou také schopné produkovat volatilní látky (Cernava et al. 2015; Cernava et al. 2015). Zároveň jsou v lišejníkové symbióze významné pro své rozkladné vlastnosti (Lee et al., 2014). Jsou například schopny degradovat i aromatické sloučeniny (Lee et al., 2014). Rod *Burkholderia* hraje pravděpodobně roli při fixaci vzdušného dusíku, což se předpokládá ze skutečnosti, že tento rod tvoří významné interakce s rostlinami, kde přispívá právě k metabolismu dusíku (Chen et al., 2005).

Rody *Burkholderia* i *Pseudomonas* byly společně nalezeny v lišejníku *Lobaria pulmonaria*, dále také v rodech *Peltigera* a *Umbilicaria* (Cernava et al., 2015; Lee et al., 2014; Sigurbjörnsdóttir and Vilhelmsson, 2016). Samostatně byly zjištěny z rodů *Canoparmelia*, *Cladonia*, *Parmotrema*, *Pseudevernia* a *Stereocaulon* (Cardinale et al., 2006; Lee et al., 2014; Liba et al., 2006). Naopak ve studii Selbmann et al. (2010), zkoumající rody *Usnea*, *Umbilicaria* a *Xanthoria*, se autoři pokoušeli najít bakterii rodu *Burkholderia*, ale nepodařilo se jim to ani u jednoho ze zkoumaných rodů lišejníků. Autoři našli pouze zástupce rodu *Pseudomonas* ve stélkách rodů *Usnea* a *Xanthoria*.

Závěr

Symbiotické bakterie jsou rozšířeny v širokém spektru organismů a lze tvrdit, že téměř všechny mnohobuněčné eukaryotické organismy navazují symbiotické vztahy s bakteriemi. Mezi tyto organismy spadají mimo jiné i lišejníky, ve kterých bakterie svou činností přispívají do lišejníkové symbiózy. Cílem této bakalářské práce bylo shrnout dosavadní poznatky o bakteriích v lišejníkové symbióze, přičemž důraz jsem kladla především na význam bakterií pro lišejníkovou symbiózu, diverzitu bakterií v lišejnících a faktory, které tuto diverzitu ovlivňují.

Nejčastějším přínosem bakterií do lišejníkové symbiózy je produkce různých metabolitů zahrnujících hormony důležité pro regulaci růstu mykobionta i fotobionta nebo vitamin B₁₂, který je nutný pro život mnoha druhů volně žijících řas. Jeho nezbytnost pro fotobionty lišejníků však zatím studována nebyla. Dalším možným a často zmiňovaným příspěvkem bakterií do lišejníkové symbiózy je fixace vzdušného dusíku. V této oblasti prozatím nepanuje jasná shoda mezi výsledky jednotlivých publikací. Většina dosud publikovaných prací se přiklání k tomu, že fixace vzdušného dusíku symbiotickými bakteriemi je pravděpodobná, avšak výsledky metagenomické studie autorů Tagirdzhanova et al. (2023) nepotvrdily výskyt genu *nifH* kódujícího nitrogenázu ve většině z analyzovaných bakteriálních genomů získaných z lišejníků. Mezi další často studované role bakterií v lišejnících patří tvorba mikrobicidních látek či role bakterií v napomáhání lišejníkům vyrovnávat se abiotickým stresem, jako je např. zvýšená koncentrace kovů v prostředí (Grube et al. 2015; Kim, Oh a Park 2014; Erlacher et al. 2015).

Dosud plně nevyřešenou otázkou je, jakým způsobem jsou bakterie mezi lišejníky přenášeny. V případě nepohlavního rozmnožování lišejníků pomocí vegetativních propagulí byla dosud publikována pouze jedna práce, ze které vyplynulo, že jsou bakterie v rámci vegetativních propagulí přenášeny převážně vertikálně, tedy z mateřského organismu na organismus dceřiný. U pohlavně se rozmnožujících jedinců je velmi pravděpodobné, že dceřiný organismus získává symbiotické bakterie z okolního prostředí tedy tzv. horizontálním přenosem, avšak tuto problematiku dosud nikdo nestudoval hlouběji.

Nejhojněji zastoupenou skupinou bakterií v lišejníkové symbióze jsou alfaproteobakterie, z nichž se v nejvyšší míře vyskytují zástupci řádu Hyphomicrobiales (dříve Rhizobiales), kteří jsou spojováni do speciální neformální skupiny LAR1 (lichen-associated Rhizobiales), kvůli svému častému výskytu v souvislosti s lišejníky (Cardinale et al., 2012). Dalšími hojně zastoupenými skupinami bakterií jsou Firmicutes, aktinobakterie nebo acidobakterie. Míra jejich zastoupení v lišejníkovém mikrobiomu se liší mezi jednotlivými studiemi. Je pravděpodobné, že tyto neshody mohou být zapříčiněny odlišnými druhy mykobiontů a fotobiontů v jednotlivých studiích nebo ekologickými faktory, které ovlivňují diverzitu bakterií v lišejnících. Mezi tyto ekologické faktory patří například odlišná místa odběru vzorků v jednotlivých studiích nebo faktory dané specifickými poměry na

konkrétním stanovišti, kde byl vzorek odebírán (Hodkinson et al., 2012; Mushegian et al., 2011; Wedin et al., 2016).

Většina autorů se shoduje na tom, že bakterie jsou důležitými partnery v lišejníkové symbióze a někteří je staví dokonce na podobnou úroveň jako mykobionta a fotobionta (Pankratov 2023; Jiang et al. 2017). Jiní autoři naopak tvrdí, že důležitost mikrobiomu lišejníků je obdobná jako u mikrobiomu jakéhokoliv jiného organismu např. člověka, a proto by na něj mělo být takto nahlíženo.

Seznam použité literatury

- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., Tattini, M., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci.* 196, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Almendras, K., García, J., Carú, M., Orlando, J., 2018. Nitrogen-fixing bacteria associated with *Peltigera* cyanolichens and *Cladonia* chlorolichens. *Molecules* 23, 3077. <https://doi.org/10.3390/molecules23123077>
- Alonso-García, M., Villarreal A., J.C., 2022. Bacterial community of reindeer lichens differs between northern and southern lichen woodlands. *Can. J. For. Res.* 52, 662–673. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2021-0272>
- Andersson, A.F., Lindberg, M., Jakobsson, H., Bäckhed, F., Nyrén, P., Engstrand, L., 2008. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLOS ONE* 3, e2836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002836>
- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G., Bethlenfalvay, G.J., 1997. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 192, 71–79. <https://doi.org/10.1023/A:1004249629643>
- Aschenbrenner, I.A., Cardinale, M., Berg, G., Grube, M., 2014. Microbial cargo: do bacteria on symbiotic propagules reinforce the microbiome of lichens? *Environ. Microbiol.* 16, 3743–3752. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12658>
- Aschenbrenner, I.A., Cernava, T., Erlacher, A., Berg, G., Grube, M., 2017. Differential sharing and distinct co-occurrence networks among spatially close bacterial microbiota of bark, mosses and lichens. *Mol. Ecol.* 26, 2826–2838. <https://doi.org/10.1111/mec.14070>
- Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P., 2015. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>
- Barke, J., Seipke, R.F., Grünschow, S., Heavens, D., Drou, N., Bibb, M.J., Goss, R.J., Yu, D.W., Hutchings, M.I., 2010. A mixed community of actinomycetes produce multiple antibiotics for the fungus farming ant *Acromyrmex octospinosus*. *BMC Biol.* 8, 109. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-109>
- Bates, S.T., Cropsey, G.W.G., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2011. Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 1309–1314. <https://doi.org/10.1128/AEM.02257-10>
- Béjà, O., Suzuki, M.T., Heidelberg, J.F., Nelson, W.C., Preston, C.M., Hamada, T., Eisen, J.A., Fraser, C.M., DeLong, E.F., 2002. Unsuspected diversity among marine aerobic anoxygenic phototrophs. *Nature* 415, 630–633. <https://doi.org/10.1038/415630a>
- Bellio, P., Di Pietro, L., Mancini, A., Piovano, M., Nicoletti, M., Brisdelli, F., Tondi, D., Cendron, L., Franceschini, N., Amicosante, G., Perilli, M., Celenza, G., 2017. SOS response in bacteria: inhibitory activity of lichen secondary metabolites against *Escherichia coli RecA* protein. *Phytomedicine* 29, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.04.001>
- Biosca, E.G., Flores, R., Santander, R.D., Díez-Gil, J.L., Barreno, E., 2016. Innovative approaches using lichen enriched media to improve isolation and culturability of lichen associated bacteria. *PLOS ONE* 11, e0160328. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160328>

- Bjelland, T., Grube, M., Hoem, S., Jorgensen, S.L., Daae, F.L., Thorseth, I.H., Øvreås, L., 2011. Microbial metacommunities in the lichen–rock habitat. *Environ. Microbiol. Rep.* 3, 434–442. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00206.x>
- BOWLER, P.A., RUNDEL, P.W., 1975. Reproductive strategies in lichens. *Bot. J. Linn. Soc.* 70, 325–340. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1975.tb01653.x>
- Brandt, A., Vera, J.-P. de, Onofri, S., Ott, S., 2015. Viability of the lichen *Xanthoria elegans* and its symbionts after 18 months of space exposure and simulated Mars conditions on the ISS. *Int. J. Astrobiol.* 14, 411–425. <https://doi.org/10.1017/S1473550414000214>
- Cardinale, M., Grube, M., Castro, J.V., Jr, Müller, H., Berg, G., 2012. Bacterial taxa associated with the lung lichen *Lobaria pulmonaria* are differentially shaped by geography and habitat. *FEMS Microbiol. Lett.* 329, 111–115. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02508.x>
- Cardinale, M., Puglia, A.M., Grube, M., 2006. Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 57, 484–495. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00133.x>
- Cardinale, M., Steinová, J., Rabensteiner, J., Berg, G., Grube, M., 2012. Age, sun and substrate: triggers of bacterial communities in lichens. *Environ. Microbiol. Rep.* 4, 23–28. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00272.x>
- Cardinale, M., Vieira de Castro, J., Jr, Müller, H., Berg, G., Grube, M., 2008. In situ analysis of the bacterial community associated with the reindeer lichen *Cladonia arbuscula* reveals predominance of Alphaproteobacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66, 63–71. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00546.x>
- Černajová, I., Škaloud, P., 2019. The first survey of Cystobasidiomycete yeasts in the lichen genus *Cladonia*; with the description of *Lichenozya pisutiana* gen. nov., sp. nov. *Fungal Biol.* 123, 625–637. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.05.006>
- Cernava, T., Aschenbrenner, I.A., Grube, M., Liebming, S., Berg, G., 2015. A novel assay for the detection of bioactive volatiles evaluated by screening of lichen-associated bacteria. *Front. Microbiol.* 6.
- Cernava, T., Aschenbrenner, I.A., Soh, J., Sensen, C.W., Grube, M., Berg, G., 2019. Plasticity of a holobiont: desiccation induces fasting-like metabolism within the lichen microbiota. *ISME J.* 13, 547–556. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0286-7>
- Cernava, T., Berg, G., Grube, M., 2016. High life expectancy of bacteria on lichens. *Microb. Ecol.* 72, 510–513. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0818-5>
- Cernava, T., Erlacher, A., Aschenbrenner, I.A., Krug, L., Lassek, C., Riedel, K., Grube, M., Berg, G., 2017. Deciphering functional diversification within the lichen microbiota by meta-omics. *Microbiome* 5, 82. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0303-5>
- Cernava, T., Müller, H., Aschenbrenner, I.A., Grube, M., Berg, G., 2015. Analyzing the antagonistic potential of the lichen microbiome against pathogens by bridging metagenomic with culture studies. *Front. Microbiol.* 6.
- Cernava, T., Vasfiu, Q., Erlacher, A., Aschenbrenner, I.A., Francesconi, K., Grube, M., Berg, G., 2018. Adaptions of lichen microbiota functioning under persistent exposure to arsenic contamination. *Front. Microbiol.* 9.

- Chater, K.F., Biró, S., Lee, K.J., Palmer, T., Schrempf, H., 2010. The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiol. Rev.* 34, 171–198. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00206.x>
- Chen, W.-M., de Faria, S.M., Straliootto, R., Pitard, R.M., Simões-Araújo, J.L., Chou, J.-H., Chou, Y.-J., Barrios, E., Prescott, A.R., Elliott, G.N., Sprent, J.I., Young, J.P.W., James, E.K., 2005. Proof that *Burkholderia* strains form effective symbioses with legumes: a study of novel mimosa-nodulating strains from South America. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 7461–7471. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7461-7471.2005>
- Cornejo, C., Scheidegger, C., 2013. New morphological aspects of cephalodium formation in the lichen *Lobaria pulmonaria* (Lecanorales, Ascomycota). *The Lichenologist* 45, 77–87. <https://doi.org/10.1017/S0024282912000631>
- Croft, M.T., Lawrence, A.D., Raux-Deery, E., Warren, M.J., Smith, A.G., 2005. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature* 438, 90–93. <https://doi.org/10.1038/nature04056>
- de Vera, J.-P., 2012. Lichens as survivors in space and on Mars. *Fungal Ecol., Fungi in Extreme Environments* 5, 472–479. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.008>
- Domaschke, S., Fernández-Mendoza, F., A. García, M., Martín, MaríaP., Printzen, C., 2012. Low genetic diversity in Antarctic populations of the lichen-forming ascomycete *Cetraria aculeata* and its photobiont. *Polar Res.* 31, 17353. <https://doi.org/10.3402/polar.v31i0.17353>
- Eichorst, S.A., Kuske, C.R., Schmidt, T.M., 2011. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum acidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 586–596. <https://doi.org/10.1128/AEM.01080-10>
- Erlacher, A., Cernava, T., Cardinale, M., Soh, J., Sensen, C.W., Grube, M., Berg, G., 2015. Rhizobiales as functional and endosymbiotic members in the lichen symbiosis of *Lobaria pulmonaria* L. *Front. Microbiol.* 6.
- Eymann, C., Lassek, C., Wegner, U., Bernhardt, J., Fritsch, O.A., Fuchs, S., Otto, A., Albrecht, D., Schiefelbein, U., Cernava, T., Aschenbrenner, I., Berg, G., Grube, M., Riedel, K., 2017. Symbiotic interplay of fungi, algae, and bacteria within the lung lichen *Lobaria pulmonaria* L. Hoffm. as Assessed by State-of-the-Art Metaproteomics. *J. Proteome Res.* 16, 2160–2173. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00974>
- Galperin, M.Y., 2016. Genome diversity of spore-forming Firmicutes, in: *The Bacterial Spore*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1128/9781555819323.ch1>
- Garg, N., Zeng, Y., Edlund, A., Melnik, A.V., Sanchez, L.M., Mohimani, H., Gurevich, A., Miao, V., Schiffler, S., Lim, Y.W., Luzzatto-Knaan, T., Cai, S., Rohwer, F., Pevzner, P.A., Cichewicz, R.H., Alexandrov, T., Dorrestein, P.C., 2016. Spatial molecular architecture of the microbial community of a *Peltigera* lichen. *mSystems* 1, e00139-16. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00139-16>
- Gauslaa, Y., 2005. Lichen palatability depends on investments in herbivore defence. *Oecologia* 143, 94–105. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1768-z>
- González, I., Ayuso-Sacido, A., Anderson, A., Genilloud, O., 2005. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54, 401–415. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.05.004>

- Grimm, M., Grube, M., Schiefelbein, U., Zühlke, D., Bernhardt, J., Riedel, K., 2021. The lichens' microbiota, still a mystery? *Front. Microbiol.* 12.
- Grube, M., Cardinale, M., de Castro, J.V., Müller, H., Berg, G., 2009. Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *ISME J.* 3, 1105–1115. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.63>
- Grube, M., Cernava, T., Soh, J., Fuchs, S., Aschenbrenner, I., Lassek, C., Wegner, U., Becher, D., Riedel, K., Sensen, C.W., Berg, G., 2015. Exploring functional contexts of symbiotic sustain within lichen-associated bacteria by comparative omics. *ISME J.* 9, 412–424. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.138>
- Grube, M., Köberl, M., Lackner, S., Berg, C., Berg, G., 2012. Host–parasite interaction and microbiome response: effects of fungal infections on the bacterial community of the Alpine lichen *Solorina crocea*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82, 472–481. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01425.x>
- Henckel, P.A., Yuzhakova, L.A., 1936. On the role of *Azotobacter* in the lichen symbiosis. *Bull. Perm Biol. Res. Inst.* 315.
- Henkel, P.A., Plotnikova, T.T., 1973. Nitrogen-fixing bacteria in lichens. *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.* 807–813.
- Hodkinson, B.P., Gottel, N.R., Schadt, C.W., Lutzoni, F., 2012. Photoautotrophic symbiont and geography are major factors affecting highly structured and diverse bacterial communities in the lichen microbiome. *Environ. Microbiol.* 14, 147–161. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02560.x>
- Hodkinson, B.P., Lutzoni, F., 2009. A microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the Rhizobiales. *Symbiosis* 49, 163–180. <https://doi.org/10.1007/s13199-009-0049-3>
- Honegger, R., 2009. Lichen-forming fungi and their photobionts, in: Deising, H.B. (Ed.), *Plant Relationships, The Mycota*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 307–333. https://doi.org/10.1007/978-3-540-87407-2_16
- Honegger, R., 1995. Experimental studies with foliose macrolichens: fungal responses to spatial disturbance at the organismic level and to spatial problems at the cellular level during drought stress events. *Can. J. Bot.* 73, 569–578. <https://doi.org/10.1139/b95-297>
- Honegger, R., 1990. Surface interactions in lichens, in: Wiessner, W., Robinson, D.G., Starr, R.C. (Eds.), *Cell Walls and Surfaces, Reproduction, Photosynthesis, Experimental Phycology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 40–54. https://doi.org/10.1007/978-3-642-48652-4_3
- Honegger, R., Axe, L., Edwards, D., 2013a. Bacterial epibionts and endolichenic actinobacteria and fungi in the Lower Devonian lichen *Chlorolichenomycites salopensis*. *Fungal Biol.* 117, 512–518. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.05.003>
- Honegger, R., Edwards, D., Axe, L., 2013b. The earliest records of internally stratified cyanobacterial and algal lichens from the Lower Devonian of the Welsh Borderland. *New Phytol.* 197, 264–275. <https://doi.org/10.1111/nph.12009>
- Humbert, S., Tarnawski, S., Fromin, N., Mallet, M.-P., Aragno, M., Zopfi, J., 2010. Molecular detection of anammox bacteria in terrestrial ecosystems: distribution and diversity. *ISME J.* 4, 450–454. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.125>

- Janssen, P.H., 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1719–1728. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>
- Jiang, D.-F., Wang, H.-Y., Si, H.-L., Zhao, L., Liu, C.-P., Zhang, H., 2017. Isolation and culture of lichen bacteriobionts. *The Lichenologist* 49, 175–181. <https://doi.org/10.1017/S0024282917000044>
- Jones, E.B.G., Hyde, K.D., Pang, K.-L., 2014. *Freshwater fungi: and fungal-like organisms*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- Kim, M.-K., Oh, T.-J., Park, H., 2014. Antibacterial and antioxidant capacity of polar microorganisms isolated from arctic lichen *Ochrolechia* sp. [www Document]. URL <http://repository.kopri.re.kr/handle/201206/3814?mode=simple> (accessed 3.19.23).
- Kim, M.-K., Oh, T.-J., Park, H., 2013. Antimicrobial properties of the bacterial associates of the Arctic lichen *Stereocaulon* sp. [www Document]. URL <http://repository.kopri.re.kr/handle/201206/6695> (accessed 4.8.23).
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C., Stalpers, J.A., 2001. *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi: 9th edition*. Ainsworth Bisbys Dict. Fungi 9th Ed.
- Kroken, S., Taylor, J.W., 2000. Phylogenetic species, reproductive mode, and specificity of the green alga *Trebouxia* forming lichens with the fungal genus *Letharia*. *The Bryologist* 103, 645–660.
- Larson, D.W., 1979. Lichen Water relations under drying conditions. *New Phytol.* 82, 713–731. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1979.tb01666.x>
- Lau, S., Shao, N., Bock, R., Jürgens, G., De Smet, I., 2009. Auxin signaling in algal lineages: fact or myth? *Trends Plant Sci.* 14, 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.01.004>
- Lauterwein, M., Oethinger, M., Belsner, K., Peters, T., Marre, R., 1995. In vitro activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+)-usnic acid, and (-)-usnic acid against aerobic and anaerobic microorganisms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 2541–2543. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.11.2541>
- Lee, Y.M., Kim, E.H., Lee, H.K., Hong, S.G., 2014. Biodiversity and physiological characteristics of Antarctic and Arctic lichens-associated bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30, 2711–2721. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1695-z>
- Leiva, D., Fernández-Mendoza, F., Acevedo, J., Carú, M., Grube, M., Orlando, J., 2021. The bacterial community of the foliose macro-lichen *Peltigera frigida* is more than a mere extension of the microbiota of the Subjacent Substrate. *Microb. Ecol.* 81, 965–976. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01662-y>
- Lenova, L.I., Blum, O., 1983. To the question on the third component of lichens. *Bot. J.* 21–28.
- Liba, C.M., Ferrara, F.I.S., Manfio, G.P., Fantinatti-Garboggini, F., Albuquerque, R.C., Pavan, C., Ramos, P.L., Moreira-Filho, C.A., Barbosa, H.R., 2006. Nitrogen-fixing chemo-organotrophic bacteria isolated from cyanobacteria-deprived lichens and their ability to solubilize phosphate and to release amino acids and phytohormones. *J. Appl. Microbiol.* 101, 1076–1086. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03010.x>
- Llontop, M., Enrique, M., 2020. Identification, characterization, and use of precipitation-borne and plant-associated bacteria.

- Logan, N.A., 2012. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *J. Appl. Microbiol.* 112, 417–429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05204.x>
- Lücking, R., Hodkinson, B.P., Leavitt, S.D., 2017. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. *The Bryologist* 119, 361–416. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-119.4.361>
- Lücking, R., Leavitt, S.D., Hawksworth, D.L., 2021. Species in lichen-forming fungi: balancing between conceptual and practical considerations, and between phenotype and phylogenomics. *Fungal Divers.* 109, 99–154. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00477-7>
- Luo, J., Yang, D., Hindra, Adhikari, A., Dong, L.-B., Ye, F., Yan, X., Rader, C., Shen, B., 2021. Discovery of ammosesters by mining the *Streptomyces uncialis* DCA2648 genome revealing new insight into ammosamide biosynthesis. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 48, kuab027. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab027>
- Maier, S., Schmidt, T.S.B., Zheng, L., Peer, T., Wagner, V., Grube, M., 2014. Analyses of dryland biological soil crusts highlight lichens as an important regulator of microbial communities. *Biodivers. Conserv.* 23, 1735–1755. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0719-1>
- Mark, K., Laanisto, L., Bueno, C.G., Niinemets, Ü., Keller, C., Scheidegger, C., 2020. Contrasting co-occurrence patterns of photobiont and cystobasidiomycete yeast associated with common epiphytic lichen species. *New Phytol.* 227, 1362–1375. <https://doi.org/10.1111/nph.16475>
- Mevarech, M., Rice, D., Haselkorn, R., 1980. Nucleotide sequence of a cyanobacterial *nifH* gene coding for nitrogenase reductase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77, 6476–6480. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.11.6476>
- Millbank, J.W., Kershaw, K.A., 1970. Nitrogen metabolism in lichens: Iii. Nitrogen fixation by internal cephalodia in *Lobaria pulmonaria*. *New Phytol.* 69, 595–597. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1970.tb07611.x>
- Miranda-González, R., McCune, B., 2020. The weight of the crust: biomass of crustose lichens in tropical dry forest represents more than half of foliar biomass. *Biotropica* 52, 1298–1308. <https://doi.org/10.1111/btp.12837>
- Mushegian, A.A., Peterson, C.N., Baker, C.C.M., Pringle, A., 2011. Bacterial diversity across individual lichens. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 4249–4252. <https://doi.org/10.1128/AEM.02850-10>
- Nash, T.H., 1996. *Lichen Biology*. Cambridge University Press.
- Navarro-Noya, Y.E., Jiménez-Aguilar, A., Valenzuela-Encinas, C., Alcántara-Hernández, R.J., Ruiz-Valdiviezo, V.M., Ponce-Mendoza, A., Luna-Guido, M., Marsch, R., Dendooven, L., 2014. Bacterial communities in soil under moss and lichen-moss crusts. *Geomicrobiol. J.* 31, 152–160. <https://doi.org/10.1080/01490451.2013.820236>
- Nissinen, R., Franz, O., Kovanen, S., Mäkelä, M., Kraft, V., Ketola, K., Liukkonen, A., Heikkilä-Huhta, K., Häkkinen, H., Ihalainen, J.A., 2023. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria are ubiquitous in phyllo- and endosphere microbiomes of boreal and subarctic plants. <https://doi.org/10.1101/2023.02.19.529139>
- Noh, H.-J., Baek, K., Hwang, C.Y., Shin, S.C., Hong, S.G., Lee, Y.M., 2019. *Lichenihabitans psoromatis* gen. nov., sp. nov., a member of a novel lineage (Lichenihabitantaceae fam. nov.) within the order of Rhizobiales isolated from Antarctic lichen. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69, 3837–3842. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003695>

- Pankratov, T.A., 2023a. Genome analysis of two lichen bacteriobionts, *Lichenibacterium ramalinae* and *Lichenibacterium minor*: Factors of Virulence and Adaptation. Biol. Bull. 50, 19–28. <https://doi.org/10.1134/S1062359023010090>
- Pankratov, T.A., 2023b. Genome analysis of two lichen bacteriobionts, *Lichenibacterium ramalinae* and *Lichenibacterium minor*: factors of virulence and adaptation. Biol. Bull. 50, 19–28. <https://doi.org/10.1134/S1062359023010090>
- Pankratov, T.A., Grouzdev, D.S., Patutina, E.O., Kolganova, T.V., Suzina, N.E., Berestovskaya, J.J., 2020. *Lichenibacterium ramalinae* gen. nov, sp. nov., *Lichenibacterium minor* sp. nov., the first endophytic, beta-carotene producing bacterial representatives from lichen thalli and the proposal of the new family Lichenibacteriaceae within the order Rhizobiales. Antonie Van Leeuwenhoek 113, 477–489. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01357-6>
- Pankratov, T.A., Samylina, O.S., Tikhonova, E.N., Ianutsevich, E.A., Avtukh, A.N., Lee, Y.M., 2023. A novel bacteriobiont of the Arctic lichen *Flavocetraria nivalis*, *Lichenifustis flavocetrariae* gen. nov, sp. nov. demonstrating hydrolytic properties and containing a full set of the Calvin–Benson–Bassham cycle genes. Arch. Microbiol. 205, 232. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03577-x>
- Panosyan, A.K., Nikogosyan, V.G., 1966. The presence of *Azotobacter* in lichens. Akad. Nauk. Armenian SSR, Biol. Zhurn. Armen. 19, 3–11.
- Parrot, D., Antony-Babu, S., Intertaglia, L., Grube, M., Tomasi, S., Suzuki, M.T., 2015. Littoral lichens as a novel source of potentially bioactive Actinobacteria. Sci. Rep. 5, 15839. <https://doi.org/10.1038/srep15839>
- Printzen, C., Fernández-Mendoza, F., Muggia, L., Berg, G., Grube, M., 2012. Alphaproteobacterial communities in geographically distant populations of the lichen *Cetraria aculeata*. FEMS Microbiol. Ecol. 82, 316–325. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01358.x>
- Richardson, A.E., Hadobas, P.A., Hayes, J.E., O’Hara, C.P., Simpson, R.J., 2001. Utilization of phosphorus by pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil micro-organisms. Plant Soil 229, 47–56. <https://doi.org/10.1023/A:1004871704173>
- Richardson, D.H.S., Smith, D.C., Lewis, D.H., 1967. Carbohydrate movement between the symbionts of lichens. Nature 214, 879–882. <https://doi.org/10.1038/214879a0>
- Rolshausen, G., Dal Grande, F., Otte, J., Schmitt, I., n.d. Lichen holobionts show compositional structure along elevation. Mol. Ecol. n/a. <https://doi.org/10.1111/mec.16471>
- Romeike, J., Friedl, T., Helms, G., Ott, S., 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, 1209–1217. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004181>
- Sanders, W.B., Masumoto, H., 2021. Lichen algae: the photosynthetic partners in lichen symbioses. The Lichenologist 53, 347–393. <https://doi.org/10.1017/S0024282921000335>
- Schneider, T., Schmid, E., de Castro Jr., J.V., Cardinale, M., Eberl, L., Grube, M., Berg, G., Riedel, K., 2011. Structure and function of the symbiosis partners of the lung lichen (*Lobaria pulmonaria* L. Hoffm.) analyzed by metaproteomics. Proteomics 11, 2752–2756. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000679>

- Selbmann, L., Zucconi, L., Ruisi, S., Grube, M., Cardinale, M., Onofri, S., 2010. Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar Biol.* 33, 71–83. <https://doi.org/10.1007/s00300-009-0686-2>
- Sigurbjörnsdóttir, M.A., Andrésson, Ó.S., Vilhelmsson, O., 2015. Analysis of the *Peltigera membranacea* metagenome indicates that lichen-associated bacteria are involved in phosphate solubilization. *Microbiology* 161, 989–996. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000069>
- Sigurbjörnsdóttir, M.A., Heiðmarsson, S., Jónsdóttir, A.R., Vilhelmsson, O., 2014. Novel bacteria associated with Arctic seashore lichens have potential roles in nutrient scavenging. *Can. J. Microbiol.* 60, 307–317. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0888>
- Sigurbjörnsdóttir, M.A., Vilhelmsson, O., 2016. Selective isolation of potentially phosphate-mobilizing, biosurfactant-producing and biodegradative bacteria associated with a sub-Arctic, terricolous lichen, *Peltigera membranacea*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92, fiw090. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw090>
- Škaloud, P., Steinová, J., Řídká, T., Vančurová, L., Peksa, O., 2015. Assembling the challenging puzzle of algal biodiversity: species delimitation within the genus *Asterochloris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 51, 507–527. <https://doi.org/10.1111/jpy.12295>
- Solhaug, K.A., Gauslaa, Y., Nybakken, L., Bilger, W., 2003. UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytol.* 158, 91–100. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00708.x>
- Spribille, T., Resl, P., Stanton, D.E., Tagirdzhanova, G., 2022. Evolutionary biology of lichen symbioses. *New Phytol.* 234, 1566–1582. <https://doi.org/10.1111/nph.18048>
- Spribille, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M.C., Schneider, K., Stabentheiner, E., Toome-Heller, M., Thor, G., Mayrhofer, H., Johannesson, H., McCutcheon, J.P., 2016. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. *Science* 353, 488–492. <https://doi.org/10.1126/science.aaf8287>
- Stojanov, S., Berlec, A., Štrukelj, B., 2020. The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms* 8, 1715. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
- Subbaiyan, R., Ganesan, A., Ramasubramanian, B., 2022. Self-potent anti-microbial and anti-fouling action of silver nanoparticles derived from lichen-associated bacteria. *Appl. Nanosci.* 12, 2397–2408. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02501-x>
- Swamy, C.T., Gayathri, D., 2021. High throughput sequencing study of foliose lichen-associated bacterial communities from India. *Mol. Biol. Rep.* 48, 2389–2397. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06272-6>
- Tagirdzhanova, G., Saary, P., Cameron, E.S., Garber, A.I., Escandón, D.D., Goyette, S., Nogerius, V.T., Passo, A., Mayrhofer, H., Holien, H., Tønsberg, T., Stein, L.Y., Finn, R.D., Spribille, T., 2023. Evidence for a core set of microbial lichen symbionts from a global survey of metagenomes. <https://doi.org/10.1101/2023.02.02.524463>
- Uphof, J.C.Th., 1925. The occurrence of purple bacteria as symbionts of a lichen. *Am. J. Bot.* 12, 97–103. <https://doi.org/10.2307/2435396>
- Wang, X.Y., Wei, X.L., Luo, H., Kim, J.A., Jeon, H.S., Koh, Y.J., Hur, J.-S., 2010. Plant hormones promote growth in lichen-forming fungi. *Mycobiology* 38, 176–179. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.3.176>

- Wedin, M., Maier, S., Fernandez-Brime, S., Cronholm, B., Westberg, M., Grube, M., 2016. Microbiome change by symbiotic invasion in lichens. *Environ. Microbiol.* 18, 1428–1439. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13032>
- West, N.J., Parrot, D., Fayet, C., Grube, M., Tomasi, S., Suzuki, M.T., 2018. Marine cyanolichens from different littoral zones are associated with distinct bacterial communities. *PeerJ* 6, e5208. <https://doi.org/10.7717/peerj.5208>
- Williams, D.E., Davies, J., Patrick, B.O., Bottriell, H., Tarling, T., Roberge, M., Andersen, R.J., 2008. Cladoniamides A–G, tryptophan-derived alkaloids produced in culture by *Streptomyces uncialis*. *Org. Lett.* 10, 3501–3504. <https://doi.org/10.1021/ol801274c>
- Xu, H., Wang, L., Feng, X., Gong, X., 2022. Core taxa and photobiont-microbial interaction within the lichen *Heterodermia obscurata* (Physciaceae, Heterodermia). *Symbiosis* 86, 187–204. <https://doi.org/10.1007/s13199-022-00832-5>