

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBi



Štěpán Jerhot

Role basidiomycetních kvasinek v lišejníkové symbióze

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Jana Steinová, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval sám z uvedené literatury a na základě konzultací se svým školitelem.

Praha 2022.

Abstrakt:

Lišejníky jsou podle nejnovější definice považovány za ekosystémy, tvořené interakcí houby s jedním nebo více fotosyntetizujícími partnery a nedefinovaným počtem dalších mikroorganismů. Jednu skupinu těchto mikroorganismů tvoří basidiomycetní kvasinky, jejichž role byla v odborných pracích zaměřených na lišejníky v posledních letech diskutována. Tato bakalářská práce shrnuje znalosti o rozšíření lišejníkových kvasinek a jejich významu v těchto symbiózách. Dále také představuje některé metody nově použité ke studiu kvasinek v lišejníkové symbióze a porovnává často neshodné výsledky na základě metod, které byly v daných pracích použity. Pro vyvození dostatečně obsáhlých závěrů o roli kvasinek v lišejníkové symbióze není téma dostatečně pokryto. Z dosavadních výsledků lze ale usuzovat, že lišejníkové kvasinky nemají nijak významnou specifitu vazby na druh mykobionta a nebylo podpořeno, že by kvasinky přímo zvyšovaly fitness hostitele. K definitivnímu určení jejich role v lišejníkové symbióze by mohlo přispět detailnější zobrazení struktur, které kvasinky vytváří na místech kontaktu s hostitelem a studium mechanismů, kterými mezi sebou zúčastnění partneři komunikují.

Klíčová slova: Basidiomycetní kvasinky, symbióza, lišejník, mikrobiom

Abstract:

Lichens are, according to the latest definition considered ecosystems, which consist of a fungus, one or more photosynthesizing partners and an undefined number of additional microorganisms. The role of basidiomycete yeasts, which were shown to appear in many lichen species, has been discussed in the latest lichenological scientific papers. This bachelor thesis summarizes the knowledge about the distribution of lichen-associated yeasts and their importance in these symbioses. It also presents some of the methods newly used to study yeasts in lichen symbioses and compares the often inconsistent results based on the methods used in the papers. The topic is not sufficiently covered to draw sufficiently robust conclusions about the role of yeasts in lichen symbiosis. However, the results to date suggest that lichen yeasts do not have any significant specificity of association with mycobiont species, and there has been no support that yeasts directly enhance host fitness. A more detailed depiction of the structures that yeasts form at sites of contact with the host and a description of the mechanisms by which the participating partners communicate with each other could help to definitively determine their role in the lichen symbiosis.

Key words: Basidiomycete yeasts, symbiosis, lichen, microbiome

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Organismy vyskytující se v lišejnících	2
2.1. Mykobiont.....	3
2.2. Fotobiont.....	3
2.3. Další organismy	4
3. Kvasinky vyskytující se v lišejníkových symbiózách.....	4
3.1. Rozšíření kvasinek v lišejníkové stélce	6
3.2. Diverzita kvasinek v lišejnících	7
3.3. Specificita vazby k hostitelům	8
3.4. Příspěvky kvasinek do symbiózy	10
4. Metody studia diverzity a funkce kvasinek v lišejnících	12
4.1. Kultivace kvasinek.....	13
4.1. Sekvenační metody	13
4.2. Vizualizace kvasinek.....	16
4.3. Hmotnostní spektrometrie.....	17
5. Kritické zhodnocení dosud publikované literatury	17
5.1. Rozpory ve výsledcích studií	18
5.2. Podstata symbiotického vztahu kvasinek v rámci lišejníků	19
6. Možné směry dalšího výzkumu	21
7. Závěr	22
Seznam použité literatury	23
Přílohy.....	28

1. Úvod

Lišejníky byly od doby objevení své symbiotické povahy profesorem S. Schwendererem dlouho vnímány jako symbióza dvou organismů, houby (mykobionta) a řasy nebo sinice (fotobionta) (Honegger, 2000). V posledních letech ale přibývají studie o dalších organismech, které se v lišejnících vyskytují a které mohou (ale také nemusí) být nezbytnou součástí lišejníkové symbiozy. Jejich přítomnost naznačuje, že je třeba vnímat lišejník nejen jako vztah dvou hlavních partnerů, ale spíše jako komplexní ekosystém zahrnující vyšší počet těchto symbiotických partnerů (Farrar, 1976a; Pankratov et al., 2017; Hawksworth & Grube, 2020).

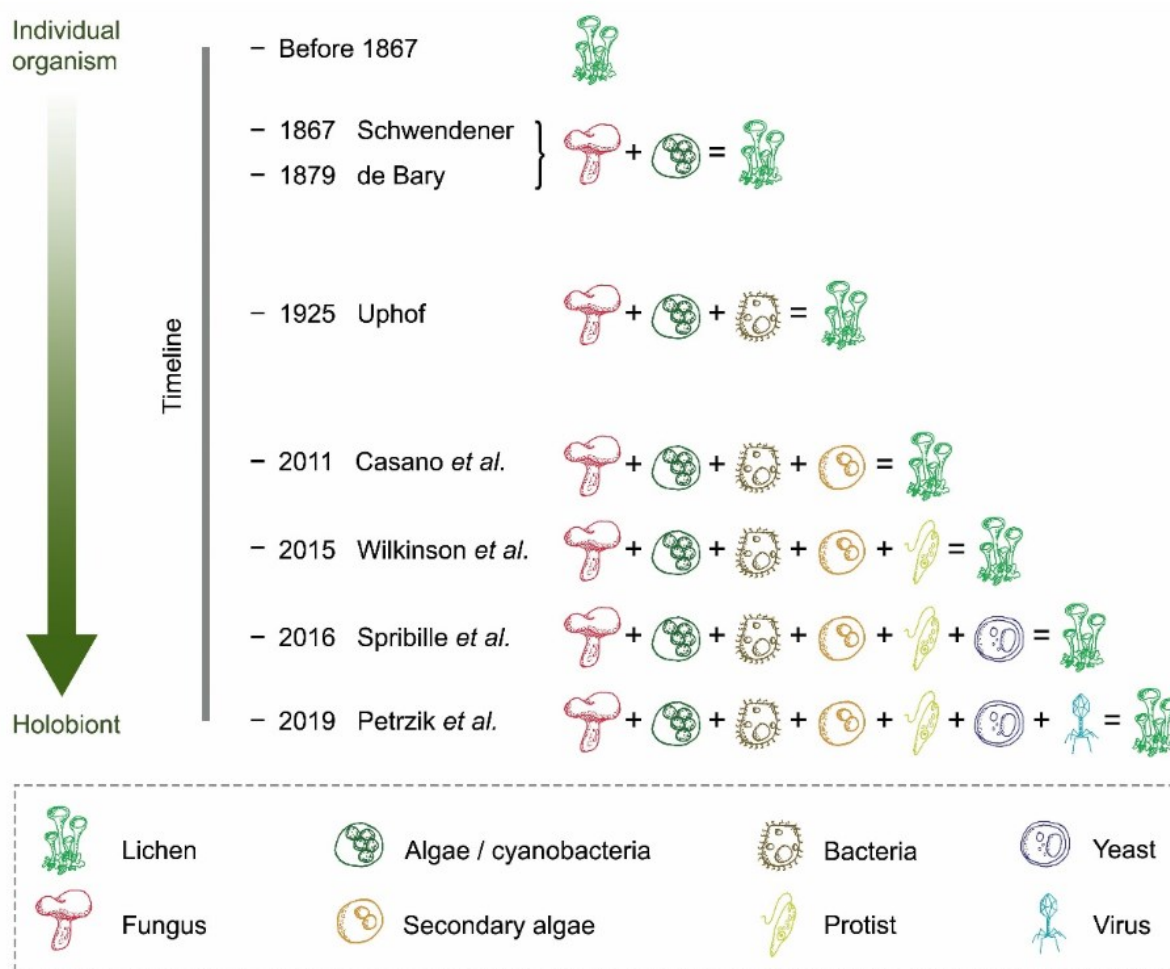
V lišejnících se kromě mykobionta a fotobiontů mohou vyskytovat také viry a archea, bakterie, prvoci, lichenikolní houby a kvasinky nebo drobní bezobratlí (Hawksworth & Grube, 2020; Grimm et al., 2021). Je otázkou, zda tyto organismy lišejníky pouze obývají či zda některé z nich nejsou naopak nezbytné pro růst a vývoj lišejníkové symbiozy a nemohou v ní tak hrát důležitou roli.

Kvasinky se v tomto ohledu dostaly do významnějšího povědomí vědecké komunity teprve nedávno při zaznamenání souvislosti mezi výskytem basidiomycetních kvasinek a fenotypem lišejníku (Spribille et al., 2016). Většina dosavadních prací věnujících se těmto kvasinkám se zaměřuje především na mapování jejich výskytu (Duarte et al., 2016; Spribille et al., 2016; Kachalkin et al., 2017; Lendemer et al., 2019; Černajová & Škaloud, 2019; Tuovinen et al., 2021) a prací dokumentujících podrobnosti jejich interakce s organismy tvořícími lišejníkovou symbiózu je poskrovnu. O významu basidiomycetních kvasinek v lišejníkové symbióze se v odborné literatuře pouze diskutuje. Cílem mé práce je shrnout informace k výskytu a roli této skupiny v lišejníkové symbióze.

V následujících kapitolách krátce popíšu některé ze skupin organismů tvořících lišejníkovou stélku s důrazem na kvasinky. Následně představím výsledky prací zabývajících se tímto tématem a zhodnotím metody, které tyto práce používají. Popíšu aktuální názory na roli kvasinek v symbióze a nakonec se pokusím shrnout, kam by měl směřovat následující výzkum tak, aby doplnil stávající mezery ve vědění.

2. Organismy vyskytující se v lišejnících

Jak již bylo popsáno v úvodní kapitole, lišejníky se neskládají pouze z mykobionta a fotobionta. Stélku, která symbiózou vzniká, obývají další organismy, kterým, stejně jako fotobiontovi, stélka lišejníku přináší ochranu před okolním prostředím a další výhody. Toto společenství je možné nazývat lišejníkový mikrobiom a může kromě mykobionta, fotobionta a kvasinek také obsahovat viry, archea, bakterie, prvoky a lichenikolní houby (Grimm et al., 2021). Někteří autoři se domnívají, že nedílnou součástí lišejníkové symbiozy jsou (mimo mykobionta a fotobionta) celkem čtyři až sedm dalších mikroorganismů, které přispívají k fungování celého systému (Tagirdzhanova et al., 2023). V posledních letech je těmto potenciálním symbiontům věnována velká pozornost a je snaha o objasnění jejich role v rámci lišejníkové symbiozy (Grimm et al., 2021). Pro pochopení vzájemných souvislostí proto v této kapitole stručně představím organismy, které se v lišejnících vyskytují. Zaměřím se především na mykobionta a fotobionta a další organismy zmíním pouze krátce. Kvasinkám, které jsou hlavní náplní této bakalářské práce, se budu podrobně věnovat v následujících kapitolách.



Obr. 1: Vývoj náhledů na organismální diverzitu v lišejníkové stélce v čase (Morillas et al., 2022)

2.1. Mykobiont

Mykobiont je označení pro houbu, která tvoří stélku lišejníku. Vytváří vhodné podmínky především pro fotobionta, ale i další organismy a pomáhá jim přežít v extrémních prostředích různými způsoby (Bacon & White, 2014; Santiago et al., 2015; Grimm et al., 2021).

Přípevňuje stélku pevně k podkladu (Calcott et al., 2018) a zajišťuje ochranu proti vysychání a optimální hydrataci pro fotobionta (Honegger, 2007). Některé druhy mykobiontů syntetizují pigmenty (např. parietin), nebo bezbarvé sekundární metabolity (např. atranorin), které světelné i UV záření částečně odráží (Studzińska-Sroka et al., 2017) a obecně tak pomáhají chránit lišejník před světelným stresem (Gauslaa & Solhaug, 2001). Sekundární metabolity dále slouží k odbourávání kyslíkových radikálů (Marante et al., 2003), zvyšování tolerance vůči těžkým kovům a znečištění (Molnár & Farkas, 2010). Mohou mít i alelopatické účinky, které mají vliv na klíčení houbových spor, obranyschopnost rostlin anebo třeba životnost semen, čímž zvyšují konkurenceschopnost lišejníku (Einhellig, 1994). Dále mohou některé sekundární metabolity chránit lišejník proti patogenům (Ranković et al., 2008) nebo herbivorům (Asplund & Gauslaa, 2008).

Lichenizace, tedy schopnost tvořit symbiózu s fotosyntetizujícím organismem, se u hub objevila opakovaně (Gargas et al., 1995). Je považována za velmi úspěšnou životní strategii hub (Honegger, 1998) a odhaduje se, že je jí schopno až 21 % druhů hub (Nash, 2008). Nejvíce lichenizovaných zástupců spadá do oddělení *Ascomycota* s nejbohatšími třídami: *Lecanoromycetes* s více než 700 rody a 15 000 lichenizovanými druhy, *Arthoniomycetes*, *Eurotiomycetes* nebo *Dothideomycetes*. Výrazně méně je pak lichenizovaných zástupců stopkovýtrusných hub. Ty čítají přes 170 druhů v 15 rodech. Nejvíce zastoupená je čeleď *Hygrophoraceae* s rody *Cora*, *Dictyonema* nebo *Lichenomphalia* (Lücking et al., 2017).

2.2. Fotobiont

Fotobiont je autotrofní organismus, který v lišejníku fotosyntetizuje a vytváří cukerné alkoholy (konkrétně ribitol, erythritol či sorbitol) nebo glukózu. Cukerné alkoholy jsou produktem fotosyntézy řas a glukóza sinic (Richardson et al., 1968). Tyto produkty fotosyntetizující buňky vylučují do okolí, ze kterého je mykobiont přijímá buď haustorii, tedy houbovými vlákny, která mohou a nemusí pronikat skrz buněčnou stěnu fotobionta, nebo prostým kontaktem bez vzniku specifických struktur (Honegger, 1986, 1991). Mykobiont z nich utváří jiné cukerné alkoholy mannitol a arabitol (Richardson et al., 1968; Nash, 1996), které využívá k růstu, tvorbě sekundárních metabolitů a pro přežití vysychání (Spribille et al., 2022). Sinice, často jako sekundární fotobiont uzavřený v útvech ve stélce (tzv. cefalodiích), jsou schopny fixace dusíku, který mykobiont také využívá (Millbank & Kershaw, 1969).

Do dnešní doby je známo okolo 50 rodů fotobiontů lišejníků (Sanders & Masumoto, 2021). Nejčastěji jimi bývají některé zelené řasy z oddělení *Chlorophyta*. Řasové třídy obsahující nejvíce

lichenizovaných zástupů jsou *Trebouxiophyceae* (s rody *Trebouxia*, *Asterochloris* a *Coccomyxa*) a *Ulvophyceae* (s rodem *Trentepohlia*). Dále se symbiózy s lichenizovanými houbami účastní některé druhy třídy *Chlorophyceae* (např. z rodů *Bracteacoccus* a *Chlamydomonas*) a několik symbiontů bylo potvrzeno i ze skupiny *Stramenopila*, jmenovitě ze tříd *Xanthophyceae* a *Phaeophyceae*. Druhou velkou skupinou fotobiontů jsou sinice, převážně z rodů *Nostoc* a *Rhizonema* (Sanders & Masumoto, 2021).

Jednotliví zástupci řas a sinic mohou mít různou specifitu vůči svým houbovým symbiontům. Na složení fotobiontů ve stélce má dle některých autorů větší vliv vazba s hostitelem než ekologické podmínky stanoviště (Leavitt et al., 2015). V některých případech (3–4 %) se mohou ve stélce vyskytovat řasy i sinice dohromady (Honegger, 2008), takové lišejníky jsou pak nazývány tripartitními (např. Rikkinen, 2013). Relativně nedávno bylo také zjištěno, že v jedné stélce se může vyskytovat více řasových linií (Casano et al., 2011; Muggia et al., 2011). Význam tohoto úkazu ale není plně objasněn (Vančurová, 2022; Dědková, 2023).

2.3. Další organismy

Určitá vazba s lišejníky byla popsána i u dalších skupin organismů. Jako první z těchto dříve přehlížených skupin byly zaznamenány lichenikolní houby, popsané již roku 1795 (Lawrey & Diederich, 2003). Diverzita těchto hub je v odborné literatuře popsána obsáhleji z toho důvodu, že je jejich přítomnost často zřejmá na první pohled např. díky změnám morfologie plodnic (Diederich et al., 2018). Do této skupiny se stále řadí také kvasinky, popisované v dalších kapitolách. Více než sto let po lichenikolních houbách byly z lišejníků popsány nefotosyntetizující bakterie (Uphof, 1925). Ty jsou aktuálně asi nejvíce studované ze všech sekundárních lišejníkových symbiontů (Grimm et al., 2021). Z lišejníkových metagenomů byly popsány skupiny bakterií, které se ve stélkách vyskytují s významnou pravidelností a mohly by být pro symbiózu klíčové například syntézou vitamínů, nebo přispíváním k recyklaci živin v rámci lišejníkové stélky (Tagirdzhanova et al., 2023). Další popsanou skupinou z lišejníků jsou prvoci, o kterých se předpokládá, že se živí zmíněnými bakteriemi (Wilkinson et al., 2015) a v posledních letech byla pozornost věnována i virům v lišejnících (Petrzik et al., 2019; Merges et al., 2021), nicméně k prvokům i virům vázaným na lišejníky je k dispozici velmi omezený počet prací.

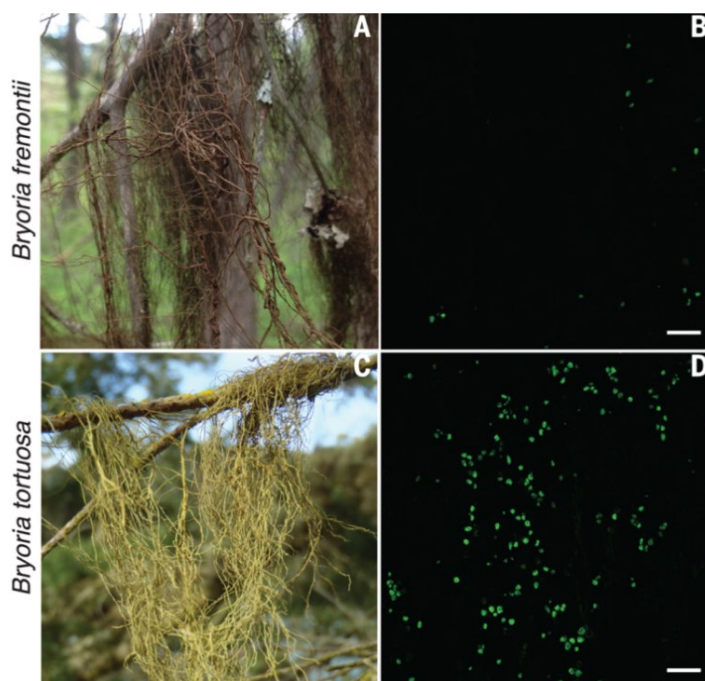
3. Kvasinky vyskytující se v lišejníkových symbiózách

Kvasinky jsou jednobuněčné houbové organismy, které jsou všeobecně rozšířené. Rozmnožují se převážně nepohlavně: většinou pučením, případně i buněčným dělením. Některé jsou schopny tvorby pseudomycelia, popřípadě i pravého mycelia. V přírodě nejčastěji zastupují roli rozkladačů, ale mohou také tvořit různé symbiotické vztahy s dalšími organismy. Jsou u nich známy příklady jak mutualismu (např. s bezobratlými), tak parazitismu (dalších druhů hub) (Starmer & Lachance, 2011).

Kvasinky nejsou monofyletickou skupinou. Jejich zástupci se vyskytují jak u vřeckovýtrusných, tak u stopkovýtrusných hub. Obecně jsou častěji zkoumáni zástupci vřeckovýtrusných kvasinek, o basidiomycetních kvasinkách je v literatuře informací méně (Černajová & Škaloud, 2019).

Kvasinky bývaly v minulosti během kultivace sekundárních houbových symbiontů vnímány jako kontaminace a při hodnocení výsledků nebyly obvykle brány v potaz (Petrini et al., 1990; Möller & Dreyfuss, 1996). Místy ale byly kvasinkové kultury určeny (Duarte et al., 2013), nebo byly asymptomatické kvasinky ze řádu Tremellales zachyceny jako kontaminace PCR analýz (Ekman, 1999). Z lišejníků byly také popsány dva nové druhy basidiomycetních kvasinek rodu *Fellomyces* (Tremellales), u kterých nebyla pozorována tvorba hálek (Prillinger et al., 1997; Lopandic et al., 2005). Zástupci řádů Tremellales a Cyphobasidiales byli z lišejníků původně známí pouze v hyfální formě v parazitických hálkách, které některé lišejníkové kvasinky tvoří při zahájení pohlavního cyklu (Diedrich, 1996; Tuovinen et al., 2019). Na možný mutualistický vztah basidiomycetních kvasinek s lišejníky poukázala teprve studie Spribille et al. (2016). V této práci autoři zkoumali transkriptomy dvou lišejníků: *Bryoria tortuosa* a *B. fremontii*, které se tradičně odlišovaly podle přítomnosti/absence kyseliny vulpinové, jež druhu *B. tortuosa* dodává žluté zbarvení. Tato studie navazovala na dříve publikovanou práci, ve které se na základě výsledků sekvenace čtyř obecně používaných molekulárních markerů ukázalo, že oba studované druhy není možné geneticky rozlišit (Velmala et al., 2009).

Autoři v práci Spribille et al. (2016) poukázali na to, že přítomnost kyseliny vulpinové v lišejníku *Bryoria fremontii* koreluje s výskytem kvasinek z třídy Cystobasidiomycetes. Stélky, ve kterých byly tyto kvasinky zaznamenány ve vyšších množstvích, obsahovaly kyselinu vulpinovou a byly žlutě zbarvené. Množství kvasinkových buněk a jejich umístění ve vztahu k sekundárním metabolitům přivedlo autory na myšlenku, že by kvasinky mohly kyselinu vulpinovou, další sekundární metabolity, ale i polysacharidy důležité pro stavbu lišejníku samy vytvářet, nebo indukovat jejich syntézu primárním mykobiontem. Další případy, kdy by přítomnost sekundárního kvasinkového symbionta souvisela se vzhledem celého systému, zatím z lišejníků známy nejsou. Autoři ale zmiňují, že rozpor mezi chemismem a fylogenetickou



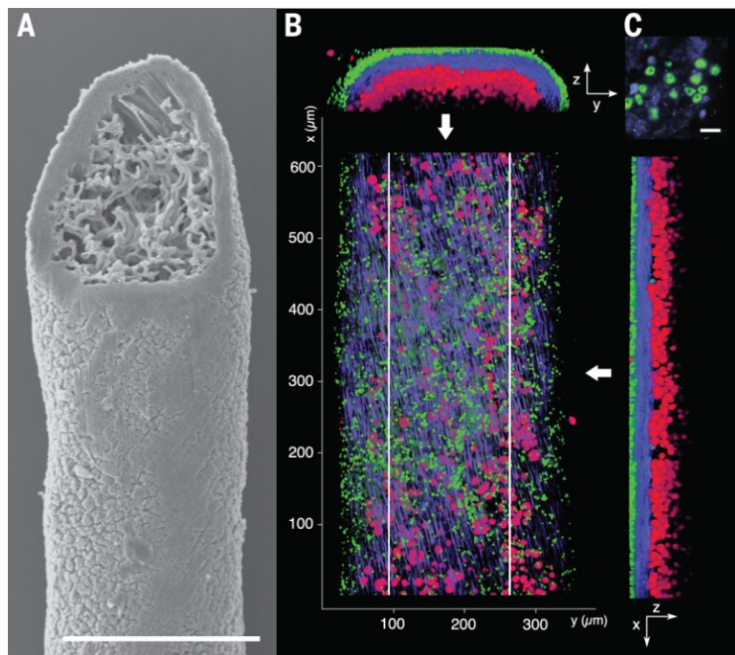
Obr. 2: Vizualizace kvasinek v lišejnících rodu *Bryoria* metodou FISH. Vlevo stélky lišejníku *B. fremontii* lišící se přítomností kyseliny vulpinové; Vpravo vizualizace kvasinek (zeleně) ve dvou morfofypech znázorněných na fotkách A a C metodou FISH (Spribille et al. 2016)

pozicí, který byl zaznamenán u některých zástupců Lecanoromycetes by mohl s tímto fenoménem souviset.

Díky tomu, že autoři této studie publikovali své výsledky v prestižním časopisu Science, získalo téma lišejníkových kvasinek velké množství pozornosti. V následujících letech pak vyšlo vícero prací zabývajících se tímto tématem. V nich autoři zkoumali především rozsah výskytu kvasinek (Duarte et al., 2016; Spribille et al., 2016; Kachalkin et al., 2017; Lendemmer et al., 2019; Tuovinen et al., 2019, 2021; Černajová & Škaloud, 2019; Smith et al., 2020; Cometto et al., 2022; Nguyen et al., 2023), specifitu k hostitelským lišejníkům (Fernández-Mendoza et al., 2017; Tuovinen et al., 2019; Mark et al., 2020; Černajová & Škaloud, 2020) a roli kvasinek v lišejníkovém ekosystému (Tagirdzhanova et al., 2021; Tuovinen et al., 2021; Da Silva et al., 2022).

3.1. Rozšíření kvasinek v lišejníkové stélce

Kvasinky mimo háčku ničím nenaznačují svou přítomnost. Bývají (až na jedinou známou výjimku; Obr. 3) skryté uvnitř lišejníkové stélky a světelnou mikroskopií jsou obtížně rozeznatelné od okolních buněk, což také může být jedním z důvodů, proč byly tak dlouho přehlíženy (Spribille et al., 2016). Ve stélce jsou rozmístěny nerovnoměrně. V některých částech lišejníkové stélky se vyskytují ve vyšších počtech, v jiných naopak nižších (Spribille et al., 2016; Kachalkin et al., 2017; Tuovinen et al., 2019; Černajová & Škaloud, 2019). Větší množství kvasinkových buněk bývá ve zmiňovaných háčkách. Kvasinky zobrazené metodou FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) týmem Spribille et al. (2016) se vyskytovaly ve svrchní kůře v kompaktní směsi houbových vláken a mezibuněčných látek. V práci



Obr. 3: Vlákno lišejníku *Bryoria capillaris*, vpravo snímek vytvořený metodou FISH zachycující vrstvu kvasinkových buněk; Zeleně buňky kvasinek, modře mykobiont, červeně fotobiont (Spribille et al., 2016)

Spribille et al. (2020) autoři uvádějí, že lišejníková kůra je velmi důležitá pro komunikaci mezi organismy v rámci lišejníkové stélky a zavádějí pro ni termín “extracellular interaction matrix” (mezibuněčná interakční matrice), který klade důraz na vztahy mezi organismy v korové vrstvě lišejníku. Kvasinky byly tímto způsobem zobrazeny ve více druzích keříčkovitých lišejníků (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019, 2021). Jejich přítomnost byla dále potvrzena i ze zástupců lišejníků, kteří kůru nemají (Černajová & Škaloud, 2019).

U druhu *Bryoria capillaris* byla metodou FISH v korové vrstvě lišejníku zobrazena celá vrstva kvasinek z řádu Cyphobasidiales (Obr. 3; Spribille et al., 2016).

3.2. Diverzita kvasinek v lišejnících

Diverzita basidiomycetních kvasinek není prozatím dostatečně prostudována. Na to poukazuje skutečnost, že mezi lety 1998 a 2011 se převážně díky rozšíření molekulárních metod více než zdvojnásobil počet známých druhů náležejících do této skupiny (Li et al., 2020) a v nedávno vydané práci autoři popsali dalších 107 druhů těchto kvasinek ze vzorků vegetace a půd (Li et al., 2020). Nezanedbatelnou část diverzity této skupiny tvoří heterobasidiomycetní houby z lišejníků (Diederich, 1996). Tyto houby byly v lišejnících víceméně přehlíženy až do druhé poloviny dvacátého století (Millanes et al., 2021). V práci Diederich (1996) bylo z hálek popsáno 41 nových druhů lichenikolních heterobasidiomycetních hub. Mezi ně patřily např. rody *Biatoropsis*, *Chionosphaera*, *Cystobasidium*, *Syzygospora* a *Tremella*. Většina těchto hub je schopna přecházet mezi hyfální a kvasinkovou formou a často bývají velmi obtížně kultivovatelné (Millanes et al., 2021). Předchozí kapitola se věnovala objevu široce rozšířených kvasinkových forem, patřících převážně do rodů *Cyphobasidium* a *Tremella*. Velká část popsanych zástupců zatím není řazena do druhů, ale do vyšších taxonomických jednotek. V následujících odstavcích krátce představím významné a nejčastěji zastoupené taxony.

Řád Cyphobasidiales patří do třídy Cystobasidiomycetes (Pucciniomycotina) (Bauer et al., 2006) ve které je jako jediný lichenikolní a na rozdíl od řádu Cystobasidiales u něj nebyly popsány haustoria (Diederich, 1996; Millanes et al., 2016). Jak již bylo uvedeno výše, autoři práce Spribille et al. (2016) popsali výskyt těchto hub i mimo háčky v kvasinkové formě z mnoha druhů lišejníků, převážně z čeledi Parmeliaceae. Řád Cyphobasidiales má pouze dva popsané druhy: *Cyphobasidium hypogymniicola* a *C. usneicola* (Millanes et al., 2016). Nedávno byly sekvenací objeveny další, které zatím nebyly popsány (Spribille et al., 2016; Černajová & Škaloud, 2019). Dále je nejen z lišejníků zaznamenáno velké množství zástupců, kteří patří do třídy Cystobasidiomycetes (Li et al., 2020).

Mezi ně patří i zástupci z čeledi Microsporomycetaceae (Wang et al., 2015). Černajová & Škaloud (2019) popsali diverzitu těchto kvasinek z lišejníků rodu *Cladonia* a ve stejné práci autoři pojmenovali nový rod *Lichenozyma*, který obsahuje zástupce rodu *Microsporomyces* s vazbou na rod *Cladonia*. Vyčlenění tohoto rodu ale není jednoznačně podpořeno. Někteří další autoři s vyčleněním souhlasí (Diederich et al., 2022), jiní autoři na základě několika markerových analýz nepovažují vyčlenění za oprávněné (Li et al., 2020; Nguyen et al., 2023).

Lišejníkové kvasinky řádu Tremellales (Tremellomycetes, Agaricomycotina) byly stejně jako ty z řádu Cyphobasidiales původně v lišejnících popisovány z hálek, kde se vyskytují v hyfální formě. Kromě symbiontů lišejníků mohou být zástupci této skupiny také saprotrofové, parazité zvířat nebo hub. Jejich

diverzita ale není zcela prozkoumaná a fylogenetické vztahy v rámci této třídy nejsou dostatečně podpořené (Millanes et al., 2011). Jedním z často v lišejnících zaznamenaných kvasinkových rodů je *Cryptococcus* (Tremellales, Cryptococcaceae) (Duarte et al., 2013, 2016). Někteří zástupci tohoto rodu napadají člověka (Negroni, 2012; Maziarz & Perfect, 2016). U žádných nebyla zaznamenána tvorba hálek (Diederich et al., 2022). Recentně publikovaná data popisují výskyt kvasinek tříd Cystobasidiomycetes a Tremellomycetes přibližně ve dvou třetinách lišejníkových metagenomů (Tagirdzhanova et al., 2023).

Z lišejníků byl dále izolován rod *Rhodotorula* ze třídy Microbotryomycetes, která zahrnuje pět řádů, z nichž tři jsou tvořeny převážně rostlinnými nebo houbovými parazity. Rod *Rhodotorula* je známý i jako lidský patogen (*R. glutinis*, *R. mucilaginosa*) (Zaas et al., 2003). Třída Microbotryomycetes obsahuje jednoho zástupce, který podobně jako zástupci rodů *Tremella* nebo *Cyphobasidium* tvoří hálky, *Kriegeriopsis livingstonensis*, ale kvasinková forma u něj nebyla zaznamenána (Diederich et al., 2022).

3.3. Specificita vazby k hostitelům

Jak již bylo zmíněno v úvodní kapitole, mezi hlavními účastníky lišejníkové symbiózy může být různá míra specifity (Kapitola 2.2). Někteří mykobionti například vytváří stélku pouze s jedním druhem fotobionta, jiní mohou být generalisty a vstupovat do symbiózy s různými zástupci řas (Piercey-Normore & DePriest, 2001; Yahr et al., 2004; O'Brien et al., 2013; Leavitt et al., 2015). Basidiomycetní kvasinky jsou podle výsledků recentně publikované studie v lišejnících široce rozšířené (Tagirdzhanova et al., 2023). Míra specifity mezi lišejníky a těmito houbami v kvasinkové formě je jedním z častých témat prací, které se basidiomycetními kvasinkami z lišejníků zabývají.

Podle autorů práce Spribille et al. (2016), kteří porovnávali genotypy kvasinek třídy Cystobasidiomycetes z lišejníků *Bryoria fremontii* a *Letharia vulpina* sebraných v USA a Evropě, mají kvasinky významnou specifitu k primárním mykobiontům, srovnatelnou s vazbou fotobiontů, a to i na velké vzdálenosti. V severoamerických a evropských stélkách lišejníku *Letharia vulpina* bylo zkoumáno rozšíření dvou druhů kvasinek rodu *Tremella* (Tuovinen et al., 2019). Druh *Tremella lethariae* byl nalezen ve všech vzorcích odebraných v USA a pouze ve čtvrtině evropských. Druhý, nezařazený druh rodu *Tremella* byl přítomný v 84 % evropských vzorků a méně než 15 % vzorků severoamerických. V Evropě sběr vzorků proběhl ve dvou oblastech. První zasahovala na sever Itálie a do Švýcarska, druhá byla ve Švédsku. Ve Švédsku na rozdíl od Švýcarska a Itálie byl druh *Tremella lethariae* zastoupený velmi málo a v 17 % vzorků tam rod *Tremella* nebyl vůbec zachycen. Dále byla pozorována vazba mezi kvasinkami čeledi Microsporomycetaceae a lišejníky rodu *Cladonia* (Černajová & Škaloud, 2019). Ve studii Černajová & Škaloud (2019) autoři zkoumali diverzitu basidiomycetních kvasinek v rodu *Cladonia* za pomoci primerů pro amplifikaci ITS oblasti kvasinek třídy Cystobasidiomycetes (Spribille et al., 2016). Ze 104 vzorků bylo získáno 56 ITS sekvencí, z čehož 43

bylo přiřazeno k čeledi Microsporomycetaceae. Na specifitu poukazují výsledky práce Spribille et al. (2016), kde dva ze tří zkoumaných zástupců lišejníku *Cladonia* také obsahovali kvasinky čeledi Microsporomycetaceae a práce Nguyen et al. (2023), ve které autoři izolovali zástupce této čeledi v osmi z patnácti stélek lišejníku *Cladonia rei* a našli ITS sekvence čeledi Microsporomycetaceae pomocí metody metabarcodingu v šesti ze sedmi vzorků získaných ze stélek stejného druhu lišejníku. V práci Černajová & Škaloud (2020) naproti tomu autoři došli k odlišným závěrům ohledně specifity vztahu mezi primárním mykobiontem a asociovanými kvasinkami a popisují zaznamenané kvasinky spíše jako generalisty. Tři izoláty vzdálených linií kvasinek ze třídy Cystobasidiomycetes byly získány z jedné stélky lišejníku rodu *Cladonia*. Podobné výsledky přinesla práce Mark et al. (2020), která studovala diverzitu kvasinek v pěti druzích lišejníků: *Hypogymnia physodes*, *Hypogymnia tubulosa*, *Lecanora pulicaris*, *Parmelia sulcata*, *Physcia adscendens* a *Pseudevernia furfuracea*. Častější zástupci kvasinek třídy Cystobasidiomycetes, tedy ti, jejichž výskyt potvrdili alespoň z pěti vzorků, měli v porovnání s pozorovanými fotobionty nižší specifitu vazby, jelikož se vyskytovali v různých druzích lišejníků. Autoři práce Mark et al. (2020) dále zjistili, že ve vzorcích z Estonska a Švýcarska se vyskytovaly rozdílné druhy kvasinek. Některé kvasinky byly nalezeny převážně v Estonsku, jiné naopak ve Švýcarsku.

Specifita kvasinek vůči lišejníkům byla zkoumána také v práci Tagirdzhanova et al. (2021). Ke každému ze 32 vzorků lišejníků rodu *Alectoria* z jihozápadní Kanady sebrali autoři druhý, náhodný lišejník jiného rodu z blízkého okolí a vzorky zvláště osekvenovali za využití primerů vyvinutých pro amplifikaci ITS oblasti kvasinek *Cyphobasidium* a *Tremella*. Ve všech 32 stélkách rodu *Alectoria* byl alespoň jeden ze dvou zmíněných kvasinkových rodů, přičemž ve většině byly rody oba. Získané ITS sekvence rodu *Cyphobasidium* byly rozřazeny do dvou hlavních fylogenetických linií. Jedna byla ze vzorků získaných z lišejníku rodu *Alectoria* a sekvencí rodu *Cyphobasidium* z lišejníků rodu *Bryoria*, které jsou rodu *Alectoria* blíže příbuzné. Druhou skupinu tvořily převážně ITS sekvence rodu *Cyphobasidium* z jiných druhů lišejníků, které byly sbírány z blízkosti rodu *Alectoria*. Jinými slovy tyto výsledky naznačují, že existuje linie kvasinek rodu *Cyphobasidium*, která má určitou vazbu na lišejníky příbuzných rodů *Alectoria* a *Bryoria*. Některé kvasinkové sekvence z lišejníku *Alectoria* ale spadaly do druhé linie, kterou tvořily kvasinkové sekvence získané z jiných druhů lišejníků, takže se vazba nezdá být výlučná. Kvasinky rodu *Tremella* z lišejníku rodu *Alectoria* vazbu s kvasinkami z lišejníku rodu *Bryoria* nevykazovaly. Polovina jich tvořila jednu skupinu, druhá skupina obsahovala jak kvasinky rodu *Tremella* z lišejníku rodu *Alectoria*, tak kvasinky stejného rodu z lišejníků, které se vyskytují v blízkém okolí lišejníků rodu *Alectoria*.

Basidiomycetní kvasinky studované na Antarktidě nevykazují vůči lišejníkům vysokou míru specifity. Kvasinky byly kultivovány ze vzorků lišejníků, makroskopických řas (Duarte et al., 2016), cévnatých i bezcévných rostlin (Vasileva-Tonkova et al., 2014), živočichů i z půd (Duarte et al., 2013). Basidiomycetní kvasinky rodu *Cryptococcus* a *Rhodotorula* které byly zaznamenány nejčastěji se

vyskytovaly jak v lišejnících, tak v dalších substrátech. Kvasinka *Rhodotorula mucilaginosa* byla kromě lišejníku kultivována i ze vzorku ze salpy, mořské ježovky, řasy a dalších substrátů. Druh *Cryptococcus victoriae* se podařilo získat v sedmi kulturách, z toho pouze dvě ze vzorku lišejníku (Duarte et al., 2013). Oba tyto druhy byly ale získány z lišejníků mnohem častěji, než další druhy kvasinek (Duarte et al., 2016).

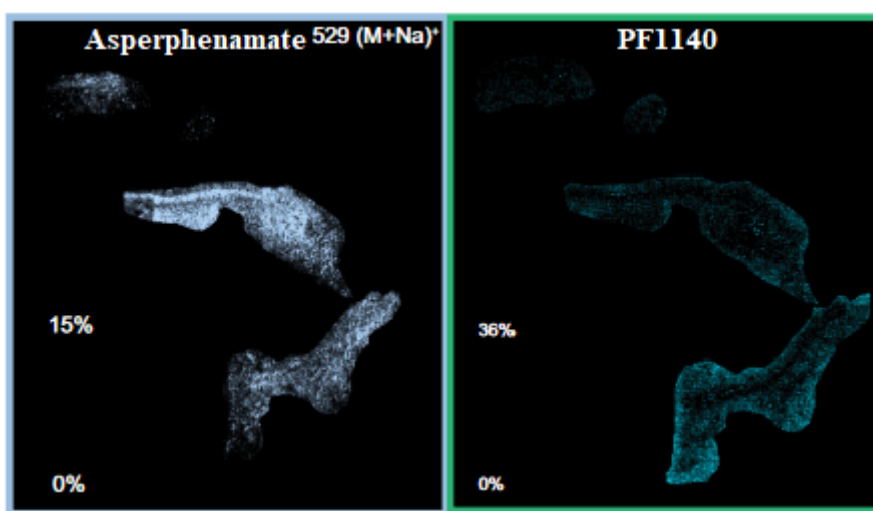
Tvorbu hálek mají dosud popsané druhy basidiomycetních kvasinek obvykle úzce vázanou k jednomu hostiteli (Diederich et al., 2022). Souvislostí výskytu kvasinek s přítomností hálek se ale žádná z prací o specifitě kvasinek hlouběji nezabývá.

3.4. Příspěvky kvasinek do symbiózy

O mutualistických vztazích kvasinek se donedávna hovořilo převážně v kontextu symbióz s hmyzem. Byly ale zmiňovány i kvasinky obývající povrch vegetace, které nejspíš využívají živiny z listové plochy a znesnadňují zároveň růst některých patogenů rostlin, nebo vývoj larev herbivorů. Jiné kvasinky naproti tomu mohou růst houbových patogenů rostlin podporovat (Starmer & Lachance, 2011).

Autoři práce Spribille et al. (2016) uváděli, že by kvasinky mohly přispívat k tvorbě extracelulární interakční matrice, ve které byly pozorovány ve vyšších počtech, a účastnit se směnného obchodu mezi primárními i dalšími sekundárními symbionty (např. bakteriemi) přítomnými v tomto prostoru. Řasa do mezibuněčného prostoru vylučuje cukerné alkoholy a primární mykobiont zajišťuje strukturu stélky a produkci sekundárních metabolitů. Podle autorů by mohly popsané kvasinky podobně jako primární mykobiont produkovat mimobuněčné polymery – polysacharidy – které slouží mimo jiné jako plnivo mezibuněčného prostoru a jsou proto důležitou součástí struktury lišejníkové stélky (Spribille et al., 2020). Dále by do tohoto společenství mohly přispívat látkami, které ani jeden ze základních partnerů nedokáže (efektivně) vytvářet (Spribille et al., 2016). Takovými látkami by mohly být právě sekundární metabolity, jako např. kyselina vulpinová v případě druhu *Bryoria fremontii* (Spribille et al., 2016). V této kapitole představím několik prací, které moderními metodami přispívají k vysvětlení této otázky.

Výzkum složení a rozmístění látek metodou MALDI-IMS hmotnostní spektrometrie v případě druhu *Peltigera hymenina* objevil dvě obranné molekuly, které bývají produkované houbovými organismy: asperfenamát a alkaloid pyridion (PF1140), přičemž kultivací bylo potvrzeno, že pyridion opravdu tvořil houbový organismus. Z textu bohužel není jasné jak. Obě látky dále měly jinou oblast rozšíření v lišejníkové stélce. Pyridion měl vyšší koncentraci v povrchových částech a asperfenamát byl spíše ve vnitřních oblastech stélky (Garg et al., 2016). To by mohlo znamenat, že tyto látky nejsou syntetizovány dominantní houbou, nýbrž jinými houbovými organismy, které obývají stélku v nižších počtech, jako například kvasinky nebo bakterie. Asperfenamát a pyridion mají antimikrobiální účinky a brání patogenům v napadnutí lišejníku, čímž zvyšují jeho obranyschopnost. Podle autorů studie tento fenomén ve spoustě ohledech připomíná obranné strategie mnohobuněčných organismů (Garg et al., 2016).



Obr. 4: Rozmístění molekul Asperphenamate a PF1140 ve stélce *Peltigera hymenina* zobrazeno metodou MALDI-IMS (Garg et al., 2016)

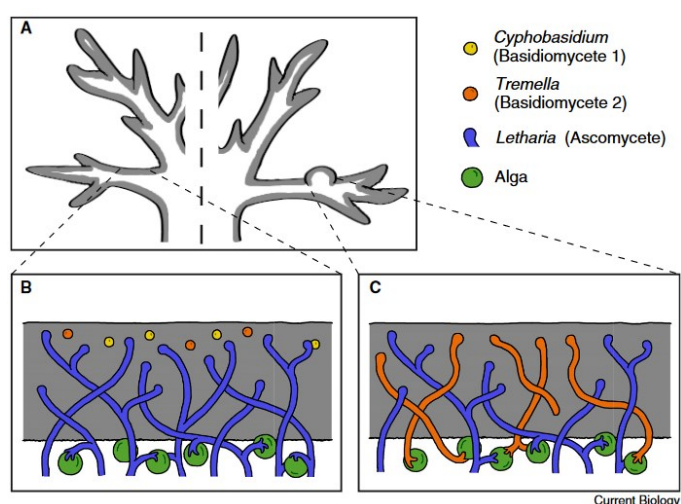
S výskytem asperfenamátu částečně souvisel také výskyt molekul z rodiny seskviterpenních laktonů, čemuž napovídala podobnost spektra některých objevených látek s alantolaktonem a jeho analogy, kteří do rodiny seskviterpenních laktonů patří. Tyto látky byly v lišejnících zaznamenány poprvé (Garg et al., 2016). V jiných organismech fungují jako látky inhibující buněčný růst s antimikrobiálními a protirakovinnými vlastnostmi (Konishi et al., 2002; Rasul et al., 2013). Autoři vzhledem k jejich umístění v lišejníku navrhuje, že by mohly být tvořeny sekundárními houbovými symbionty. Tyto molekuly ale byly zaznamenány pouze ve vzorku lišejníku *Peltigera hymenina* a nikoliv ve vypěstovaných kulturách (Garg et al., 2016).

V práci Targidzhanova et al. (2021) autoři studovali genomy kvasinek rodu *Tremella* a *Cyphobasidium* získané metagenomovou analýzou lišejníku *Alectoria sarmentosa*. Autoři z genomů kvasinek odvozovali, jaké látky jsou schopny syntetizovat a vylučovat do extracelulárního prostoru – stanovovali tzv. sekretom. Ten porovnávali s genomem primárního houbového symbionta, aby zjistili, čím přesně kvasinky do symbiózy mohou přispívat. Genomy obou kvasinek v této studii obsahují geny kódující α -

1,6-mannany, což jsou polysacharidy, které jsou jedním ze stavebních kamenů mezibuněčné matrice lišejníku a utváří lišejníkovou stélku. Primární mykobiont ale tyto látky může syntetizovat také a autoři v této práci nezkoumali, do jaké míry se kvasinky na stavbě mezibuněčné hmoty podílejí. Nebylo prokázáno ani to, že by se kvasinky podílely na tvorbě sekundárních metabolitů. Z výsledků je naopak patrné, že primární mykobiont kóduje více genů pro sekundární metabolity než kvasinky.

Zajímavým zjištěním obsaženým ve stejné práci je, že kvasinky by mohly zvyšovat příjem fosforu. Genomy kvasinek totiž obsahují více genů pro takzvané phosphorous-scavenging enzymy než primární mykobiont. V genomu kvasinek z rodu *Tremella* byly nalezeny dva proteiny podobné histidin fosfatázám a v genomech rodů *Tremella* i *Cyphobasidium* jsou takzvané purple acid phosphatase-like proteiny (Tagirdzhanova et al., 2021). Tyto enzymy pomáhají se získáváním fosforu, jehož nedostatek by mohl růst lišejníku limitovat (Johansson et al., 2011). Jsou schopny hydrolyzy některých organických sloučenin, které ho obsahují a převádějí jej do anorganické formy, ve které je pro organismy lépe dostupný (Schachtman et al., 1998; Ezawa & Saito, 2018).

Přestože autoři v práci Tuovinen et al. (2019) pozorovali, že rod *Tremella* v hyfální formě obrůstá buňky fotobionta podobně jako primární mykobiont (Obr. 7), nebyl podán žádný přímý důkaz o komunikaci mezi kvasinkami a dalšími účastníky symbiomy. Obecně je signalizace mezi symbiotickými partnery v rámci lišejníkové stélky nedostatečně prostudována. K dispozici jsou ale např. informace o vlivu fytohormonů na primární symbionty nebo míra exprese genů pro syntézu přenašečů organických a anorganických látek, ze které lze odvozovat, jaké molekuly by si mezi sebou mohly jednotlivé komponenty lišejníku předávat (Pichler et al., 2023).



Obr. 5 Schéma porovnávající vztah kvasinek rodů *Tremella* (oranžově) a *Cyphobasidium* (žlutě) s mykobiontem (modře) a řasou (zeleně) ve vzorku z lišejníkové stélky a z hálky (Jenkins & Richards, 2019)

4. Metody studia diverzity a funkce kvasinek v lišejnících

Od prvního pozorování souvislosti mezi výskytem kvasinek a fenotypem lišejníku se stalo téma výskytu a role kvasinek v lišejnících námětem více než deseti dalších publikací (např. Lendemer et al., 2019; Tuovinen et al., 2019; Černajová & Škaloud, 2019; Mark et al., 2020; Smith et al., 2020; Tagirdzhanova et al., 2021). V nich autoři používali pro studium kvasinek rozdílné metody a jejich výsledky mohou proto být obtížně srovnatelné. Některé z těchto metod byly použity ke studiu lišejníků poprvé (např. skládání genomů z lišejníkového metagenomu; Tagirdzhanova et al., 2021). Proto považují za důležité tyto metody stručně představit a popsat jejich výhody a možná omezení.

Výzkum basidiomycetních kvasinek v lišejnících lze rozdělit na dva základní tematické okruhy: jednak mapování jejich výskytu a míry specificity vůči hostitelům a dále na zkoumání jejich role v symbióze. Přestože spolu obě oblasti studia do určité míry souvisí a z výsledků v jednom okruhu se dají odvozovat závěry i pro oblast druhou, metody pro jejich zkoumání se zásadně liší.

Přítomnost kvasinek je možné odhalit např. kultivačními postupy na vhodném médiu či pomocí různých sekvenačních metod. Pro vizualizaci kvasinek uvnitř lišejníkové stélky byla úspěšně použita transmisní elektronová mikroskopie (Grube & Ríos, 2001) a metoda FISH ve spojení s konfokální mikroskopií (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019). Dále byla využita metoda vizualizace kvasinek spojené s IMS (imaging mass spectrometry) (Garg et al., 2016). Fyziologie a genová exprese kvasinkových symbiontů jsou predikovány z genomů poskládaných z metagenomů (Tagirdzhanova et al., 2021, 2023).

4.1. Kultivace kvasinek

Pěstování kultur je jednoduchou a levnou metodou, kterou lze prokázat přítomnost různých mikroorganismů ve vzorku a popsat jejich diverzitu. V pracích zabývajících se studiem kvasinek v lišejnících používají autoři obvykle pro kultivaci média, která slouží k pěstování basidiomycetních kvasinek. Studované lišejníkové kvasinky totiž bývají z oddělení Basidiomycota, zatímco jejich hostitelé jsou vřekovýtrusné lichenizované houby. Selektivita zmíněných médií proto omezuje růst primárního mykobionta (pokud se jedná o vřekovýtrusou houbu) a zvyšuje tak šanci na zachycení basidiomycetních kvasinek. Ty však mohou být pěstovány i na běžných médiích pro pěstování kvasinek (glucose yeast peptone agar, Kachalkin et al., 2017).

Média obvykle užívaná pro pěstování basidiomycetních kvasinek jsou malt-yeast agar, Sabouraudův 2% agar a Boldovo bazální médium obohacené 1 % glukózy (Černajová & Škaloud, 2019; Cometto et al., 2022) a případně další (Stocker-Wörgötter & Hager, 2008). Kultury, které na médiích vyrostou, jsou následně obvykle mikroskopovány a mohou být využity k popisu morfologie studovaných kvasinek. Pro přesné určení identity kvasinek mohou být kultury dále využity pro sekvenaci DNA. Pokud jsou cílem kultivace organismy z vnitřní kůry nebo dřene, je potřeba před očkováním do média stélky důkladně opláchnout, popřípadě svrchní kůru lišejníku odříznout a minimalizovat tak možnost kontaminace organismy z povrchu (Spribille et al., 2016; Černajová & Škaloud, 2019).

Nevýhodou této metody je, že nezaznamená nekultivovatelné organismy. Proto je dobré ji kombinovat s modernějšími metodami, které jsou popsány v následujících kapitolách.

4.1. Sekvenační metody

Sekvenování je termín zastřešující mnoho metod, které umožňují určit organismy bez morfologického popisu na základě genetické informace. V této kapitole bych chtěl krátce představit ty, které byly

použity v pracích o basidiomycetních kvasinkách. Tradičně užívanou sekvenační metodou je Sangerovo sekvenování (Sanger et al., 1977), novější metody jsou soustředěny pod pojem Sekvenování nové generace (next generation sequencing; NGS). Tyto metody jsou využívány pro nejrůznější aplikace, např. celogenomové sekvenování, metabarkódování, sekvenování metagenomů nebo transkriptomika, a umožňují získat násobně větší množství dat než Sangerovo sekvenování. Osekvenovaný genom umožňuje použití různých dalších metod např. již zmíněnou FISH, nebo z něj lze po anotaci odhadovat role organismu v systému.

Sangerovo sekvenování je jednou z možností studia diverzity basidiomycetních kvasinek. K určení a zařazení houbových organismů do rodu bývají používány krátké úseky genomu, např. tzv. internal transcribed spacer (ITS oblast; Schoch et al., 2012; Fernández-Mendoza et al., 2017; Banchi et al., 2018). K získání dostatečného množství DNA pro Sangerovo sekvenování se dají využít primery, které zajistí selektivní PCR amplifikaci. Díky nim se mnohonásobně zvýší množství kvasinkové DNA ve studovaném vzorku. Pro zástupce Cystobasidiomycetes byly vyvinuty specifické primery, např. ITS_symrho_1F a LR0_symrho_R (Spribille et al., 2016). Pro Tremellales jich bylo vytvořeno více, např. BasidLSU3-3 (a další v Millanes et al., 2011) nebo ITS1Tm1F (a další v Tuovinen et al., 2019). Tyto primery byly úspěšně použity v několika dalších pracích, které se kvasinkami v lišejnících zabývají (Černajová & Škaloud, 2019, 2020; Mark et al., 2020; Tagirdzhanova et al., 2021; Cometto et al., 2022; Nguyen et al., 2023). Čisté kultury mají tu výhodu, že je v nich dostatečné množství materiálu a výsledky sekvenování nejsou ovlivněny přítomností jiných kontaminujících sekvencí. U kvasinek, které není možné pěstovat *in vitro*, lze PCR amplifikaci provést i na vzorku získaném přímo ze stélky. Pokud je takových kvasinek ve stélce méně a specifické primery pro ně nebyly vyvinuty, Sangerovou metodou jsou obtížně zaznamenatelné a je potřeba využít metody NGS.

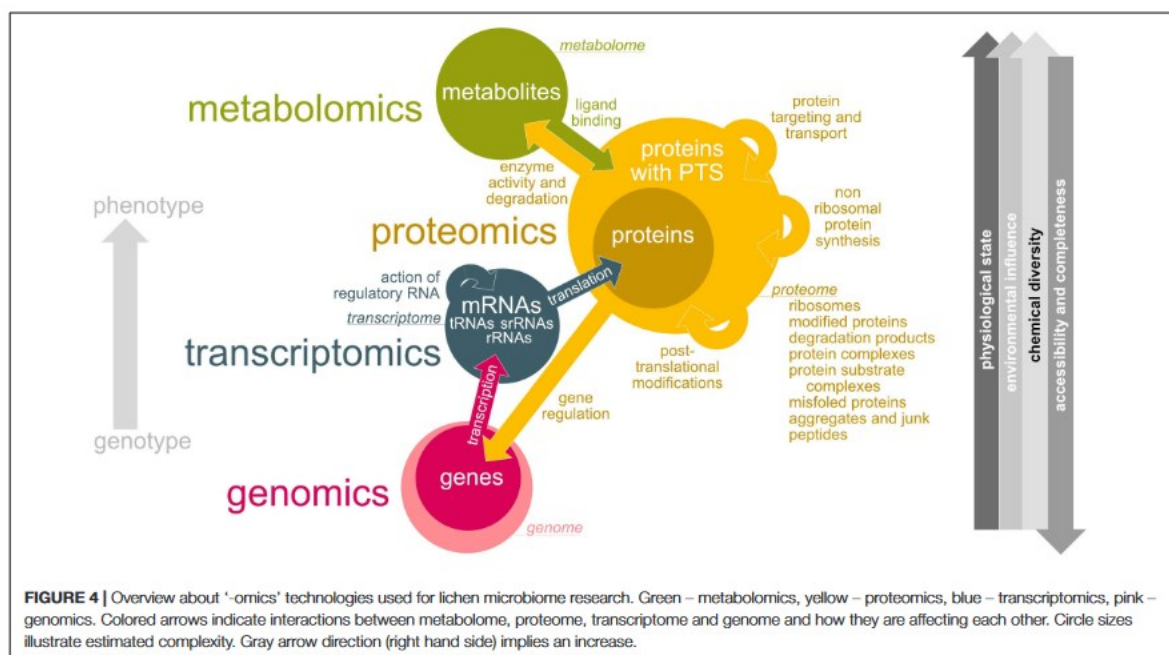
Hojně používanou metodou využívající NGS technologie je metabarkódování (metabarcoding), které umožňuje popsat diversitu organismů v rámci stélky (či jakéhokoliv jiného prostředí) (Fernández-Mendoza et al., 2017; Nguyen et al., 2023). Při této metodě se amplifikuje a sekvenuje jeden krátký úsek DNA (v případě hub nejčastěji část ITS oblasti) z mnoha organismů souběžně. Dále bývá pro studium kvasinek v lišejnících využíváno např. celogenomové sekvenování, které umožňuje složit celý genom jednoho nebo více organismů najednou (metagenomika) na základě překryvů osekvenovaných fragmentů (Garg et al., 2016; Lendemmer et al., 2019; Tuovinen et al., 2019; Smith et al., 2020; Tagirdzhanova et al., 2021, 2023).

Výsledkům sekvenace genomů se přiřazují dvě významné hodnoty, jejichž pochopení je zásadní pro interpretaci výsledků některých prací zabývajících se lišejníkovými kvasinkami: tzv. pokrytí (sequencing coverage) a hloubka (sequencing depth). Hodnota pokrytí popisuje, jak velká část sekvenovaného genomu byla z krátkých úseků vstupní DNA pokryta a pohybuje se proto v rámci procent. Hloubka zjednodušeně popisuje, kolikrát byl genom z krátkých úseků poskládán, nebo také jak

moc se krátké úseky patřící k jednomu genomu překrývaly. Tyto hodnoty jsou jedněmi z ukazatelů věrohodnosti nalezených genomů a bývají závislé na množství DNA ve vstupním vzorku. Pokud má nějaký organismus např. v analyzovaném metagenomu dostatečně pokrytý genom, tak lze usuzovat, že se v původním vzorku vyskytoval.

Množství zaznamenaných genomů v metagenomu souvisí s hloubkou sekvenování, kterou lze zlepšit např. specifickou přípravou vzorku. Metagenom získaný z opláchnuté, protřepané a centrifugované stélky měl ve studii Tagirdzhanova et al. (2021) násobně větší pokrytí genomů basidiomycetních kvasinek než metagenom ze vzorku, který byl pouze rozemletý. Metagenomy s větší hloubkou sekvenování zaznamenají nejen více basidiomycetních kvasinek ale i druhů obecně (Tagirdzhanova et al., 2023).

Po sekvenování je třeba získané informace dále analyzovat. Metody analýzy jsou detailně popsány například v práci týmu Grimm et al. (2021), která se sice zaměřuje na metody pro studium bakterií, ale principy pro použití těchto metod na studium kvasinek stejně jako jejich omezení jsou v zásadě podobné. Jednou z takových metod je predikce funkce kvasinek na základě proteinů zakódovaných v jejich genomu. Na tom jsou založeny práce Garg et al. (2016) a Tagirdzhanova et al. (2021 a 2023).



Obr. 6: Přehled metod používaných pro studium lišejníkových mikrobiomů a vztahů mezi nimi. (Grimm et al., 2021)

Pro predikci funkce genů v genomu, ale i studování jejich aktivity pomocí transkriptomiky, je třeba nejdříve mít k dispozici anotovaný genom. Anotace genomu spočívá zjednodušeně v tom, že se studovaná sekvence DNA porovná s databází genů a hledají se v ní na základě podobnosti již popsané geny (Yandell & Ence, 2012). U anotovaného genomu jsou tak k dispozici informace, jaké geny obsahuje a například které proteiny má potenciál organismus vytvářet a vylučovat do prostředí. Transkriptom je soubor RNA ve vzorku a získává se sekvenováním cDNA – komplementární DNA. Ta

vzniká reverzní transkripci RNA enzymy reverzní transkriptázy. Obsahuje pouze produkty aktivních genů a ověřuje, které geny jsou skutečně přepisovány do RNA (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019).

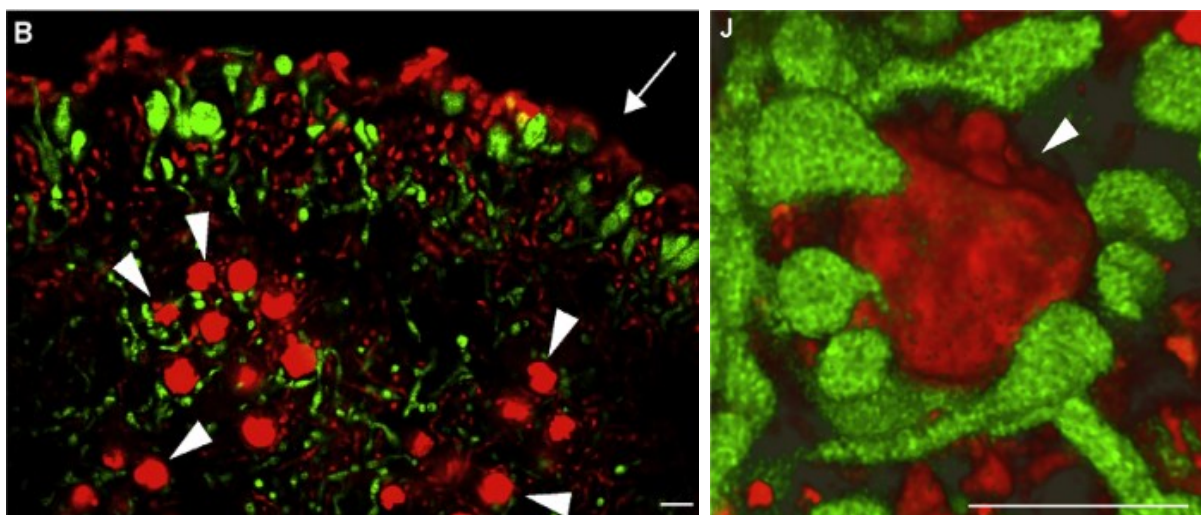
Z informací v anotovaném genomu a transkriptomu lze usuzovat, jakými produkty mohou basidiomycetní kvasinky do symbiomy přispívat, které vylučují do mezibuněčného prostředí a jaké látky jsou schopné metabolizovat (Tagirdzhanova et al., 2021, 2023).

4.2. Vizualizace kvasinek

Jak již bylo uvedeno výše v textu, kvasinky jsou světelnou mikroskopií velmi obtížně rozeznatelné od okolních buněk lišejníkové stélky. Jednou z možností, kterou se dá spolehlivě sledovat prostorové uspořádání těchto symbiontů ve stélce, je fluorescenční barvení. To při použití správných fluorescenčních sond umožňuje odlišit jednotlivé skupiny organismů v lišejníku. Obarvené buňky je možné sledovat např. v konfokálním mikroskopu, který umožňuje zobrazit jejich rozmístění v rámci stélky. Znalost lokalizace kvasinek v lišejníkové stélce je důležitá, protože umožňuje odebrat tu část stélky s vyšším množstvím kvasinkových buněk pro jejich snadnější detekci molekulárními metodami. Dále lze ze vzájemného rozmístění symbiotických partnerů usuzovat, jakou mají tyto organismy ve stélce roli a jakým způsobem mezi sebou interagují.

Před barvením kvasinek je nejprve nutné rozrušit kompaktní strukturu stélky, ve které se vyskytují, aby mohlo dojít k označení fluorescenčními sondami. Zajímavostí je, že k rozrušení této odolné struktury byl použit naředěný prací prášek (Spribille et al., 2016). Na fluorescenční označení kvasinek rodu *Cystobasidiomyces* byly použity dvě sondy vázající se na 18S oblast sekundárních ribosomálních struktur: Cb_LvTp_18S2 a Cb_Lv_18S6 s navázanou barvou fluorescein amidit (FAM) nebo cyaninem CY3 (Spribille et al., 2016) a pro rod *Tremella* byla použita sonda Tm28S1, která se váže na 28S rRNA (Tuovinen et al., 2019). Tyto sondy byly vytvořeny tak, aby se vázaly specificky na výše zmíněné kvasinky, a ne na jiné komponenty lišejníku (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019).

Zmíněné sondy se neváží na buněčnou stěnu, takže jimi není možné popsat detaily rozhraní mezi kvasinkami a primárními symbionty. V práci Tuovinen et al. (2021), která se snažila o přesný popis struktur mezi kvasinkami a buňkami fotobionta, byla použita látka, která se váže na chitin a celulózu a je používána na barvení buněčných stěn rostlin a hub, tzv. calcifluor white (Harrington & Raper, 1968). Tato látka se ale na buňky rodu *Tremella* nenavázala a detaily struktur proto nebyly pozorovatelné.



Obr. 7 Vizualizace kvasinek v hálce; Kvasinka *Tremella lethariae* (zeleně), primární mykobiont *Letharia vulpina* (červená vlákna) a fotobiont (červeně, některé označené šipkou) zobrazení metodou FISH; B – podobnost kontaktu hyf kvasinky *Tremella lethariae* a hyf primárního mykobionta *Letharia vulpina* s řasou; Šípka vpravo nahoře označuje autofluorescenci svrchní vrstvy hálky J – Detail kontaktu *Tremella lethariae* (zelená vlákna) s řasou (červená, označena šipkou) (Tuovinen et al. 2019)

Další možností vizualizace kvasinek ze stélky je elektronová mikroskopie. Transmisní elektronová mikroskopie byla pro pozorování kvasinkových buněk přímo z hálky použita v práci Grube & Ríos (2001).

4.3. Hmotnostní spektrometrie

Pro studium sekundárních lišejníkových symbiontů byla také použita metoda zobrazující hmotnostní spektrometrie: MALDI-IMS (matrix assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry) (Garg et al., 2016). Touto metodou lze na základě podobnosti hmotnostního spektra identifikovat malé molekuly a sledovat jejich umístění v rámci stélky (Stoeckli et al., 2001). Při kombinaci s vizualizačními metodami je možné výsledky porovnat s lokalizací symbiontů uvnitř stélky. Z těchto informací lze následně odvozovat původ těchto molekul a jejich význam pro lišejník (Garg et al., 2016).

Interpretace výsledků hmotnostní spektrometrie může být náročná (např. Aftab et al., 2022). V lišejníkové stélce je větší množství organismů a není možné v takovém smíšeném vzorku jednoznačně určit, který z nich studovanou látku vytváří. Proto je nutné výsledky kontrolovat na vypěstovaných čistých kulturách, přičemž znovu nastává problém s kultivací kvasinek (kapitola 4.1). Analýzou genomu lze dále potvrdit, že organismus má potenciál danou látku vytvářet.

5. Kritické zhodnocení dosud publikované literatury

Názory jednotlivých autorů na symbiotický vztah kvasinek a lišejníků se různí. Pohybují se od mutualismu přes komensalismus až k parazitismu. Tyto názory jsou z velké části založeny na hypotézách, pro které chybí jednoznačné důkazy.

Bez použití vhodných metod není přítomnost kvasinek ve stélce zřejmá. Proto je potřeba interpretovat výsledky v kontextu metod použitých pro jejich získání a vyvozovat závěry až po kritickém zhodnocení prací zabývajících se tímto tématem.

5.1. Rozpory ve výsledcích studií

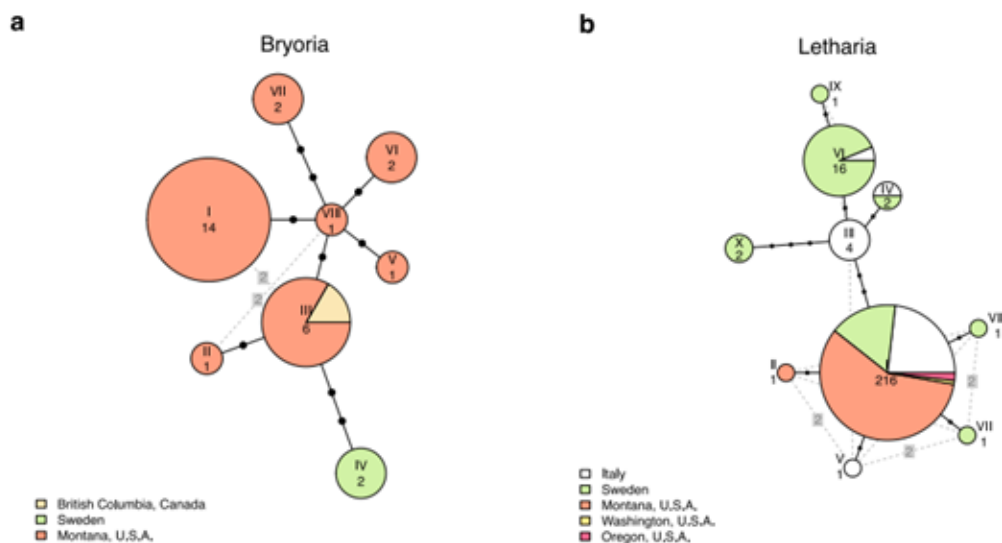
V kapitole 4 již bylo zmíněno, jaké metody byly používány při určování diverzity kvasinek v lišejnících a co tuto práci znesnadňuje. Metody zkoumání jsou v pracích jednotlivých autorů rozdílné, a to se do určité míry pravděpodobně odráží ve výsledcích. Některé práce potvrdily basidiomycetní kvasinky ve většině zkoumaných lišejníků (Spribille et al., 2016; Černajová & Škaloud, 2019), v jiných bylo naopak jejich zastoupení velmi nízké (Fernández-Mendoza et al., 2017; Lendemer et al., 2019; Smith et al., 2020). Rozdíly ve výsledcích mezi různými pracemi byly pozorovány také při hodnocení toho, nakolik specifické jsou vazby kvasinek vůči jednotlivým druhům lišejníků.

Důležité faktory, které mají vliv na výsledky zkoumání diverzity kvasinek v lišejnících molekulárními metodami, jsou příprava vzorku, zvolená metoda sekvenování, výběr primerů pro PCR amplifikaci DNA a hloubka sekvenování. Při použití primerů (vyvinutých specificky pro amplifikaci lišejníkových stopkovýtrusných kvasinek), které byly publikovány v pracích Spribille et al. (2016) a Tuovinen et al. (2019), byly kvasinky pozorovány ve velkém množství vzorků (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019; Černajová & Škaloud, 2019; Mark et al., 2020). Naproti tomu v práci Smith et al. (2020), která studovala lišejníkové metagenomy, popisují autoři nález kvasinek pouze v pěti z 35 lišejníků a v práci týmu Lendemer et al. (2019) byla potvrzena přítomnost kvasinek pouze v devíti z 339 analyzovaných vzorků. Vzorky použité ke tvorbě analyzovaných metagenomů ale nebyly nijak upravené pro hledání organismů, které jsou v nižších počtech uvnitř stélky. Autoři v práci Tagirdzhanova et al. (2021) tvrdí, že množství získaných genomů z metagenomového vzorku koreluje s hloubkou sekvenování genomu primárního mykobiontia a že hloubka sekvenování genomů z práce týmu Lendemer et al. (2019) nebyla na zaznamenání sekundárních houbových symbiontů dostatečná. Na základě těchto informací i výsledků nejnovější práce Tagirdzhanova et al. (2023), která popisuje nález basidiomycetních kvasinek z většiny lišejníkových metagenomů, se zdá být pravděpodobnější, že přítomnost basidiomycetních kvasinek v lišejnících je běžná.

Pracím studujícím specifitu vazby kvasinek vůči konkrétnímu druhu nebo skupině lišejníků se věnuje kapitola 3.3. Některé studie popisují poměrně úzkou vazbu na určité zástupce lišejníků (Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019; Černajová & Škaloud, 2019; Tagirdzhanova et al., 2021), z výsledků dalších prací naopak vyplývá, že basidiomycetní kvasinky jsou spíše generalisty (Duarte et al., 2013, 2016; Vasileva-Tonkova et al., 2014; Mark et al., 2020). Autoři práce Spribille et al. (2016) tvrdí, že kvasinky ze skupiny Cyphobasidiales mají významnou specifitu k lišejníkům *Bryoria fremontii* a *Letharia vulpina* (Obr. 8). Při bližším pohledu ale specifita není na první pohled příliš patrná. Práce autorů Tuovinen et al. (2019) je zaměřená na dva druhy rodu *Tremella*: jeden s centrem rozšíření

v lišejnících *Letharia vulpina* z USA, druhý ve vzorcích stejného druhu z Evropy. Dále byla pozorována vazba jedné linie rodu *Cyphobasidium* vůči zástupcům rodů *Alectoria* a *Bryoria* (Tagirdzhanova et al., 2021) a možná vazba kvasinek čeledi Microsporomycetaceae na rod *Cladonia* (Černajová & Škaloud, 2019; Nguyen et al., 2023). Naopak z výsledků práce v Mark et al. (2020), vyplynulo, že rozšíření kvasinkových skupin v lišejnících *Hypogymnia physodes*, *Hypogymnia tubulosa*, *Lecanora pulicaris*, *Parmelia sulcata*, *Phycia adscendens* a *Pseudevernia furfuracea* je definováno spíše regionálně či abiotickými faktory (Tuovinen et al., 2019). Podobné výsledky jsou i z prací z Antarktidy (Duarte et al., 2013, 2016; Vasileva-Tonkova et al., 2014), ve kterých byly izolovány basidiomycetní kvasinky z lišejníků, jiné vegetace, z živočichů i půdy a většina z popsáných kvasinek se vyskytovala ve více z těchto substrátů, bez zřetelné selektivity vůči lišejníkům.

Z výše uvedeného vyplývá, že výsledky dosavadního studia specifity basidiomycetních kvasinek jsou značně variabilní. Na jedné straně stojí kvasinky popsané zatím pouze z lišejníků (Spribille et al., 2016; Černajová & Škaloud, 2019), na druhé kvasinky popsané z lišejníků i hojně z dalších substrátů (Duarte et al., 2013, 2016; Vasileva-Tonkova et al., 2014). Dat je ale k dispozici relativně málo. Významná míra specifity by se mohla u některých zástupců projevit během budoucího studia diverzity basidiomycetních kvasinek, ale zároveň je možné, že kvasinky, které aktuálně vykazují silnou specifitu k lišejníkovým symbiontům, budou v budoucnosti nalezeny i v dalších lišejnících, hostitelích nebo substrátech.



Obr. 8: Haplotypová síť kvasinek z lišejníků rodu *Bryoria* a *Letharia* z různých států; Římské číslice označují haplotypy, arabské značí, kolikrát byl haplotyp zaznamenán, barvou je znázorněno, ze kterých států vzorky pocházely (Spribille et al., 2016)

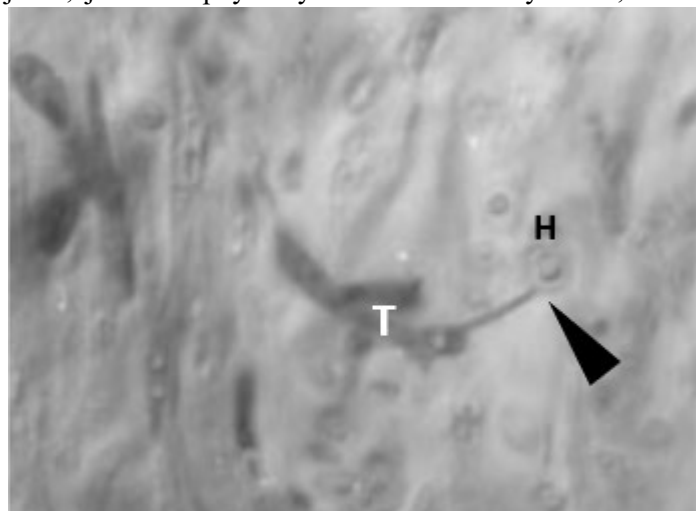
5.2. Podstata symbiotického vztahu kvasinek v rámci lišejníků

Po objevení korelace mezi výskytem kvasinek a kyseliny vulpinové ve svrchní kůře lišejníku rodu *Bryoria* byli autoři práce Spribille et al. (2016) přesvědčeni, že kvasinky hrají v symbióze důležitou roli. Neúspěšné pokusy o resyntézy lišejníků vysvětlovali tím, že by pro ně mohly být kvasinky nezbytné. Podstata přítomnosti kvasinek v lišejnících ale stále nebyla rozřešena.

Autoři spekulovali, že kvasinky mohou způsobovat produkci kyseliny vulpinové a dále se domnívali, že by kvasinky také mohly přispívat polysacharidy do korové vrstvy lišejníků (Spribille et al., 2016). V práci Tagirdzhanova et al. (2021) autoři zmiňují možnost, že by kvasinky mohly pomáhat s příjmem fosforu. Tvorba lišejníkových sekundárních metabolitů kvasinkami však nebyla prokázána v žádné později publikované práci a nebyla zatím podpořena ani hypotéza, že by kvasinky přispívaly ke tvorbě lišejníkové stélky (Spribille et al., 2020). V posledních pracích je kvasinkám připisován již pouze možný vliv na vodní režim lišejníků (Spribille et al., 2022) a autoři postupně přesouvají pozornost i k dalším sekundárním lišejníkovým symbiontům, kteří by do symbiózy mohli přispívat, (Spribille, 2018; Tagirdzhanova et al., 2023) a mezibuněčné interakční matici, kde pravděpodobně veškerá komunikace lišejníkových symbiontů probíhá (Spribille et al., 2020).

Lišejníky bezpochyby obsahují vysokou diverzitu houbových organismů (např. Santiago et al., 2015) a mezi nimi i basidiomycetní kvasinky (Spribille et al., 2016; Černajová & Škaloud, 2019; Da Silva et al., 2022; Tagirdzhanova et al., 2023). Ty by mohly využívat relativně stabilní prostředí lišejníkové stélky, podobně jako jiné kvasinkám podobné houby využívají povrch vegetace (Richardson et al., 1985). Stélka zajišťuje příznivé podmínky pro jejich nepohlavní rozmnožování v kvasinkové formě (Oberwinkler, 2017) a cukerné alkoholy, které lišejníky nejspíš používají mimo jiné pro přežití vysychání (Spribille et al., 2022). Po namočení jsou tyto látky totiž z buněk primárních symbiontů vymývány ven (Farrar, 1976b) a do prostor stélky, ve kterých k nim mají kvasinky a další mikroorganismy přístup. Některé bakterie stabilně obývající lišejníkovou stélku mají geny, které kódují proteiny využívané pro zpracování těchto látek (Tagirdzhanova et al., 2023) a jako substrát by mohly být využívány i kvasinkami (Černajová & Škaloud, 2020).

Někteří autoři se domnívají, že kvasinky nalézané v lišejnících jsou pouze propagule parazitů (Millanes et al., 2016; Oberwinkler, 2017) a že využívají prostředí lišejníkové stélky pouze k vegetativnímu rozmnožování (Oberwinkler, 2017). Kvasinky, které autoři studie Spribille et al. (2016) prezentovali jako dalšího potenciálního symbionta lišejníků, jsou schopny v hyfální formě tvorby hálek, které obsahují jejich basidia (Millanes et al., 2016). Popis rodu *Tremella* jako mykoparazita je založen na tvorbě haustorií, která mohou, ale nemusí penetrovat mykobionta (Grube & Ríos, 2001). Tuovinen et al. (2019) pomocí fluorescenčního barvení zkoumali struktury, kterými kvasinky interagují s buňkami řas v rámci zmiňovaných hálek. Spíše než haustoriím považovali kontakt řasa-kvasinka za podobný



Obr. 9 Kontakt tremelloidního (T) haustoria s buňkou hostitele (H) označen šipkou (upraveno z Grube & Ríos, 2001)

strukturám, které vytváří řasa s primárním houbovým symbiontem. Při barvení hálek, které způsobují zástupci řádu Tremellales, haustoria pozorovány byly, ale autoři nezaznamenali přímý kontakt s hyfami primárního houbového symbionta (Tuovinen et al., 2021). Pomocí světelného mikroskopu haustoria vedoucí k buňkám hostitele pozorovány byly (Grube & Ríos, 2001). To ale autoři studie Tuovinen et al. (2021) interpretují odlišně, přestože jejich metoda nedovolovala detailní zobrazení kontaktů buněčných stěn. Mycelium, které by propojovalo jednotlivé hálky, nebylo zaznamenáno ani jednou z popsaných metod (Grube & Ríos, 2001; Tuovinen et al., 2021). Grube & de los Ríos (2001) spekulovali, že tremelloidní haustoria se mohou od hostitele oddělit v důsledku růstu hálek. Také není vyloučeno, že kvasinky využívají k parazitismu jiné útvary, než které byly dosud popsány (Oberwinkler, 2017). Z aktuálně dostupných informací o basidiomycetních kvasinkách v lišejnících není možné tedy spolehlivě určit, jestli kvasinky do symbiomy přispívají, jestli na ostatních partnerech naopak parazitují, nebo jestli pouze využívají stabilní prostředí stélky, případně kterou z těchto a dalších možných strategií jednotlivé skupiny basidiomycetních kvasinek využívají.

6. Možné směry dalšího výzkumu

Od doby, co byly kvasinky označeny za dalšího možného hráče v lišejníkové symbióze (Spribille et al., 2016), se další studie snaží objasnit roli kvasinek v lišejníkové symbióze, stanovit míru jejich specifity a určit faktory, které jejich výskyt ovlivňují. Většina studií, které se snažily o zmapování výskytu kvasinkových hub ze řádů *Tremellales* a *Cyphobasidiales* v lišejnících, byly úspěšné (např. Tagirdzhanova, McCutcheon, and Spribille 2021; Mark et al. 2020). Otázkou ale nadále zůstává, jestli kvasinky opravdu mají s lišejníky mutualistický vztah. Odpovědi by mohl přinést další výzkum v již studovaných oblastech: rozšíření a specifita k hostitelům, vizualizace rozhraní mezi kvasinkami a primárními lišejníkovými symbionty v hálkách a v neposlední řadě studium výměny látek mezi symbiotickými partnery.

Výzkum v oblasti rozšíření a specifity vazby není ani zdaleka kompletní, přestože mu zatím bylo věnováno nejvíce dosud publikovaných prací. Zjištění, že hloubka sekvenování a příprava vzorku korelují s množstvím zaznamenaných kvasinek v metagenomech (Tagirdzhanova et al., 2021, 2023), společně s využitím primerů vyvinutých pro amplifikaci některých basidiomycetních kvasinek (např. Millanes et al., 2011; Spribille et al., 2016; Tuovinen et al., 2019), by mohly další výzkum značně zefektivnit. Přítomnost kvasinek byla dosud studována na relativně omezeném počtu lišejníků a diverzita této skupiny organismů v dalších lišejnících zůstává skrytá. Ohledně specifity by mohlo být vhodné zkoumat diverzitu basidiomycetních kvasinek i v dalších substrátech a ověřit tak míru vazby přímo na lišejníkový mikrobiom.

Dalším z možných kroků k definování vztahu mezi kvasinkami a lišejníkem by mohla být detailní vizualizace rozhraní, kterým spolu partneři v rámci stélky komunikují. Metodou FISH byl pozorován kontakt kvasinek v hyfální formě s fotobiontem uvnitř hálky (Tuovinen et al., 2019). Autoři jej popsali

jako podobný tomu, který vzniká na rozhraní fotobiont-mykobiont, ale detailní popis kontaktu jejich fluorescenční sondy neumožňovaly, jelikož nezobrazují buněčnou stěnu. To by mohly metody elektronové mikroskopie, které již pro stejné účely byly využity (Grube & Ríos, 2001).

Největší mezery poznání jsou v pochopení metabolických toků a komunikace mezi kvasinkami a dalšími symbiotickými partnery. Hlavním problémem je, že jsou stále mezery také ve znalostech o komunikaci mezi základními lišejníkovými partnery (Pichler et al., 2023). Pochopení systému signalizace mezi houbou a autotrofem a fyziologie lišejníku jako celku by mohly objasnit i komunikaci s kvasinkami. Posunu v této oblasti dlouho bránily komplikace při kultivaci lišejníkových kvasinek a neúspěšné pokusy o resyntézu lišejníkové stélky v laboratorních podmínkách (např. Stocker-Wörgötter & Hager, 2008; Černajová & Škaloud, 2020). Nedávno byl ale objeven kultivovatelný zástupce rodu *Cyphobasidium* (Černajová & Škaloud, 2020), jehož studium by mohlo nabízet odpovědi na některé z položených otázek. Kultivačními pokusy by mohlo být např. možné zjistit jaké látky je kvasinka schopná metabolizovat a jaké vylučovat do mezibuněčného prostoru.

7. Závěr

Tato bakalářská práce se věnovala basidiomycetním kvasinkám vyskytujícím se v lišejnících a jejím hlavním cílem bylo shrnout dosud publikované informace dostupné k tomuto tématu. Práci, které se basidiomycetními kvasinkami v lišejnících zabývají, je relativně málo a studují především diverzitu kvasinek v lišejnících, jejich rozšíření, specificitu vazby vůči lišejníkovým hostitelům a obecně podstatu tohoto symbiotického vztahu. Jejich autoři často používají rozdílné metody, z nichž některé byly na studium lišejníků použity poprvé. To komplikuje interpretaci v některých případech si vzájemně odporujících výsledků. Nejblíže studovanými skupinami basidiomycetních kvasinek z lišejníků jsou řády Tremellales a Cystobasidiales. Z nově popsáných kvasinek byly vytvořeny dva rody, které obsahují pouze kvasinky z lišejníků: *Cyphobasidium* (Millanes et al., 2016) a *Lichenozyma*, která byla popsána z lišejníků rodu *Cladonia* (Černajová & Škaloud, 2019). Zástupci kvasinek řádů Tremellales a Cyphobasidiales jsou sice popsáni z hálek, ale důkazy jejich parazitické povahy nejsou průkazné. Zároveň dosud nebyly publikovány žádné jednoznačné důkazy ani pro to, že by přispívaly k fungování lišejníkové symbiózy. Souvislost mezi fenotypem lišejníku *Bryoria fremontii* a kvasinkami dosud nebyla prokázána. Obdobně odvozování funkce kvasinek z jejich genomů vedlo dosud pouze k experimentálně nepodpořeným hypotézám. Přítomnost této donedávna přehlížené skupiny organismů se ale v lišejnících jeví běžná (Tagirdzhanova et al., 2023). K odhalení pravé role kvasinek v lišejnících bude zapotřebí dále zkoumat tento vztah hlouběji.

8. Seznam použité literatury

- Aftab W., Lahiri S. & Imhof A. 2022. ImShot: An open-source software for probabilistic identification of proteins in situ and visualization of proteomics data. *Mol. Cell. Proteomics*. **21**: 6.
- Asplund J. & Gauslaa Y. 2008. Mollusc grazing limits growth and early development of the old forest lichen *Lobaria pulmonaria* in broadleaved deciduous forests. *Oecologia*. **155**: 93–99.
- Bacon C.W. & White J. 2014. *Microbial endophytes*. CRC Press, Boca Raton. 500 pp.
- Banchi E., Stankovic D., Fernández-Mendoza F., Gionechetti F., Pallavicini A. & Muggia L. 2018. ITS2 metabarcoding analysis complements lichen mycobiome diversity data. *Mycol. Prog.* **17**: 1049–1066.
- Bauer R., Begerow D., Sampaio J.P., Weiß M. & Oberwinkler F. 2006. The simple-septate basidiomycetes: a synopsis. *Mycol. Prog.* **5**: 41–66.
- Calcott M.J., Ackerley D.F., Knight A., Keyzers R.A. & Owen J.G. 2018. Secondary metabolism in the lichen symbiosis. *Chem. Soc. Rev.* **47**: 1730–1760.
- Casano L.M., del Campo E.M., García-Breijo F.J., Reig-Armiñana J., Gasulla F., del Hoyo A., Guéra A. & Barreno E. 2011. Two *Trebouxia* algae with different physiological performances are ever-present in lichen thalli of *Ramalina farinacea*. Coexistence versus Competition? *Environ. Microbiol.* **13**: 806–818.
- Černajová I. & Škaloud P. 2019. The first survey of Cystobasidiomycete yeasts in the lichen genus *Cladonia*; with the description of *Lichenzyma pisutiana* gen. nov., sp. nov. *Fungal Biol.* **123**: 625–637.
- Černajová I. & Škaloud P. 2020. Lessons from culturing lichen soredia. *Symbiosis*. **82**: 109–122.
- Cometto A., Leavitt S.D., Millanes A.M., Wedin M., Grube M. & Muggia L. 2022. The yeast lichenosphere: high diversity of basidiomycetes from the lichens *Tephromela atra* and *Rhizoplaca melanophthalma*. *Fungal Biol.* **126**: 587–608.
- Da Silva M.K., Da Silva A.V., Fernandez P.M., Montone R.C., Alves R.P., De Queiroz A.C., De Oliveira V.M., Dos Santos V.P., Putzke J., Rosa L.H. & Duarte A.W.F. 2022. Extracellular hydrolytic enzymes produced by yeasts from Antarctic lichens. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **94**: e20210540.
- Dědková K. 2023. Pluralita fotobiontů ve stélkách lišejníků. Bakalářská práce, Karlova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky, Praha.
- Diederich P. 1996. The lichenicolous Heterobasidiomycetes. Cramer in der Gebr. Borntraeger Verl. Buchh, 198 pp.
- Diederich P., Lawrey J.D. & Ertz D. 2018. The 2018 classification and checklist of lichenicolous fungi, with 2000 non-lichenized, obligately lichenicolous taxa. *The Bryologist*. **121**: 340–425.
- Diederich P., Millanes A.M., Wedin M. & Lawrey J.D. 2022. *Flora of lichenicolous fungi*. National Museum of Natural History, Luxembourg. 351 pp pp.
- Duarte A.W.F., Dayo-Owoyemi I., Nobre F.S., Pagnocca F.C., Chaud L.C.S., Pessoa A., Felipe M.G.A. & Sette L.D. 2013. Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples. *Extremophiles*. **17**: 1023–1035.
- Duarte A.W.F., Passarini M.R.Z., Delforno T.P., Pellizzari F.M., Cipro C.V.Z., Montone R.C., Petry M.V., Putzke J., Rosa L.H. & Sette L.D. 2016. Yeasts from macroalgae and lichens that inhabit the South Shetland Islands, Antarctica. *Environ. Microbiol. Rep.* **8**: 874–885.
- Einhellig F.A. 1994. Allelopathy: current status and future goals. pp. 1–24. *Allelopathy*, American Chemical Society,
- Ekman S. 1999. PCR optimization and troubleshooting, with special reference to the amplification of ribosomal DNA in lichenized fungi. *The Lichenologist*. **31**: 517–531.
- Ezawa T. & Saito K. 2018. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. *New Phytol.* **220**: 1116–1121.
- Farrar J.F. 1976a. The lichen as an ecosystem: observation and experiment. *Lichenol. Prog. Probl. Proc. Aninternational Symp.* 385–406.
- Farrar J.F. 1976b. Ecological physiology of the lichen *Hypogymnia Physodes*. *New Phytol.* **77**: 105–113.
- Fernández-Mendoza F., Fleischhacker A., Kopun T., Grube M. & Muggia L. 2017. ITS1 metabarcoding highlights low specificity of lichen mycobiomes at a local scale. *Mol. Ecol.* **26**: 4811–4830.

- 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.
- Gargas A., DePriest P.T., Grube M. & Tehler A. 1995. Multiple origins of lichen symbioses in fungi suggested by SSU rDNA phylogeny. *Science*. **268**: 1492–1495.
- Gauslaa Y. & Solhaug K.A. 2001. Fungal melanins as a sun screen for symbiotic green algae in the lichen *Lobaria pulmonaria*. *Oecologia*. **126**: 462–471.
- Grimm M., Grube M., Schiefelbein U., Zühlke D., Bernhardt J. & Riedel K. 2021. The lichens' microbiota, still a mystery? *Front. Microbiol.* **12**: 714.
- Grube M. & Ríos A. 2001. Observations on *Biatoropsis usnearum*, a lichenicolous heterobasidiomycete, and other gall-forming lichenicolous fungi, using different microscopical techniques. *Mycol. Res.* **105**: 1116–1122.
- Harrington B.J. & Raper K.B. 1968. Use of a fluorescent brightener to demonstrate cellulose in the cellular slime molds. *Appl. Microbiol.* **16**: 106–113.
- Hawksworth D.L. & Grube M. 2020. Lichens redefined as complex ecosystems. *New Phytol.* **227**: 1281–1283.
- Honegger 1991. Functional aspects of the lichen symbiosis. *Ann Rev Pl Physiol Molec Biol.* **42**: 553–578.
- Honegger 2000. Simon Schwendener (1829-1919) and the dual hypothesis of lichens. *The Bryologist.* **103**: 307–313.
- Honegger R. 1986. Ultrastructural studies in lichens. *New Phytol.* **103**: 785–795.
- Honegger R. 1998. The lichen symbiosis—what is so spectacular about it?. *The Lichenologist.* **30**: 193–212.
- Honegger R. 2007. Water relations in lichens. pp. 185–200. *Fungi in the Environment*, Honegger R. 2008. Morphogenesis. 69-93. *TH Nash III Lichen Biol. Second Ed.* Camb. Univ. Press. 69–93.
- Johansson O., Olofsson J., Giesler R. & Palmqvist K. 2011. Lichen responses to nitrogen and phosphorus additions can be explained by the different symbiont responses. *New Phytol.* **191**: 795–805.
- Kachalkin A.V., Glushakova A.M. & Pankratov T.A. 2017. Yeast population of the Kindo Peninsula lichens. *Microbiology.* **86**: 786–792.
- Konishi T., Shimada Y., Nagao T., Okabe H. & Konoshima T. 2002. Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium*. *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 1370–1372.
- Lawrey J.D. & Diederich P. 2003. Lichenicolous fungi: interactions, evolution, and biodiversity. *The Bryologist.* **106**: 80–120.
- Leavitt S.D., Kraichak E., Nelsen M.P., Altermann S., Divakar P.K., Alors D., Esslinger T.L., Crespo A. & Lumbsch T. 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). *Mol. Ecol.* **24**: 3779–3797.
- Lendemer J.C., Keepers K.G., Tripp E.A., Pogoda C.S., McCain C.M. & Kane N.C. 2019. A taxonomically broad metagenomic survey of 339 species spanning 57 families suggests cystobasidiomycete yeasts are not ubiquitous across all lichens. *Am. J. Bot.* **106**: 1090–1095.
- Li A.-H., Yuan F.-X., Groenewald M., Bensch K., Yurkov A.M., Li K., Han P.-J., Guo L.-D., Aime M.C., Sampaio J.P., Jindamorakot S., Turchetti B., Inacio J., Fungsin B., Wang Q.-M. & Bai F.-Y. 2020. Diversity and phylogeny of basidiomycetous yeasts from plant leaves and soil: Proposal of two new orders, three new families, eight new genera and one hundred and seven new species. *Stud. Mycol.* **96**: 17–140.
- Lopandic K., Molnár O. & Prillinger H. 2005. *Fellomyces mexicanus* sp. nov., a new member of the yeast genus *Fellomyces* isolated from lichen *Cryptothecia rubrocincta* collected in Mexico. *Microbiol. Res.* **160**: 1–11.
- 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.

- Marante F.J.T., Castellano A.G., Rosas F.E., Aguiar J.Q. & Barrera J.B. 2003. Identification and quantitation of allelochemicals from the lichen *Lethariella canariensis*: phytotoxicity and antioxidative activity. *J. Chem. Ecol.* **29**: 2049–2071.
- Mark K., Laanisto L., Bueno C.G., Niinemets Ü., Keller C. & Scheidegger C. 2020. Contrasting co-occurrence patterns of photobiont and cystobasidiomycete associated with common epiphytic lichen species. *New Phytol.* **227**: 1362–1375.
- Maziarz E.K. & Perfect J.R. 2016. Cryptococcosis. *Infect. Dis. Clin.* **30**: 179–206.
- Merges D., Dal Grande F., Greve C., Otte J. & Schmitt I. 2021. Virus diversity in metagenomes of a lichen symbiosis (*Umbilicaria phaea*): complete viral genomes, putative hosts and elevational distributions. *Environ. Microbiol.* **23**: 6637–6650.
- Millanes A.M., Diederich P., Ekman S. & Wedin M. 2011. Phylogeny and character evolution in the jelly fungi (Tremellomycetes, Basidiomycota, Fungi). *Mol. Phylogenet. Evol.* **61**: 12–28.
- Millanes A.M., Diederich P. & Wedin M. 2016. *Cyphobasidium* gen. nov., a new lichen-inhabiting lineage in the Cystobasidiomycetes (Pucciniomycotina, Basidiomycota, Fungi). *Fungal Biol.* **120**: 1468–1477.
- Millanes A.M., Diederich P., Westberg M. & Wedin M. 2021. *Crittendenia* gen. nov., a new lichenicolous lineage in the Agaricostilbomycetes (Pucciniomycotina), and a review of the biology, phylogeny and classification of lichenicolous heterobasidiomycetes. *The Lichenologist.* **53**: 103–116.
- Millbank J.W. & Kershaw K.A. 1969. Nitrogen metabolism in lichens. *New Phytol.* **68**: 721–729.
- Möller C. & Dreyfuss M.M. 1996. Microfungi from Antarctic lichens, mosses and vascular plants. *Mycologia.* **88**: 922–933.
- Molnár K. & Farkas E. 2010. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Z. Für Naturforschung C.* **65**: 157–173.
- Morillas L., Roales J., Cruz C. & Munzi S. 2022. Lichen as multipartner symbiotic relationships. *Encyclopedia.* **2**: 1421–1431.
- Muggia L., Baloch E., Stabentheiner E., Grube M. & Wedin M. 2011. Photobiont association and genetic diversity of the optionally lichenized fungus *Schizoxylon albescens*. *FEMS Microbiol. Ecol.* **75**: 255–272.
- Nash T.H. 1996. *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Nash T.H. 2008. *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Negróni R. 2012. Cryptococcosis. *Clin. Dermatol.* **30**: 599–609.
- Nguyen N.-H., Nguyen P.-T., Otake H., Nagata A., Hirano N., Imanishi-Shimizu Y. & Shimizu K. 2023. Biodiversity of basidiomycetous yeasts associated with *Cladonia rei* lichen in Japan, with a description of *Microsporomyces cladoniophilus* sp. nov. *J. Fungi.* **9**: 473.
- Oberwinkler F. 2017. Yeasts in Pucciniomycotina. *Mycol. Prog.* **16**: 831–856.
- O'Brien H.E., Miadlikowska J. & Lutzoni F. 2013. Assessing population structure and host specialization in lichenized cyanobacteria. *New Phytol.* **198**: 557–566.
- Pankratov T.A., Kachalkin A.V., Korchikov E.S. & Dobrovol'skaya T.G. 2017. Microbial communities of lichens. *Microbiology.* **86**: 293–309.
- Petrini O., Hake U. & Dreyfuss M.M. 1990. An analysis of fungal communities isolated from fruticose lichens. *Mycologia.* **82**: 444–451.
- Petrzik K., Koloniuk I., Sehadová H. & Sarkisova T. 2019. Chrysovirus inhabited symbiotic fungi of lichens. *Viruses.* **11**: 1120.
- Pichler G., Muggia L., Carniel F.C., Grube M. & Kranner I. 2023. How to build a lichen: from metabolite release to symbiotic interplay. *New Phytol.* **238**: 1362–1378.
- Piercey-Normore M.D. & DePriest P.T. 2001. Algal switching among lichen symbioses. *Am. J. Bot.* **88**: 1490–1498.
- Prillinger H., Kraepelin G., Lopandic K., Schweigkofler W., Molnár O., Weigang F. & Dreyfuss M.M. 1997. New species of *Fellomyces* isolated from epiphytic lichen species. *Syst. Appl. Microbiol.* **20**: 572–584.
- Ranković B., Mišić M. & Sukdolak S. 2008. The antimicrobial activity of substances derived from the lichens *Physcia aipolia*, *Umbilicaria polyphylla*, *Parmelia caperata* and *Hypogymnia physodes*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 1239–1242.

- Rasul A., Khan M., Ali M., Li J. & Li X. 2013. Targeting apoptosis pathways in cancer with alantolactone and isoalantolactone. *Sci. World J.* **2013**: e248532.
- Richardson D.H.S., Dowding P. & Ni Lamhna E. 1985. Monitoring air quality with leaf yeasts. *J. Biol. Educ.* **19**: 299–303.
- Richardson D.H.S., Hill D.J. & Smith D.C. 1968. Lichen physiology. *New Phytol.* **67**: 469–486.
- Rikkinen J. 2013. Molecular studies on cyanobacterial diversity in lichen symbioses. *MycKeys*. **6**: 3–32.
- Sanders W.B. & Masumoto H. 2021. Lichen algae: the photosynthetic partners in lichen symbioses. *The Lichenologist*. **53**: 347–393.
- Sanger F., Nicklen S. & Coulson A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **74**: 5463–5467.
- Santiago I.F., Soares M.A., Rosa C.A. & Rosa L.H. 2015. Lichensphere: a protected natural microhabitat of the non-lichenised fungal communities living in extreme environments of Antarctica. *Extremophiles*. **19**: 1087–1097.
- Schachtman D.P., Reid R.J. & Ayling S.M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* **116**: 447–453.
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W., Fungal Barcoding Consortium, Fungal Barcoding Consortium Author List, Bolchacova E., Voigt K., Crous P.W., Miller A.N., Wingfield M.J., Aime M.C., An K.-D., Bai F.-Y., Barreto R.W., Begerow D., Bergeron M.-J., Blackwell M., Boekhout T., Bogale M., Boonyuen N., Burgaz A.R., Buyck B., Cai L., Cai Q., Cardinali G., Chaverri P., Coppins B.J., Crespo A., Cubas P., Cummings C., Damm U., de Beer Z.W., de Hoog G.S., Del-Prado R., Dentinger B., Diéguez-Uribeondo J., Divakar P.K., Douglas B., Dueñas M., Duong T.A., Eberhardt U., Edwards J.E., Elshahed M.S., Fliiegerova K., Furtado M., García M.A., Ge Z.-W., Griffith G.W., Griffiths K., Groenewald J.Z., Groenewald M., Grube M., Gryzenhout M., Guo L.-D., Hagen F., Hambleton S., Hamelin R.C., Hansen K., Harrold P., Heller G., Herrera C., Hirayama K., Hirooka Y., Ho H.-M., Hoffmann K., Hofstetter V., Högnabba F., Hollingsworth P.M., Hong S.-B., Hosaka K., Houbraken J., Hughes K., Huhtinen S., Hyde K.D., James T., Johnson E.M., Johnson J.E., Johnston P.R., Jones E.B.G., Kelly L.J., Kirk P.M., Knapp D.G., Kõljalg U., Kovács G.M., Kurtzman C.P., Landvik S., Leavitt S.D., Liggenstoffer A.S., Liimatainen K., Lombard L., Luangsa-ard J.J., Lumbsch H.T., Maganti H., Maharachchikumbura S.S.N., Martin M.P., May T.W., McTaggart A.R., Methven A.S., Meyer W., Moncalvo J.-M., Mongkolsamrit S., Nagy L.G., Nilsson R.H., Niskanen T., Nyilasi I., Okada G., Okane I., Olariaga I., Otte J., Papp T., Park D., Petkovits T., Pino-Bodas R., Quaedvlieg W., Raja H.A., Redecker D., Rintoul T.L., Ruibal C., Sarmiento-Ramírez J.M., Schmitt I., Schüßler A., Shearer C., Sotome K., Stefani F.O.P., Stenroos S., Stielow B., Stockinger H., Suetrong S., Suh S.-O., Sung G.-H., Suzuki M., Tanaka K., Tedersoo L., Telleria M.T., Tretter E., Untereiner W.A., Urbina H., Vágvölgyi C., Vialle A., Vu T.D., Walther G., Wang Q.-M., Wang Y., Weir B.S., Weiß M., White M.M., Xu J., Yahr R., Yang Z.L., Yurkov A., Zamora J.-C., Zhang N., Zhuang W.-Y. & Schindel D. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**: 6241–6246.
- Smith H.B., Dal Grande F., Muggia L., Keuler R., Divakar P.K., Grewe F., Schmitt I., Lumbsch H.T. & Leavitt S.D. 2020. Metagenomic data reveal diverse fungal and algal communities associated with the lichen symbiosis. *Symbiosis*. **82**: 133–147.
- Spribille T. 2018. Relative symbiont input and the lichen symbiotic outcome. *Curr. Opin. Plant Biol.* **44**: 57–63.
- Spribille T., Resl P., Stanton D.E. & Tagirdzhanova G. 2022. Evolutionary biology of lichen symbioses. *New Phytol.* **234**: 1566–1582.
- Spribille T., Tagirdzhanova G., Goyette S., Tuovinen V., Case R. & Zandberg W.F. 2020. 3D biofilms: in search of the polysaccharides holding together lichen symbioses. *FEMS Microbiol. Lett.* **367**: fnaa023.
- 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.

- Starmer W.T. & Lachance M.-A. 2011. Chapter 6 - Yeast Ecology. pp. 65–83. In: Kurtzman C.P., Fell J.W., & Boekhout T. (eds), *The Yeasts* (Fifth Edition), Elsevier, London.
- Stocker-Wörgötter E. & Hager A. 2008. Appendix: Culture methods for lichens and lichen symbionts. pp. 353–363. In: Nash I. Thomas H. (eds), *Lichen Biology*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Stoeckli M., Chaurand P., Hallahan D.E. & Caprioli R.M. 2001. Imaging mass spectrometry: A new technology for the analysis of protein expression in mammalian tissues. *Nat. Med.* **7**: 493–496.
- Studzińska-Sroka E., Galanty A. & Bylka W. 2017. Atranorin – an interesting lichen secondary metabolite. *Mini-Rev. Med. Chem.* **17**: 1–1.
- Tagirdzhanova G., Saary P., Cameron E.S., Garber A.I., Díaz Escandón D., Goyette S., Nogerius V.T., Passo A., Mayrhofer H., Holien H., Tønberg 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. *bioRxiv*.
- Tagirdzhanova G., Saary P., Tingley J.P., Díaz-Escandón D., Abbott D.W., Finn R.D. & Spribille T. 2021. Predicted Input of uncultured fungal symbionts to a lichen symbiosis from metagenome-assembled genomes. *Genome Biol. Evol.* **13**: evab047.
- Tuovinen V., Ekman S., Thor G., Vanderpool D., Spribille T. & Johannesson H. 2019. Two basidiomycete fungi in the cortex of wolf lichens. *Curr. Biol.* **29**: 476-483.e5.
- Tuovinen V., Millanes A.M., Freire-Rallo S., Rosling A. & Wedin M. 2021. *Tremella macrobasidiata* and *Tremella varia* have abundant and widespread yeast stages in *Lecanora* lichens. *Environ. Microbiol.* **23**: 2484–2498.
- Uphof J.C.Th. 1925. Purple bacteria as symbionts of a lichen. *Science.* **61**: 67–67.
- Vančurová M.L. 2022. Photobiont dynamics of *Stereocaulon* lichens. Dizertační práce. Karlova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky, Praha.
- Vasileva-Tonkova E., Romanovskaya V., Gladka G., Gouliamova D., Tomova I., Stoilova-Disheva M. & Tashyrev O. 2014. Ecophysiological properties of cultivable heterotrophic bacteria and yeasts dominating in phytocenoses of Galindez Island, maritime Antarctica. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 1387–1398.
- Velmalá S., Myllys L., Halonen P., Goward T. & Ahti T. 2009. Molecular data show that *Bryoria fremontii* and *B. tortuosa* (Parmeliaceae) are conspecific. *Lichenologist.* **41**: 231–242.
- Wang Q.-M., Yurkov A.M., Göker M., Lumbsch H.T., Leavitt S.D., Groenewald M., Theelen B., Liu X.-Z., Boekhout T. & Bai F.-Y. 2015. Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within *Pucciniomycotina*. *Stud. Mycol.* **81**: 149–189.
- Wilkinson D.M., Creevy A.L., Kalu C.L. & Schwartzman D.W. 2015. Are heterotrophic and silica-rich eukaryotic microbes an important part of the lichen symbiosis?. *Mycology.* **6**: 4–7.
- Yahr R., Vilgalys R. & Depriest P.T. 2004. Strong fungal specificity and selectivity for algal symbionts in Florida scrub *Cladonia* lichens. *Mol. Ecol.* **13**: 3367–3378.
- Yandell M. & Ence D. 2012. A beginner's guide to eukaryotic genome annotation. *Nat. Rev. Genet.* **13**: 329–342.
- Zaas A.K., Boyce M., Schell W., Lodge B.A., Miller J.L. & Perfect J.R. 2003. Risk of fungemia due to rhodotorula and antifungal susceptibility testing of rhodotorula isolates. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 5233.

9. Příloha

Příloha 1. Tabulka zástupců basidiomycetních kvasinek popsanych z lišejníků po vydání práce Spribille et al. 2016

Zdroj	Zástupce kvasinek	Hostitel
Spribille et al., 2016	Cyphobasidiales	<i>Alectoria, Allocetraria, Anzia, Brodoa, Bulbothrix, Caliciaceae, Cetraria, Cetrelia, Esslingeriana, Evernia, Flavocetraria, Flavopunctelia, Hypogymnia, Hypotrachyna, Imshaugia, Kaernefeltia, Letharia, Melanelia, Menegazzia, Montanelia, Myelochroa, Nephromopsis s.lat., Nodobryoria, Omphalora, Oropogon, Parmelia, Parmelina, Parmeliopsis, Parmotrema, Physcia, Platismatia, Pseudevernia, Pseudoparmelia, Tuckermanniopsis, Tuckerneraria, Usnea, Vulpicida, Xanthoparmelia</i>
	Cystobasidiomycetes	<i>Boreoplaca, Cladonia, Dendrioscoticta, Lobaria s. lat., Melanelixia, Melanohalea, Peltigera, Pleurosticta, Ramalina, Rusavskia, Santessoniella, Sphaerophoraceae, Thamnolia</i>
Duarte et al. 2016	<i>Cystobasidium</i>	<i>Usnea antarctica, U. aurantiaco-atra and Ramalina terebrata</i>
	Tremellales	<i>Usnea antarctica, U. aurantiaco-atra, Ramalina terebrata</i>
	Tremellomycetes	<i>Usnea antarctica, U. aurantiaco-atra, Ramalina terebrata</i>

	Microbotryomycetes	<i>Usnea antarctica</i> , <i>U. aurantiaco-atra</i> , <i>Ramalina terebrata</i>
	<i>Tremella</i>	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>
Zamora et al. 2016	<i>Tremella</i>	<i>Lecanora carpinea</i> , <i>L. varia</i> , <i>Lecidea</i> aff. <i>Erythrophaea</i> , <i>Ramalina fraxinea</i>
Férrnandez - Mendoza et al. 2017	Tremellales	<i>Lecanora intricata</i>
	Tremellomycetes	<i>Lecanora polytropa</i> , <i>L. bicincta</i>
Lendemmer et al. 2019	Cystobasidiomycetes	<i>Bryoria nadvornikiana</i> , <i>Heterodermia leucomela</i> , <i>H. leucomelos</i> , <i>Lecidea roseotincta</i> , <i>Opeographa vulgata</i> , <i>Parmotrema hypotropum</i> , <i>P. subsumptum</i> , <i>Usnea cornuta</i> , <i>U. strigosa</i> , <i>U. subgracilis</i>
Tuovinen et al. 2019	<i>Tremella lethariae</i>	<i>Letharia vulpina</i> , <i>L. lupina</i> , <i>L. cf. gracilis</i> , <i>L. cf. columbiana</i> , <i>L. 'lucida'</i> , <i>L. "rugosa"</i> , <i>L. 'rugosa'</i> , <i>L. "barbata"</i>
	<i>Tremella sp.</i>	<i>Letharia lupina</i> , <i>L. cf. columbiana</i> , <i>L. 'lucida'</i> , <i>L. "lucida"</i> , <i>L. vulpina</i> , <i>L. cf. vulpina</i>
Černajová & Škaloud 2019	Cyphobasidiales	<i>Cladonia rangiferina</i>
	Cystobasidiomycetes	<i>Cladonia bellidiflora</i> , <i>C. cariosa</i> , <i>C. cf. rangiferina</i> , <i>C. cornuta</i> , <i>C. deformis</i> , <i>C. gracilis</i> , <i>C. rangiferina</i> , <i>C. sulphurina</i>
	<i>Lichenozyma pisutiana</i>	<i>Cladonia arbuscula</i> , <i>C. cariosa</i> , <i>C. cf. pocillum</i> , <i>C. cf. subulata</i> , <i>C. coccifera/borealis</i> , <i>C. cornuta</i> , <i>C. deformis</i> , <i>C. diversa</i> , <i>C. floerkeana</i> , <i>C. furcata</i> , <i>C. chlorophaea</i> gr., <i>C. merochlorophaea</i> , <i>C. phyllophora</i> , <i>C. pocillum</i> , <i>C.</i>

		<i>polycarpoides</i> , <i>C. pyxidata</i> , <i>C. rangiferina</i> , <i>C. rangiformis</i> , <i>C. rei</i> , <i>C. subulata</i> , <i>C. subulata</i> , <i>C. verticillata</i> , <i>Cladonia</i> sp.
	Microsporomycetaceae	<i>Cladonia</i> cf. <i>macroceras</i> , <i>C. cf. pocillum</i> , <i>C. cornuta</i> , <i>C. foliacea</i> , <i>C. furcata</i> , <i>C. humilis</i> , <i>C. pocillum</i> , <i>C. rangiformis</i> , <i>C. rei</i> , <i>C. subulata</i>
Smith et al. 2020	Cystobasidiomycetes	<i>Bryoria fermontii</i> , <i>Physcia biziana</i> , <i>Xanthoparmelia chlorochroa</i>
Černajová & Škaloud 2020	Cystobasidiomycetes	<i>Cladonia fimbriata</i> , <i>C. rei</i>
Mark et al. 2020	Cystobasidiomycetes	<i>Hypogymnia physodes</i> , <i>H. tubulosa</i> , <i>Lecanora argentata</i> , <i>L. carpinea</i> s. lat., <i>L. hybocarpa</i> , <i>L. chlarotera</i> , <i>L. pulicaris</i> , <i>Parmelia sulcata</i> , <i>Physcia adscendens</i> , <i>P. tenella</i> , <i>Pseudevernia furfuracea</i>
Tuovinen et al. 2021	<i>Tremella macrobasidiata</i>	<i>Lecanora chlarotera</i> , <i>L. varia</i>
	<i>Tremella variae</i>	<i>Lecanora varia</i>
Tagirdzhanova et al. 2021	<i>Cyphobasidium</i>	<i>Alectoria sarmentosa</i>
	<i>Tremella</i>	<i>Alectoria sarmentosa</i>
Cometto et al. 2022	Tremellales	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i> , <i>Tephromela atra</i>
	Microbotryomycetes	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i> , <i>Tephromela atra</i>
	Agaricostilbomycetes	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i> , <i>Tephromela atra</i>
	Tremellomycetes	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
	Ustilaginomycetes	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
da Silva et al. 2022	Agaricostilbomycetes	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>

	<i>Cystobasidium</i>	<i>Caloplaca regali, Lecania brialmonti, Mastodia tessellata, Usnea aurantiaco-atra, Xanthoria candelaria</i>
	Microbotryomycetes	<i>Lecania brialmonti, Sphaerophorus globosus, Umbilicaria decussata, Usnea antarctica, Usnea aurantiaco-atra, Usnea capillacea, Xanthoria candelaria</i>
	Tremellales	<i>Caloplaca regalis, Cladonia stramine, Lecania brialmontii, Rhizocarpon geographicum, Umbilicaria decussata, Usnea aurantiaco-atra, Xanthoria candelaria</i>
	Tremellomycetes	<i>Lecania brialmontii, Usnea aurantiaco-atra, Xanthoria candelaria</i>
Tagirdzhanova et al. 2023	Cystobasidiomycetes	v 33 % ze 437 lišejníkových metagenomů
	Tremellomycetes	v 60 % ze 437 lišejníkových metagenomů
Nguyen et al. 2023	Cystobasidiomycetes	<i>Cladonia Rei</i>
	Cystobasidiales	
	Cystobasidiaceae	
	Microsporomycetaceae	