**Univerzita Karlova**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

**Vojtěch Šalom**

# Rod *Trebouxia*: Od morfologie k molekulární taxonomii

# *Trebouxia*: From Morphology to Molecular Taxonomy

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Škaloud, Ph.D.

Praha, 2026

## Prohlášení

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

V Praze dne 28. dubna 2026

Vojtěch Šalom

## Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval mému školiteli, panu prof. Pavlu Škaloudovi Ph.D., za odborné vedení mé bakalářské práce, za trpělivost a nikdy neutuchající pozitivní náladu, která mi pomáhala najít sílu a motivaci ke psaní.

Velké díky patří také všem mým kamarádům Klárce, Marii, Erikovi, Samovi, Tomášovi a Matějovi, kteří se mnou trávili dlouhé hodiny v Národní technické knihovně v Praze.

V poslední řadě bych chtěl poděkovat mé rodině, která mi byla v těžkých chvílích vždy oporou.

## Abstrakt

Rod *Trebouxia* představuje nejvýznamnějších rod zelených řas asociovaných s lišejníky. Historicky byla jeho taxonomie založena na morfologických znacích, později na ultrastruktuře pyrenoidu, až nakonec moderní molekulární metody vedly k definování operačních taxonomických jednotek (OTU). Tato práce poskytuje přehled historického vývoje taxonomického členění a současných poznatků o diverzitě rodu *Trebouxia*, včetně superskupin a jednotlivých OTU. Hlavní důraz je kladen na ekologické aspekty těchto taxonomických jednotek, jejich hostitelské preference a možné ekologické rozdíly mezi jednotlivými liniemi. Cílem práce je syntéza dostupných dat a vyhodnocení současného stavu poznání diverzity rodu *Trebouxia* v kontextu jeho ekologických charakteristik.

**Klíčová slova:** taxonomie, morfologie, molekulární fylogenetika, *Trebouxia*, *Asterochloris*, fotobiont

## Abstract

The genus *Trebouxia* represents the most significant group of green algae associated with lichens. Historically, its taxonomy was based on morphological characteristics, later on pyrenoid ultrastructure, until modern molecular methods ultimately led to the definition of operational taxonomic units (OTUs). This work provides an overview of the historical development of the taxonomic classification and current knowledge regarding the diversity of the genus *Trebouxia*, including supergroups and individual OTUs. The main emphasis is placed on the ecological aspects of these taxonomic units, their host preferences, and possible ecological differences between individual lineages. The aim of this work is to synthesize available data and evaluate the current state of knowledge regarding the diversity of the genus *Trebouxia* in the context of its ecological characteristics.

**Keywords:** taxonomy, morphology, molecular phylogenetics, *Trebouxia*, *Asterochloris*, photobiont

# Obsah

1. Úvod ... 1
2. Taxonomie založená na morfologických znacích ... 2
2.1 Morfologické znaky ... 2
2.2 *Cystococcus humicola* ... 4
2.3 *Trebouxia*, *Pseudotrebouxia* a *Asterochloris* ... 5
3. Ultrastrukturní znaky ... 10
3.1 *Gigantea*-type a *impressa*-type: ... 11
3.2 *Arboricola*-type: ... 12
3.3 *Gelatinosa*-type: ... 12
3.4 *Irregularis*-type: ... 13
3.5 *Corticola*-type: ... 13
3.6 *Erici*-type a *magna*-type: ... 14
4. Molekulární taxonomie ... 14
4.1 Rozdělení rodů *Trebouxia* a *Asterochloris* ... 15
4.2 Taxonomie rodu *Trebouxia* sensu stricto ... 18
4.3 Clade A (*arboricola*) ... 19
4.4 Clade I (*impressa*) ... 22
4.5 Clade S (*simplex*) ... 23
4.6 Clade C (*corticola*) ... 26
4.7 Clade D (*delisei*) ... 28
5. Závěr ... 29
6. Použitá literatura ... 31

# 1. Úvod

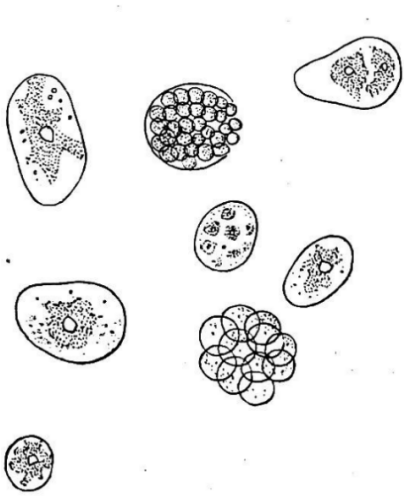
Lišejníky byly v historii ve vědě poněkud přehlíženy. Sám Carl von Linné je nazval tzv. „rustici pauperrimi“ vegetace, což by se dalo přeložit jako „ubohý odpad“ vegetace (Plitt 1919). Až do 19. století se předpokládalo, že lišejník jako celek je jen jeden organismus. Dnes víme, že je tomu přesně naopak. Lišejníky jsou spíše jakousi džunglí spletitých ekologických vztahů mezi mnoha biologickými aktéry. Jako první přišel s touto myšlenkou švýcarský botanik Simon Schwedener. Na botanické konferenci v Rheinfeldenu 10. září 1867 vyslovil svoji hypotézu o dualitě lišejníků. Věřil, že lišejník je tvořen dvěma odlišnými organismy, houbou a řasou či sinicí. Bohužel byla tato myšlenka tehdejšími lichenology odmítnuta, ačkoliv se roku 1939, kdy Eugen Thomas dokázal z původně samostatné houbové a řasové kultury resyntetizovat lišejník, ukázala býti pravdivou (Honegger 2000). Povaha tohoto vztahu je dosud neznámá. Schwedener předpokládal jakousi formu parazitismu. V práci z roku 1869 považuje lišejníkové houby za parazity, byť s moudrostí státníků a fotobionty označuje pojmem helot, což byla třída otroků ve starověké Spartě (Schwedener 1869, cit. podle Honegger 2000). Dnes samozřejmě většina autorů popisuje vztah mezi mykobiontem a fotobiontem jako symbiózu, avšak zůstává fakt, že řasový partner může velmi dobře žít samostatně, zatímco houbový partner nikoliv. V tomto případě není výjimkou ani rod *Trebouxia.* Ten se velmi hojně nachází v přírodě samostatně (Bubrick et al. 1984; Barberousse et al. 2006), ale také patří k nejběžnějším a nejvíce diverzifikovaným lišejníkovým symbiontům (Sadowska-Deś et al. 2014). Předpokládá se, že rod *Trebouxia* se nachází v 80 % lišejníků v temperátních oblastech a až ve 20 % lišejníků světově (Nelsen et al. 2021; Muggia et al. 2020). Dnes zahrnuje 33 formálně popsaných druhů (Guiry 2024). Vegetativní buňky se vyskytují jednotlivě nebo ve skupinách, mají sférický až elipsoidní nebo zaoblený tvar, o průměru 7–20 µm. Jejich buněčná stěna je tenká (0,5–1 µm), ale občas silnější u starších buněk (3 µm). Škrob se obvykle tvoří jako granulární stromatální škrob distribuovaný po celém chloroplastu, někdy koncentrovaný kolem pyrenoidu (Guiry 2024). Dospělé buňky obsahují masivní, axiální chloroplast, který zabírá téměř celý objem buňky. Chloroplast *Trebouxií* je výrazně laločnatý a obsahuje jeden nebo více pyrenoidů (Bordenave et al. 2022). V závislosti na druhu tvoří vegetativní buňky různý podíl auto a zoosporangií. Autosporangia jsou tvořena z relativně malého počtu buněk (4,8, zřídka 16, vzácně 32). Pro porovnání zoospory mohou obsahovat až 128 buněk. Zpočátku jsou dceřiné buňky těsně semknuté v mateřské buněčné stěně. To vede k zploštění buněčných stěn dceřiných buněk, které se až později zaobli. Dceřiné chloroplasty se během dělení výrazně nezplošťují.

Pyrenoidy většiny druhů se nerozpouštějí a reprodukují se dělením (Tschermak-Woess 1989). Zoosporangia obsahují nahé biflagelátní buňky. (Melkonian a Peveling 1988). Až donedávna jsme se domnívali, že nepohlavní rozmnožování hraje hlavní roli v životním cyklu tohoto rodu. Avšak mnoho nových publikací ukázalo na možnou přítomnost pohlavního rozmnožování. Publikace z roku 2000 objevila homologní rekombinaci u rodu *Trebouxia* (Kroken a Taylor 2000). Taktéž byla u třídy Trebouxiophyceae zjištěna přítomnost specifických genů spojených s meiózou a fúzí gamet, která slouží jako spolehlivý důkaz skutečné nebo skryté pohlavní reprodukce (Fučíková et al. 2015). V roce 2024 se podařilo potvrdit tuto myšlenku. U druhu *Trebouxia lynniae* je skutečně přítomný diploidní životní cyklus, přičemž se ukázalo, že zoospory ve skutečnosti často fungují jako gamety (Gazquez et al. 2024).

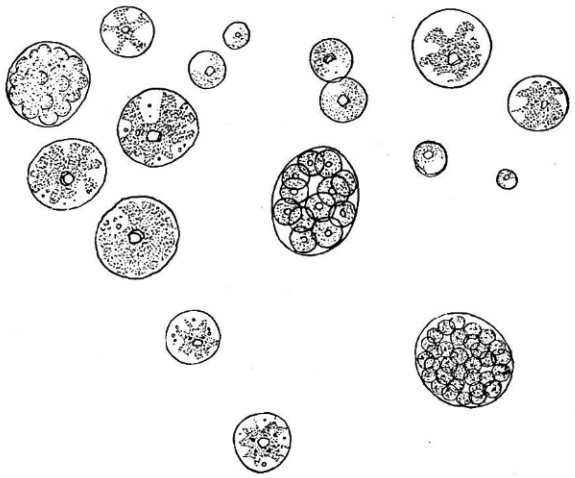
# 2. Taxonomie založená na morfologických znacích

## 2.1 Morfologické znaky

V raných dobách se taxonomie mikroskopických řas zakládala na popisu morfologických struktur pod světelným mikroskopem. Hledělo se na charakteristiky jako tvar buňky (sférický nebo elipsoidní), tloušťka buněčné stěny, pozice chloroplastu při dělení, tvar chloroplastu nebo přítomnost, popřípadě počet pyrenoidů v buňce (Paulson 1929; Ahmadjian 1960). Mimo to se k rozeznávání druhů využívalo i charakteristik řasových kultur.

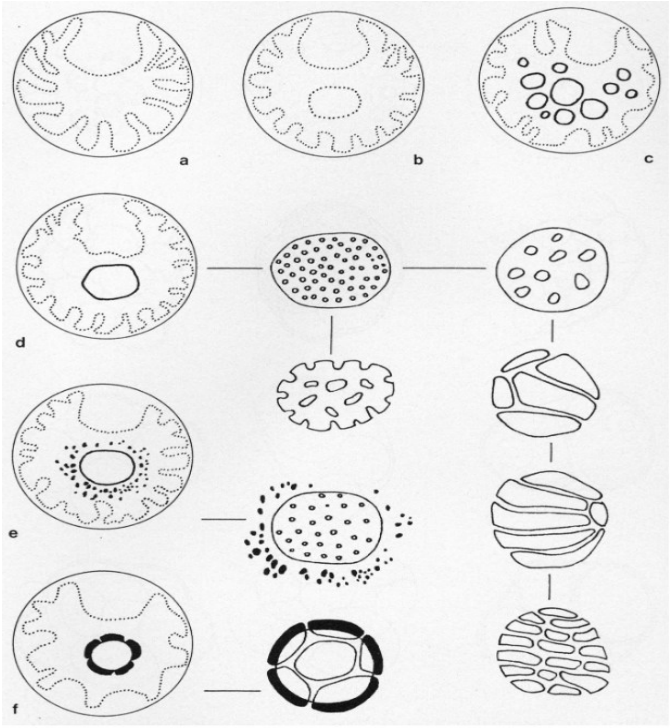


Obrázek I. Nákres řasy *Cystococcus irregularis* (převzato z Chodat 1912)



Obrázek II. Nákres řasy *Cystococcus Cladoniae pyxidatae* (převzato z Chodat 1912)

Chodat (1912) ve své práci uvádí, že kultury řas *Cystococcus irregularis* (obr. I) a *Cystococcus cladoniae* (obr. II) jsou od sebe jasně rozeznatelné. Kultura řasy *Cystococcus irregularis* po třech měsících vypadá jako zvrásnělé, svraštělé slupky světle zelené barvy. Tímto popisem se liší od kultury *Cystococcus cladoniae*, která byla pěstována ve stejných podmínkách po stejnou dobu. Ahmadjian (1960) a Ettl a Gärtner (1984) uvádějí, že tento způsob popisu je zastaralý a měl by se používat pouze jako doplňková informace.




Obrázek III. Náčrty pyrenoidů: a) bez pyrenoidu *T. magna*, b) nejasný pyrenoid *T. jamesii*, c) více pyrenoidů *T. usneae*, d) homogenní nahý pyrenoid *T. glomerata*, e) nahý pyrenoid obklopený škrobem *T. incrustata*, f) obalený pyrenoid *T. galapagensis* (převzato z Gärtner 1985)

Přesto ho Ahmadjian využívá k rozeznání *T. glomerata* od *T. erici* a *T. impressa* od *T. decolorans*. Prvním, kdo podal ucelenější klíč k rozeznávání tehdy 25 řasových druhů rodu *Trebouxia* (včetně *Pseudotrebouxia*) podle jejich morfologie, byl Gärtner (1985). Ve své práci popsal čtyři typy chloroplastu a dva typy pyrenoidu podle přítomnosti nebo absence škrobového obalu (obr. III). Rozlišuje laločnatý, vroubkovaný, žebrovaný a masivní typ chloroplastu. Mimo jiné se také často hledělo na charakter nepohlavního rozmnožování. První kdo na základě rozdílu v nepohlavním rozmnožování rozdělil rod *Cystococcus* byl Warén (1920). Mezi další patří například Tschermak-Woess (1989), která definuje podrod *Eleutherococcus* pro řasy s kompletní absencí autospor. Taxonomií založenou na morfologických znacích dále podrobněji rozebírám v následujících kapitolách.

## 2.2 *Cystococcus humicola*

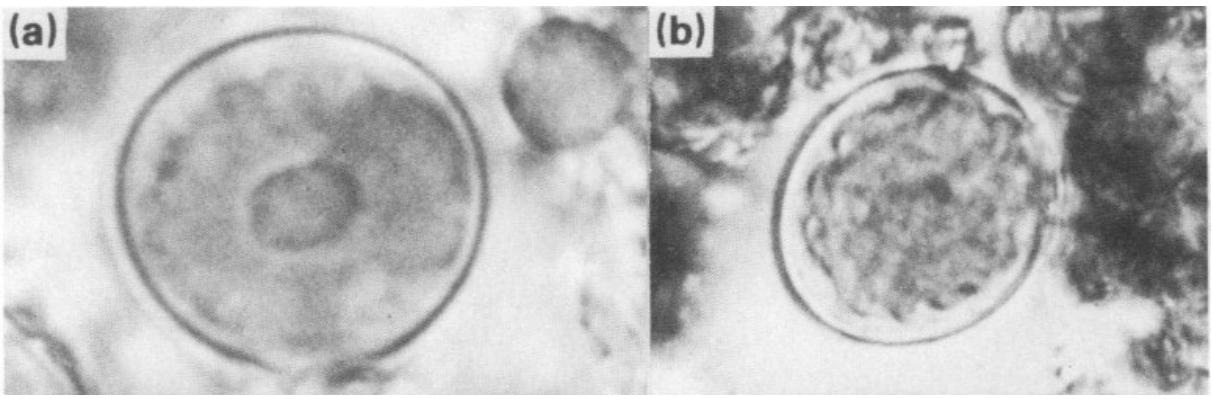
Poprvé se s rodem *Trebouxia* setkáváme v roce 1924, kdy Puymaly takto nazval řasu, kterou již dříve objevil Treboux při popisu gonidií lišejníku *Xanthoria parietina*. Avšak předtím byla tato řasa známa pod zcela odlišnými jmény. V roce 1849 popsal Naegeli řasu *Cystococcus humicola*, kterou našel v okolí Curychu na vlhké půdě. Podle popisu autora má řasa sférický tvar s parietálním chloroplastem, který obsahuje jeden velmi zřetelně viditelný pyrenoid. U řasy nebyla nikdy pozorována pohyblivá stádia s bičíkem. Řada autorů ale tento druh řadila do rodu *Chlorococcum*. Mnoho dalších pod tímto názvem označuje řasu tvořící gonidia lišejníku *Xanthoria parietina* (Puymaly 1924) a různých jiných druhů lišejníku. Například Chodat (1912) uvádí názvy jako *Cystococcus cladoniae*, *Cystococcus irregularis* nebo *Cystococcus cypheli* pro příslušné druhy lišejníků. Bornet pro změnu nazývá gonidiální řasu lišejníku *Xanthoria* rodem *Protococcus,* zatímco Artari ji považuje za *Chlorococcum*.

Treboux popsal přesnou strukturu gonidiální řasy lišejníku *Xanthoria parietina* a zjistil, že morfologicky je velmi odlišná od druhu *Cystococcus humicola*. Buňky řasy podle autora obsahují masivní centrální chloroplast se středovým pyrenoidem a v průběhu životního cyklu se objevují bičíkatá stádia. Zároveň se shoduje s ostatními autory, že by rod *Cystococcus* měl být zařazen do rodu *Chlorococcum*. Bohužel Treboux zachoval binomickou kombinaci Naegeliho, a řasa tak stále nesla název *Cystococcus humicola* (Puymaly 1924).

První, kdo se pokusil o větší taxonomické počiny u tohoto taxonu byl Warén (1920). Ten na základě rozdílu ve tvorbě autospor rozdělil rod *Cystococcus* na dva podrody *Eucystococcus* a *Eleuterococcus*. *Eucystococcus* produkoval menší počet autospor (8–12) těsně přilehlých ke stěně sporangia, na rozdíl od většího počtu autospor (32 a více) u podrodu *Eleuterococcus* (Warén 1920). Až o čtyři roky později se rozhodl Puymaly přejmenovat gonidiální řasu z *Cystococcus humicola* na *Trebouxia arboricola* (Puymaly 1924).

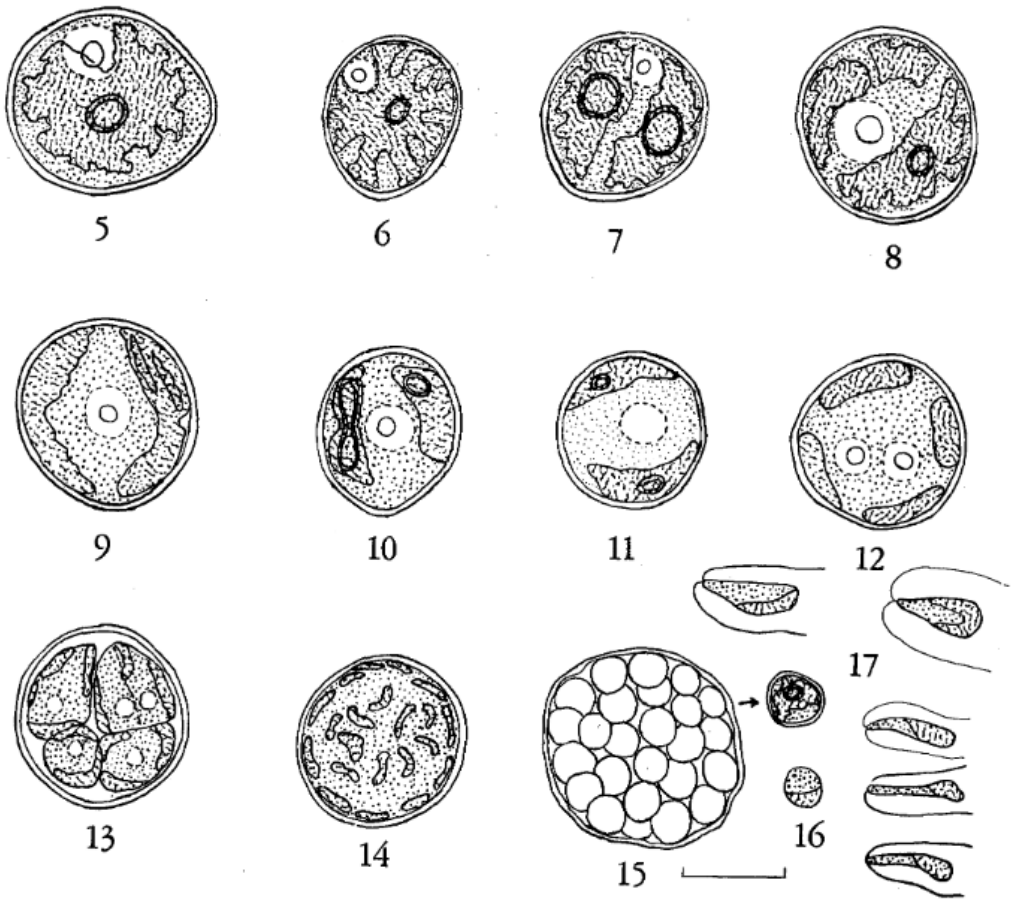
## 2.3 *Trebouxia*, *Pseudotrebouxia* a *Asterochloris*

Po ustanovení rodu *Trebouxia* popisovali mnozí druhy na základě velikosti, tvaru, barvě buněk, textuře a intenzitě růstu kolonií na agarovém médiu. Ahmadjian upozorňuje, že i přesto, že tyto znaky jsou občasně důležité k rozeznání druhů, neměly by býti hlavním poznávacím znakem. Navrhuje, aby se druhy rozlišovaly na základě organizace buněčných organel (obr. IV). Taktéž nebyla doposud ustanovena smysluplná nomenklatura pro lišejníkové fotobionty. Řasám bylo uděleno druhové jméno podle příslušného lišejníku, ve kterém se nacházely, jako například *Cystococcus (=Trebouxia) xanthoriae parietinae* (Ahmadjian 1960). Tento přístup předpokládal, že každý lišejník má svého specifického řasového partnera. To však bylo mnohými publikacemi vyvráceno (Raths 1938; Ahmadjian 1959). Ahmadjian navrhuje, aby symbiotické řasy měly řádné druhové jméno. Přesněji ve své práci uvedl: „Jelikož symbiotické řasy lišejníků jsou obecně považovány za geneticky nezávislé organismy, mělo by s nimi být také tak zacházeno“ (Ahmadjian 1960).



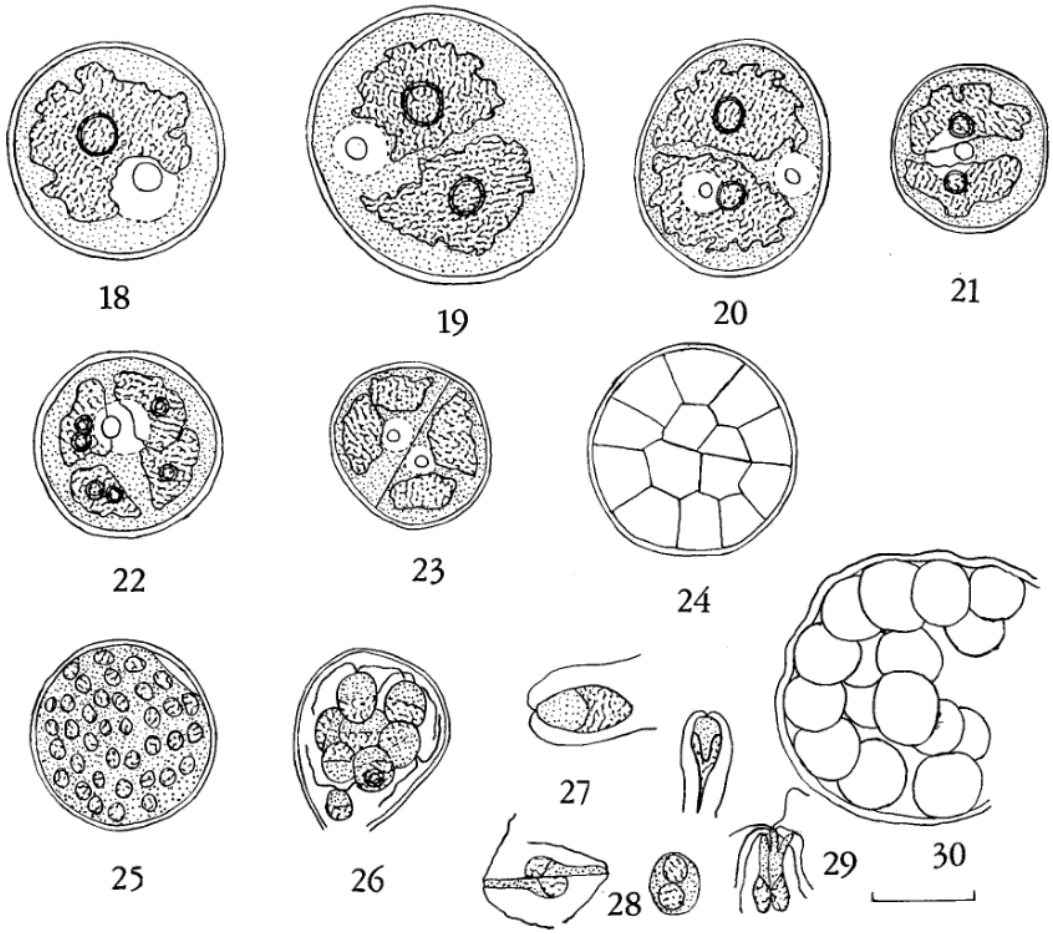

Obrázek IV. Volně žijící řasy rodu Trebouxia nebo Pseudotrebouxia (převzato z Bubrick et al. 1984)

Dále ve své práci rozděluje rod *Trebouxia* na dvě skupiny. Chloroplast první skupiny při dělení zaujímá parietální konfiguraci (obr. V). Vegetativní buňky mají spíše elipsoidní tvar a jejich chloroplast vykazuje hluboké prohlubně. Do této skupiny Ahmadjian zařazuje dva nově popsané druhy *T. erici* a *T. glomerata*. Nutno podotknout, že druh *T. glomerata* byl popsán pod názvem *Cystococcus glomerata* již dříve (Warén 1920). Zatímco aplanospory *T. erici* se nerozpadají a tvoří tak velké shluky, aplanospory druhu *T. glomerata* shluky netvoří. Kolonie *T. glomerata* má želatinový charakter a její buňky se lepí na baňky a laboratorní nástroje. U *T. erici* k tomuto nedochází.



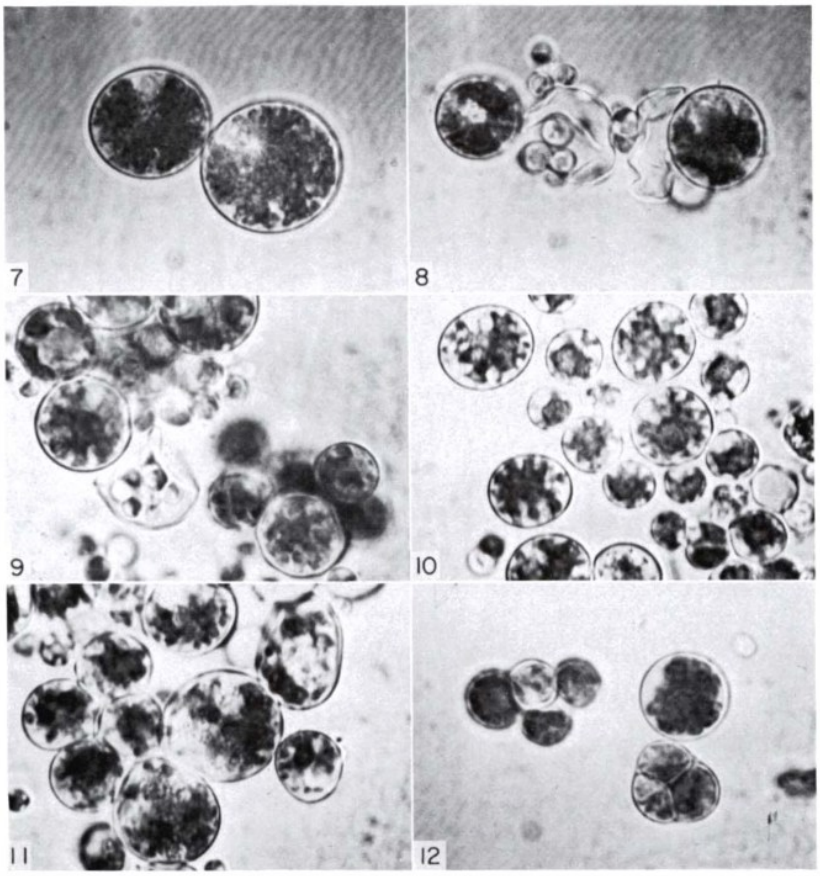

Obrázek V. Kresby skupiny I, 5. vegetativní buňka s centrálním chloroplastem, 6. vegetativní buňka s velkými zářezy v chloroplastu, 7. buňka s dělícím se chloroplastem, 8. druhé dělení jednoho z chloroplastů, jádro zůstává ve středu, 9. buňka s parietálně uloženým chloroplastem, 10. dělení jednoho chloroplastu a zúžení pyrenoidu, 11. rozpuštění jádra před jaderným dělením, 12. dvoujaderná buňka se čtyřmi chloroplasty, 13. cytoplazmatické dělení, 14. buňka ve fázi zoosporogeneze, 15. aplanosporangium tvořené zastavenými zoosporami, 16. obklopená neaktivní zoospora, 17. zoospory v aktivním stádiu (převzato z Ahmadjian 1960)

Druhá skupina je charakterizovaná centrálně uloženým chloroplastem během dělení, který má poměrně hladké okraje (obr. VI). Vegetativní buňky mají sférický tvar. Sem Ahmadjian řadí druhy *T. impressa* a *T. decolorans*. Mezi hlavní rozdíly patří počet aplanospor a přítomnost rosolovitého obalu okolo buněk. Jedním z charakteristických znaků *T. decolorans* je, že při vystavení kolonie přímému světlu (ať už artificiálnímu nebo přirozenému), buňky v kolonii ztratí barvu (Ahmadjian 1960).



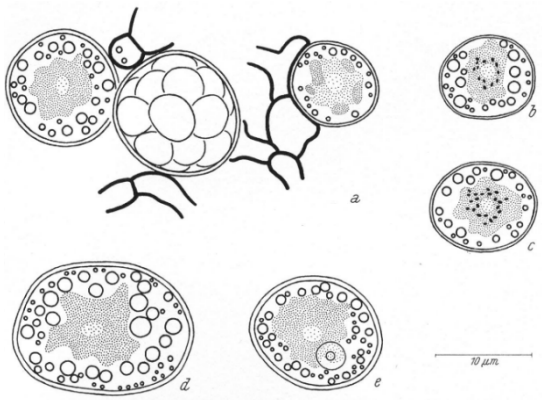

Obrázek VI. Kresby skupiny II, 18. vegetativní buňka s centrálním chloroplastem, výrazným pyrenoidem a parietálně položeným jádrem s jadérkem, 19. první dělení chloroplastu, pyrenoidy již rozděleny, jádro ve stejné poloze, 20. první dělení chloroplastu a rozdělení jádra, 21. první dělení chloroplastu, jádro v centrální poloze, 22. buňka, ve které se rozdělily oba chloroplasty, jádro se nerozdělilo, 23. buňka vykazující první dělení cytoplazmy, jádro se již rozdělilo, 24. buňka s rozděleným protoplastem ve stádiu aplanospory, 25. buňka ve stádiu zoosporogeneze, 26. otevřené zoosporangium, některé zoospory mají viditelný pyrenoid, 27. volné zoospory, 28. fúze 2 gamet, 29. neúplně rozdělené zoospory, 30. otevřené aplanosporangium (převzato z Ahmadjian 1960)

Později, Archibald (1975) popisuje šest nových druhů (*T. crenulata, T. excentrica, T. flava, T. italiana, T. magna, T. pyriformis*) a také charakterizuje dva druhy dříve izolované Ahmadjianem (*T. anticipata, T. gelatinosa*). Avšak k největším přínosům, nebo spíše přešlapům, této práce patří rozdělení rodu na rody *Trebouxia* a *Pseudotrebouxia* (obr. VII). Do nového rodu *Pseudotrebouxia* Archibald řadí pět druhů (*P. aggregata, P. incrustata, P. corticola, P. poterri, P. decolorans*). Přičemž rod *Trebouxia* zůstává v Chlorococcales a rod *Pseudotrebouxia* je přemístěn do řádu Chlorosarcinales na základě rozdílů v nepohlavním rozmnožování. Konkrétně produkce dceřiných vegetativních buněk probíhá pomocí desmoschisis, což je typ vegetativního dělení, při kterém dceřiné buňky převezmou buněčnou stěnu mateřské buňky. Často se dceřiné buňky drží u sebe a dělí se hned po druhé, což vede k uspořádání buněk do tetrád. Avšak Ettl a Gärtner (1984) nebyli schopni pozorovat desmoschisis u žádné z typových kultur. Dále uvádí, že shlukování do tetrád není typické jen pro Chlorellales, ale i pro Chlamydomonadales a Chlorococalles. Tetrády se taktéž tvoří u druhů *T. irregularis* a *T. flava*, kdežto u mnoho zástupců *Pseudotrebouxia* se vůbec nevyskytují.

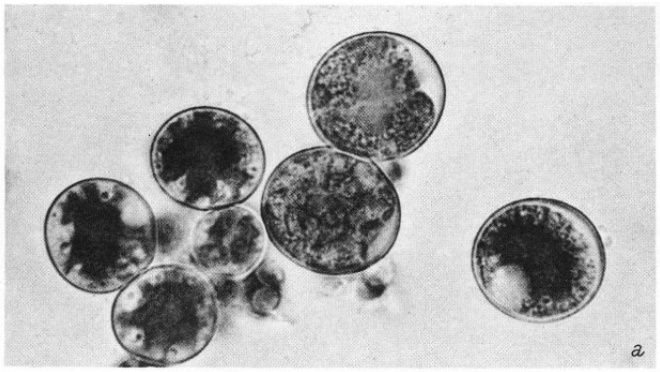



Obrázek VII. Izoláty druhů *Trebouxia* a *Pseudotrebouxia* v log fázi růstu, 7. *T. excentrica*, 8. *T. flava* a uvolňující se aplanospory, 9. *T. italiana*, 10. *T. magna*, 11. *T. pyriformis*, 12. *Pseudotrebouxia aggregata,* v pravém rohu tetráda buněk vznikající z desmoschisis (převzato z Archibald 1975)

Aby toho nebylo málo, Tschermak-Woess (1980) popsala nový druh fotobionta, který byl izolován z lišejníku *Anzina carneonivea* (dříve *Varicellaria carneonivea*). *Asterochloris phycobiontica* (obr. VIII, IX) se rozmnožuje výhradně zoosporami a aplanosporami, nikdy nejsou přítomny autospory. Tento rozdíl ji rozlišuje od rodu *Axilosphaera*, který je znám svou produkcí autospor. Taktéž jsou veliké rozdíly mezi morfologií zoospor u těchto dvou rodů. *Axilosphaera* produkuje zoospory, které jsou pokryty membránou, mají stigma a dvě pulzující vakuoly. Zoospory *Asterochloris* tyto znaky nemají. Od rodu *Trebouxia* se *Asterochloris* odlišuje parietálním, radiálně laločnatým miskovitým chloroplastem, který obsahuje jeden až sedm pyrenoidů (Tschermak-Woess 1980). Později rozdělila rod *Trebouxia* na dva podrody *Trebouxia* a *Eleutherococcus*. Pro podrod *Eleutherococcus* je typická úplná absence autospor. Zároveň převedla *Asterochloris phycobionta* do rodu *Trebouxia* podrod *Eleutherococcus* pod jménem *Trebouxia phycobiontica*. Autorka publikace si je vědoma možné budoucí reklasifikace těchto podrodů. V takovém případě navrhuje rozdělení do samostatných rodů, přičemž rod specifický absencí autospor by byl přejmenován na *Asterochloris* (Tschermak-Woess 1989).




Obrázek VIII. Nákres řasy *Asterochloris phycobiontica* přímo ze stélky *Varicellaria carneonivea* – podle živého vzoru (převzato z Tschermak-Woess 1980)




Obrázek IX. *Asterochloris phycobiontica*, uprostřed nahoře mladé sporangium, pod ním staré sporangium, obě s charakteristickým zesílením buněčné stěny (převzato z Tschermak-Woess 1980)

Reklasifikace rodu *Trebouxia* s nástupem molekulárních technik skutečně přišla a u mnoho druhů zpochybnila jejich taxonomické postavení. Friedl (1995) na základě 18S rDNA sekvence předpokládal, že rod *Trebouxia* je parafyletický. Až novější studie (Skaloud a Peksa 2010), však dokázala tuto myšlenku potvrdit. Autoři této studie na základě ITS rDNA a aktin sekvencí rozdělují rod *Trebouxia* na *Trebouxia* a *Asterochloris*. Jelikož byl rod *Trebouxia* již dříve rozdělen na rody *Trebouxia* a *Pseudotrebouxia* (Archibald 1975), vyvstává otázka, jaké jméno by měl nový rod nést. Rod *Pseudotrebouxia* byl popsán dříve a má tak z taxonomického hlediska přednost. Avšak Gärtner (1985) na základě svých pozorování usuzuje, že rod *Pseudotrebouxia* je ve skutečnosti synonymický s rodem *Trebouxia*, jelikož Archibald do rodu *Pseudotrebouxia* nezařadil ani jednoho zástupce rodu *Asterochloris*. Ve skutečnosti náleželi všichni zástupci rodu *Pseudotrebouxia* do rodu *Trebouxia*. Pozdější studie založené na molekulární taxonomii toto rozhodnutí potvrzují (Kroken a Taylor 2000) a rod *Pseudotrebouxia* tak přestává být obecně uznávanou taxonomickou jednotkou. Oproti tomu rod *Asterochloris* si získal své právoplatné místo v taxonomii a nyní obsahuje již 18 formálně popsaných druhů (Guiry 2024).

# 3. Ultrastrukturní znaky

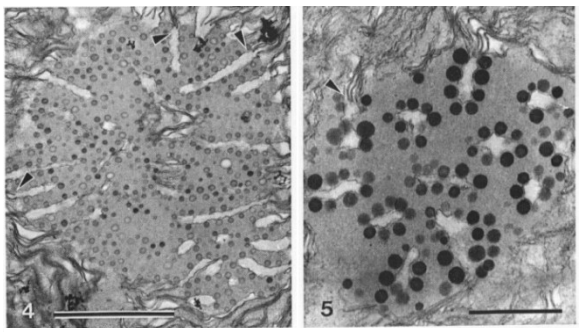
V dubnu roku 1931 byl Ernstem Ruskou a Maxem Knollem vynalezen první elektronový mikroskop. Zprvu elektronové mikroskopy nedokázaly poskytnout dobré a čisté snímky pod velikým zvětšením (Ruska 1987). Postupem času se ale technologie zlepšila a otevřela celou škálu nových možností. A tak se začalo na lišejníky a jim příslušné řasové partnery nahlížet pod ještě větším drobnohledem.

Elektronová mikroskopie byla využívána k objasnění mnoha otázek, jako například zda se vyskytuje zoosporogeneze uvnitř lišejníkové stélky, nebo jaký charakter má vztah mezi mykobiontem a fotobiontem (Slocum et al. 1980; Honegger 1986). Postupem času se elektronová mikroskopie začala využívat i k vyjasnění fylogenetických vztahů a lepší definici druhů. Důležitost cytologie v taxonomii jednobuněčných řas zmiňují například (Ettl a Gärtner 1984). Melkonian a Peveling (1988) dokázali na základě ultrastruktury zoospor potvrdit, že rody *Trebouxia* a *Pseudotrebouxia* jsou si velmi blízce příbuzné. Uvádějí však, že k rozlišení řas do příslušných druhů je potřeba znát kromě morfologie zoospor i strukturu buněčné stěny, chloroplastu a pyrenoidu.

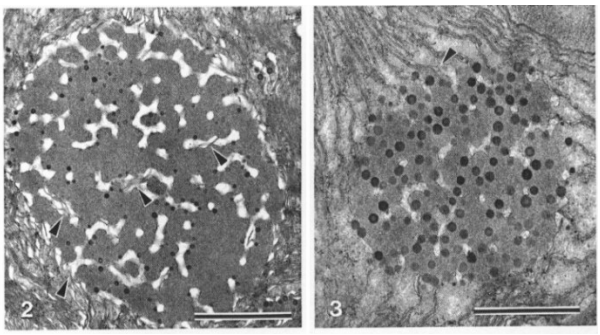
Struktura pyrenoidu byla popisována, jak za pomocí světelné mikroskopie (Tschermak-Woess 1978), tak za pomocí elektronové mikroskopie (Jacobs a Ahmadjian 1971), ale vždy bez snahy použít ji v taxonomii tohoto rodu. Až Friedl (1989) studií 26 tehdy popsaných druhů uspořádal morfologickou diverzitu pyrenoidů pro taxonomické účely. Uvádí, že kultury rostoucí na organickém i anorganickém médiu mají totožnou morfologii pyrenoidů s řasami přímo získanými z lišejníkové stélky. Pro pozorování ultrastruktury pyrenoidu nejsou vhodné buňky, které jsou před dělením, mladé vegetativní buňky a zoospory. Popsal osm typů pyrenoidů, z nichž každý nese jméno po jednom charakteristickém zástupci a sdružuje více druhů do větší taxonomické jednotky.

## 3.1 *Gigantea*-type a *impressa*-type:

Tyto dva typy jsou si velmi podobné. U obou typů zasahují do matrix pyrenoidu tubuly vnější lamely tylakoidů. Liší se ve tvaru těchto tubulů. U typu *impressa* tylakoidní membrána tvoří nevětvené tubuly, které se na základě řezu jeví dlouhé nebo krátké (obr. X), kdežto u typu *gigantea* jsou tubuly rozvětvené (obr. XI). *Gigantea* typ pyrenoidu byl nalezen u druhů *T. gigantea*, *T. asymmetrica*, *T. incrustata* a *T. showmanii. Impressa* typ u druhů *T. impressa*, *T. flava*, *T. potteri*, *T. jamesii*, *T. simplex*. Chloroplasty všech těchto druhů obsahují několik pyrenoidů.



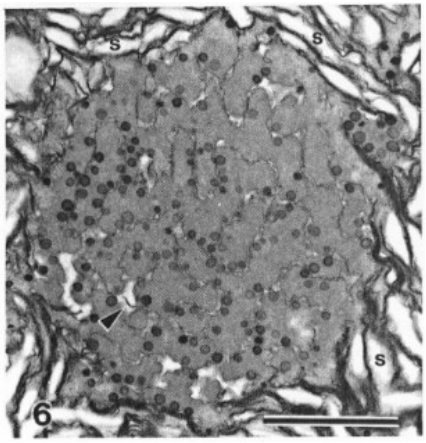

Obrázek X. *Impressa*-type pyrenoid, 4. pyrenoid druhu *Trebouxia impressa*, 5. pyrenoid druhu *Trebouxia jamesii* (převzato z Friedl 1989)




Obrázek XI. *Gigantea*-type pyrenoid, 2. pyrenoid u druhu *Trebouxia showmanii*, 3. pyrenoid u druhu *Trebouxia gigantea* (převzato z Friedl 1989)

## 3.2 *Arboricola*-type:

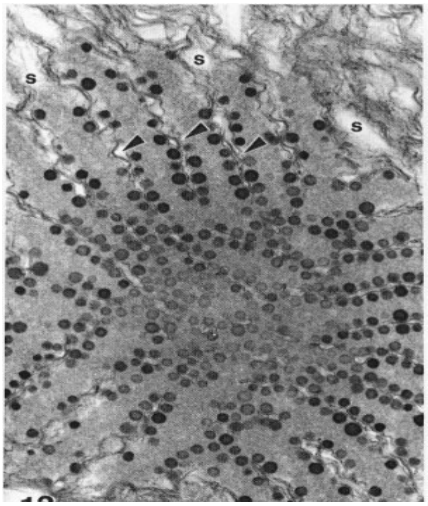
Sem Friedl (1989) řadí druhy *T. arboricola*, *T. decolorans*, *T. aggregata* a *T. crenulata.* Pyrenoid těchto druhů je charakteristický dlouhými meandrujícími invaginacemi v matrix (obr. XII). U autospor a zoospor není možné tuto morfologii pozorovat. Buňky obsahují více pyrenoidů.




Obrázek XII. *Arboricola*-type pyrenoid u druhu *T. aggregata* (převzato z Friedl 1989)

## 3.3 *Gelatinosa*-type:

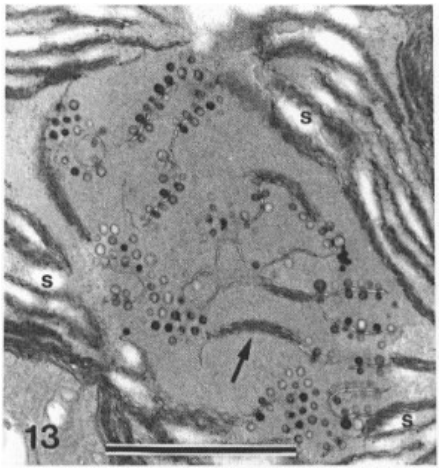
U tohoto typu matrixem pyrenoidu prochází úzké tubuly, které jsou paralelně uspořádány (obr. XIII). Toto paralelní uspořádání lze částečné pozorovat u mladých autospor. Těmito tubuly velmi často prochází jedna tylakoidní membrána chloroplastu. Chloroplast obsahuje vždy jen jeden pyrenoid. Typ *gelatinosa* nalezneme u druhů *T. gelatinosa* a *T. anticipata*.




Obrázek XIII. *Gelatinosa*-type pyrenoid u druhu *Trebouxia gelatinosa* (převzato z Friedl 1989)

## 3.4 *Irregularis*-type:

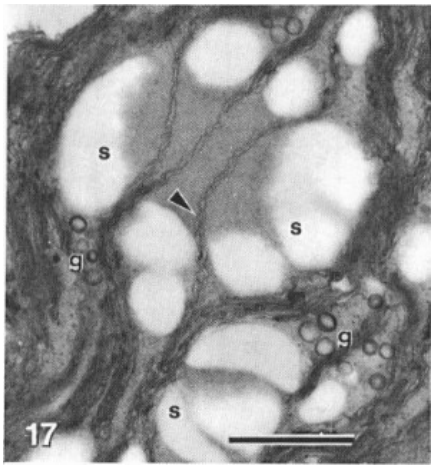
Pyrenoidy typu *irregularis* jsou těžší na rozpoznání, neboť se objevují v různých formách. Úzké zahnuté tubuly pronikají do matrix pyrenoidu, kde se s nimi spojují četné pyrenoglobule (obr. XIV). Avšak často se pyrenoglobule koncentrují na periferiích matrix. Občas jsou přítomny normální tylakoidy, které normálně nacházíme v chloroplastu, uvnitř matrix pyrenoidu. Řasy s tímto typem (*T. irregularis*, *T. excentrica*, *T. glomerata*, *T. italiana* a *T. pyriformis*) obsahují pouze jeden pyrenoid.




Obrázek XIV. *Irregularis*-type pyrenoid u druhu *Trebouxia italiana* (převzato z Friedl 1989)

## 3.5 *Corticola*-type:

Od ostatních typů je snadno rozlišitelný kvůli depozici škrobu v těsném okolí pyrenoidu (ostatní typy ukládají škrob mezi tylakoidy chloroplastu) a úplné absenci pyrenoglobulí v matrix pyrenoidu. Matrix prochází dlouhé nevětvené tubuly (obr. XV). Řadíme sem druhy *T. corticola*, *T. galapagensis*, *T. higgisiae* a *T. usneae*. Chloroplast obsahuje několik pyrenoidů.

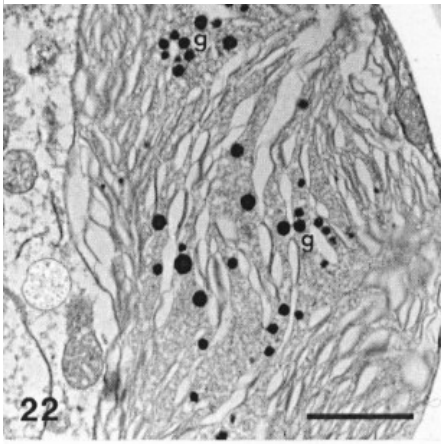



Obrázek XV. *Corticola*-type pyrenoid u druhu *Trebouxia corticola* (převzato z Friedl 1989)

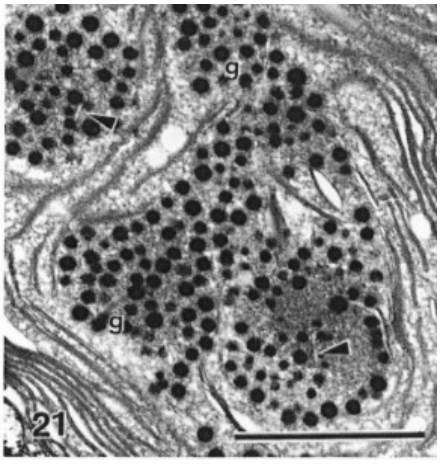
### 3.6 *Erici*-type a *magna*-type:

Oba tyto typy obsahují pouze jeden druh (*T. erici, T. magna*). Pyrenoidy se netvoří (matrix pyrenoidů není odlišitelná od stromatu chloroplastu). Tato charakteristika odlišuje tyto typy od všech ostatních. U druhu *T. erici* (obr. XVI) se vyskytuje více pyrenoglobulí než u druhu *T. magna* (obr. XVII).

Obrázek XVI. *Magna*-type pyrenoid (převzato z Friedl 1989)




Obrázek XVII. *Erici*-type pyrenoid (převzato z Friedl 1989)




# 4. Molekulární taxonomie

V roce 1966 položil Willi Hennig základy kladistiky. Kladistika je taxonomický systém, ve kterém druhy spojují tzv. synapomorfie, neboli znaky zděděné od nejbližšího společného předka. Zároveň by měl být taxon monofyletický, tj. měl by obsahovat společného předka a všechny jeho potomky. Kladistika byla zprvu kontroverzním tématem mezi vědci, ale postupem času, hlavně s rozvojem molekulárních technik, se stala nepostradatelnou součástí systematické práce (Manktelow 2010). Sekvenace DNA umožnila nejen zakotvení kladistiky v systematické práci, zároveň otevřela nové dveře v molekulární taxonomii.

V této části je nasnadě rozlišit tři pojmy. Prvním z nich je pojem „morfospecies“, zde překládaný jako morfotyp. Morfotyp je předpokládaný druh popsaný na základě pozorování morfologických znaků. Takovýmito znaky bývají povětšinou tvar chloroplastu (Ettl a Gärtner 1984) nebo struktura pyrenoidu (Friedl 1989). Je nutno podotknout, že morfotyp může obsahovat mnohem více druhů než jen jeden jediný. Například v práci Helms et al. (2001) morfotyp *T. jamesii* podle genetických dat obsahuje tři rozdílné linie. Druhým pojmem je tzv. „clade“. Do cladů se sdružují jednotlivé linie a druhy podle molekulárních dat. Nejčastěji na základě ITS sekvencí (Bhattacharya et al. 1996; A. Beck et al. 1998; Kroken a Taylor 2000; Skaloud a Peksa 2010; Muggia et al. 2020). Clady tak slouží jako jakési organizační jednotky

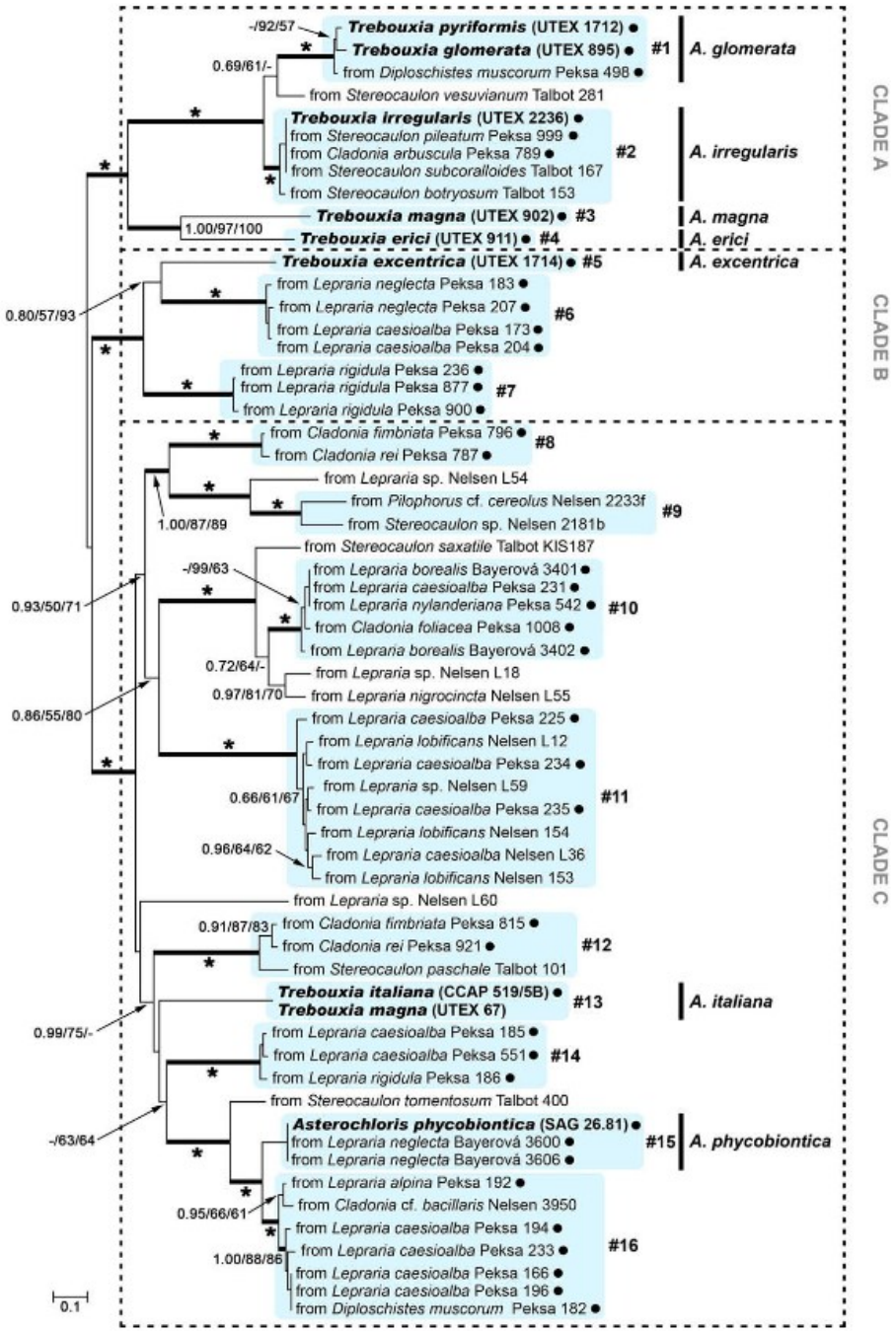
v taxonomii. Posledním pojmem je „operational taxonomic unit“, neboli „OTU“. OTU se využívá nejčastěji ve výzkumu mikrobiálních společenstev, kde je popis druhů na základě morfologie víceméně nemožný (Blaxter et al. 2005; Caron et al. 2009). U zelených řas z rodu *Trebouxia* se jedny z prvních OTU objevují u morfotypu *Trebouxia corticola* (Ohmura et al. 2006), kde jednotlivé OTU představují odlišné genotypy. V novější studii (Leavitt et al. 2015) byly OTU definovány pomocí automatické delimitace druhů na základě metody ABGD (automatic barcode gap discovery). ABGD pomocí nalezení tzv. „barcode gap“ vymezí hranici, kde končí vnitrodruhová diverzita a začíná mezidruhová diverzita. Rozdělením předpokládaných druhů do OTU se taxonomie rodu *Trebouxia* stala přehlednější (Muggia et al. 2020).

## 4.1 Rozdělení rodů *Trebouxia* a *Asterochloris*

Rod *Trebouxia* byl na základě morfologie nejprve řazen do řádu Chlorococcales (Archibald 1975) později do Chlorellales (Ettl a Gärtner 1984) a následně do Microthamniales (Friedl a Zeltner 1994). To se však s nástupem molekulárních technik mění, jelikož Friedl (1995) zjišťuje na základě sekvenace 18S rDNA genu, že řád Microthamniales je monofyletický a představuje samostatnou třídu zelených řas. Na základě těchto nových poznatků zakládá nové taxony, třídu Trebouxiophyceae a řád Trebouxiales, kam řadí všechny druhy rodu *Trebouxia*. Většina druhů patřící do této třídy jsou terestrické řasy nebo řasy tvořící symbiotický vztah s lišejníky. Například rody *Trebouxia*, *Myrmecia*, *Chlorella* a *Dictyochloropsis*. Friedl zároveň předpokládá jakousi taxonomickou chybu, jelikož druh *Trebouxia magna* si je více příbuzný s druhy z rodu *Myrmecia* než s jakýmkoliv jiným druhem z rodu *Trebouxia*. Pozdější studie (Friedl a Rokitta 1997) založená na analýze sekvence velké ribosomální podjednotky (26S rDNA), ukazuje na monofyletický původ druhů s centrálně lokalizovaným chloroplastem a jasně rozlišitelnými pyrenoidy. Friedl nazývá tuto skupinu „*Trebouxia* cluster“. Mimo leží již výše zmíněný druh *Trebouxia magna* a druh *Trebouxia erici*. Lehčí náznaky, že by se mohlo jednat o jiný rod, tu byly již před nástupem molekulárních technik. Například u obou druhů není přítomen jasně rozlišitelný matrix pyrenoidu (Friedl 1989). Další důležitou nápovědou je pozice chloroplastu před autosporogenezí, která je u obou druhů parietální (Ahmadjian 1960; Gärtner 1985). Tyto charakteristiky se týkají více druhů v rodě *Trebouxia*. Friedl proto navrhuje pokračovat v sekvenování rDNA a v budoucnu možné etablování nového nezávislého rodu. Rambold et al. (1998) tuto myšlenku dále prohlubuje ve své práci, která je zaměřená na fylogenetický význam specifity mykobiontů vůči svým fotobiontům. Ukazuje se, že řasy z tzv. „*Trebouxia*

clade“ jsou specificky vybírány lichenizujícími houbami z podřádu Lecanoriineae, kdežto řasy z budoucího rodu *Asterochloris* houbami z podřádu Cladoniineae. Přítomné skupiny řas se tak liší nejen ve své genetice, ale mají i fundamentálně odlišné ekologie. Krom 18S rDNA a 26S rDNA se k rozlišování druhů začali používat vysoce variabilní ITS rDNA sekvence, které se liší i mezi velmi příbuznými druhy. ITS rDNA, neboli internal transcribed spacer, je velmi variabilní genetický marker nacházející se mezi jadernou 18S a 26S rDNA neboli mezi geny kódujícími malou a velkou ribosomální podjednotku (Powers et al. 1997). Díky své vysoké variabilitě je ideálním genetickým markerem pro rekonstrukci fylogenetických stromů a determinaci taxonomické identity. Používá se k vyjasnění fylogenetických vztahů mezi velmi odlišnými skupinami organismů od savců (Coleman 2013)přes komáry (Marrelli et al. 2006) až po nematody (Powers et al. 1997), houby (Kretzer et al. 1996; Sugita et al. 2000; Abarenkov et al. 2018) a ruzné druhy řas (Zechman et al. 1994; Stern et al. 2012; Jeong et al. 2023). Samozřejmě výjimkou není ani rod *Trebouxia*, jehož taxonomie je z velké části založena právě na ITS sekvencích. Piercey-Normore a DePriest (2001) dokázali ustanovit novou skupinu *Asterochloris* v rodě *Trebouxia*. Nová skupina *Asterochloris* je rozdělena do dvou cladů. Clade I obsahuje druhy *T. irregularis, T. pyriformis* a *T. glomerata* spolu s dalšími nepopsanými genotypy a clade II druh *T. excentrica*. *Asterochloris* se vyskytuje jako častý fotobiont u čeledi Cladoniaceae (Rambold et al. 1998; Piercey-Normore a DePriest 2001), tudíž zkoumání lišejníků právě z této skupiny napomohl k rozlousknutí taxonomie tohoto rodu. Výzkumem druhů *Cladonia* z Floridy Yahr et al. (2004) prohlubuje dřívější znalosti a na základě fylogenetické analýzy pomocí genetického markeru ITS rDNA identifikuje 25 odlišných genotypů. Ty se dají rozřadit do dvou cladů. Clade I a II jsou totožné s clady v práci (Piercey-Normore a DePriest 2001). Yahr et al. (2004) rozděluje clade II na dva subclady IIa a IIb. Do cladu IIb spadá druh *T. magna*. Další prací na fotobiontech u lišejníků z čeledi Cladoniaceae za použití dalších *Asterochloris* sekvencí z GenBank pomocí fylogenetické analýzy dostáváme tři clady. První dva se shodují s výše popsanými clady. Do nového cladu III spadá druh *Trebouxia erici* (Cordeiro et al. 2005). Avšak nedošlo k žádné taxonomické změně, tudíž i v následujících pracích patří tyto řasy do rodu *Trebouxia*, ve kterém tvoří skupinu *Asterochloris* (sensu Beck et al. 1998). V roce 2006 Rebecca Yahr rozšiřuje svoji práci z roku 2004 a obohacuje clade II o nové subclady IIc a IId (Yahr et al. 2006). Až rokem 2010 se skupině *Asterochloris* dostalo zasloužené pozornosti a konečně byla ustanovena jako právoplatný rod. Krom ustanovení nového rodu proběhlo i několik dalších taxonomických změn. Druhy *T. irregularis, T. excentrica T. erici, T. magna* (UTEX 902) byly

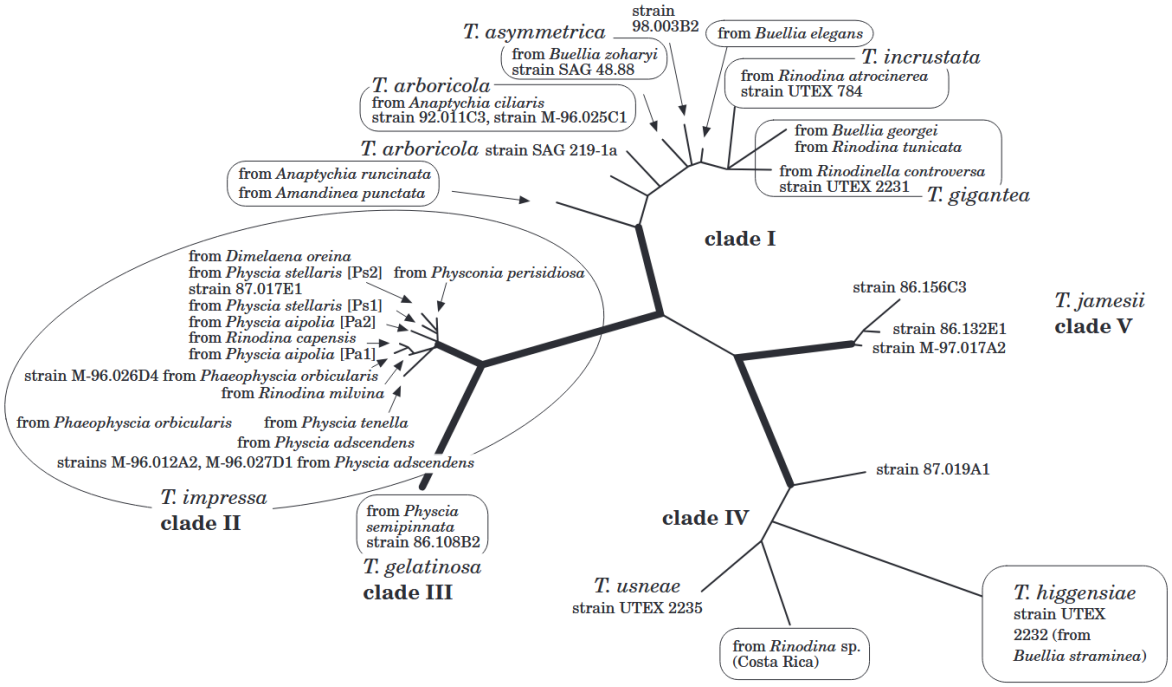
přejmenovány na *Asterochloris irregularis, A. excentrica A. erici, A. magna*. Některé druhy byly zároveň přejmenovány a sloučeny. Druhy *T. glomerata* a *T. pyriformis* nesou nové jméno *Asterochloris glomerata* a druhy *T. italiana* a *T. magna* (UTEX 67) jsou přejmenovány na *Asterochloris italiana* (obr. XVIII). Typovým druhem pro tento rod je *Asterochloris phycobiontica* (Skaloud a Peksa 2010). Později se ukazuje, že i v tomto rodě je obrovské množství kryptické diverzity a nepopsaných druhů (Škaloud et al. 2015).




Obrázek XVIII. Nezakořeněná BI analýza založená na aktin + ITS sekvencích (převzato z Škaloud et al. 2010)

## 4.2 Taxonomie rodu *Trebouxia* sensu stricto

První taxonomická studie založená na ITS sekvencích byla publikována v roce 1996 (Bhattacharya et al. 1996). Tato data ukazují, že rod *Trebouxia* je složen ze čtyř jasně odlišitelných linií (*T. jamesii*, *T. arboricola*, *T. usneae* a *T. gelatinosa*). Pozdější práce (Beck et al. 1998) navazuje na již zjištěné ITS rDNA sekvence a objevuje velkou variabilitu těchto sekvencí u jednotlivých druhů. Například uvádí, že průměrná genetická distance u druhu *T. arboricola* je 0,05338 (rozdíl až ve 40 pozicích nukleotidů). Beck ze svých genetických dat dokázal jasně odlišit pět cladů (*T. jamesii*, *T. arboricola*, *T. usneae*, *T. impressa* a *T. gelatinosa*). Studie (Kroken a Taylor 2000) založená na ITS rDNA a aktin sekvencích ukázala stejné výsledky, přičemž každý clade koresponduje s daným typem pyrenoidu. Jedinou výjimkou je *impressa*-type, který se vyskytuje u dvou nesesterských cladů *T. jamesii* a *T. impressa*. Mimo jiné každý clade obsahuje velkou variabilitu v ITS rDNA sekvencích, což poukazuje na možné kryptické druhy. Nejvíce variabilní byl clade *T. jamesii*, u kterého autoři prozatímně popisují dva nové druhy. *T. „letharii“*, který asociuje s lišejníky *Letharia „lupina“, L. „gracilis“, L. „rugosa“, L. „barbata“* a *L. „lucida“* a *T. vulpinae* nalezený u lišejníku *Letharia vulpina*. Helms et al. (2001) zkoumali diverzitu lišejníkových fotobiontů u čeledě Physciaceae. ITS rDNA byla amplifikována u 20 lišejníků z různých geografických oblastí. Fylogenetické stromy ukázaly přítomnost stejných pěti cladů jako v pracích Beck et al. (1998) a Kroken a Taylor (2000). Clady byly pojmenovány římskými číslicemi od I do V (obr. XIX), přičemž clade II koresponduje s morfotypem *T. impressa*, clade III s morfotypem *T. gelatinosa* a clade V s *T. jamesii*. V cladu I jsou morfotypy rovnou čtyři (*T. arboricola, T. asymmetrica, T. incrustata* a *T. gigantea*) a u cladu IV dva (*T. usneae* a *T. higginsiae*). Zároveň v cladu IV byla zjištěna mnohem větší genetická distance (0,264, pro porovnání clade II má 0,037) než u jiných cladů. Clade IV by tak mohl obsahovat potenciálně nový nepopsaný clade. Helms (2003, cit. podle Blaha 2006) upravuje názvy cladů a místo římských číslic pojmenovává clady písmeny. Clade A podle druhu *T. arboricola*, clade I podle *T. impressa*, clade S podle *T. simplex* a clade G podle druhu *T. galapagensis*. Clade G jako jediný z výše uvedených cladů dnes nese jiný název, a tím je clade C podle druhu *T. corticola* (Muggia et al. 2020).

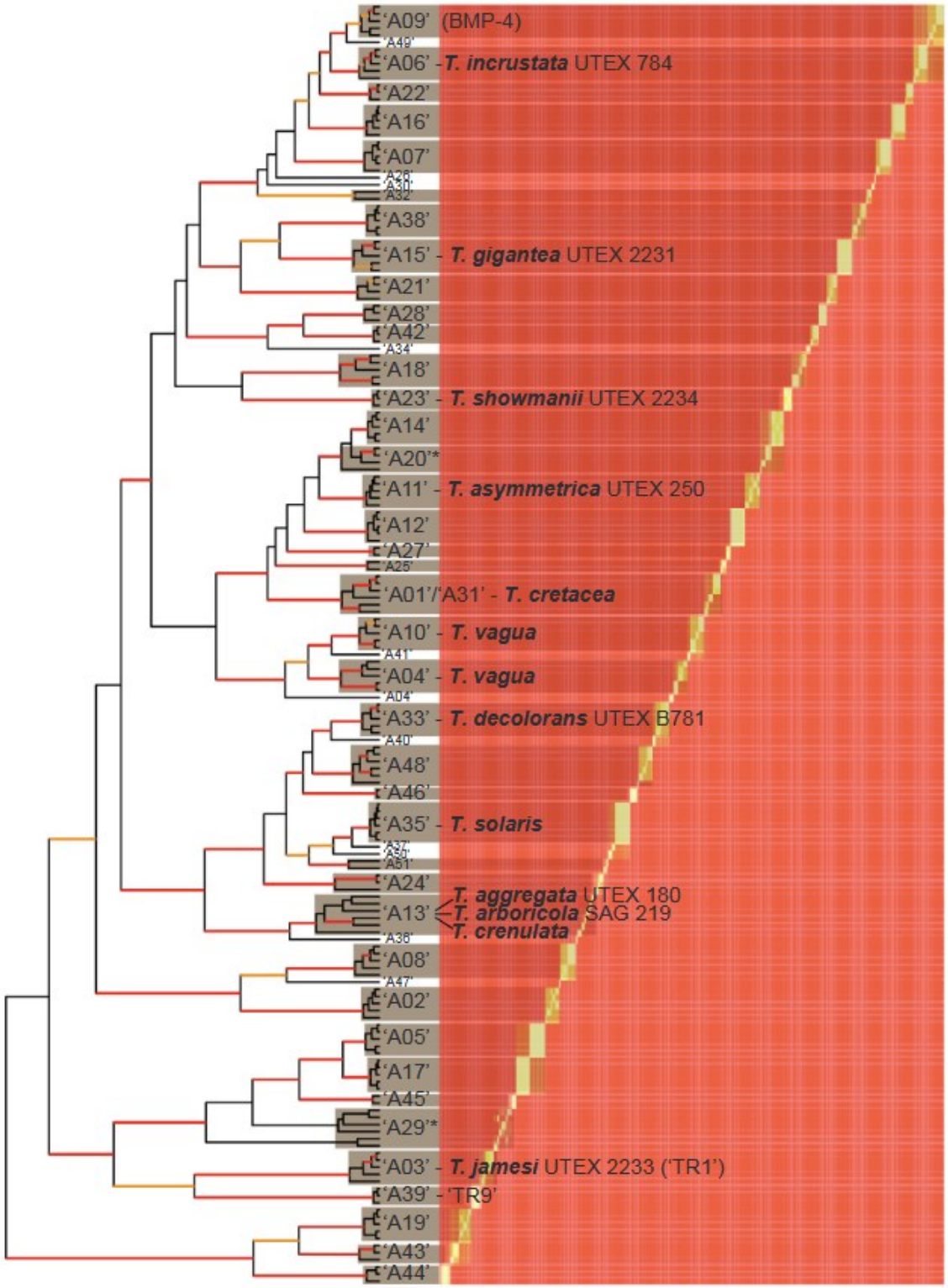



Obrázek XIX. Nezakořeněná fylogeneze fotobiontů založená na ITS rDNA z čeledi Physciaceae a korespondujících sekvencí z *Trebouxia* kultur (převzato z Helms et al. 2001)

## 4.3 Clade A (*arboricola*)

Helms et al. (2001) řadí do cladu A druhy *T. arboricola, T. asymmetrica, T. incrustata* a *T. gigantea*. Specifickou inzercí v ITS-2 rDNA regionu (mezi pozicí 509 a 510) se liší druhy *T. gigantea* od *T. incrustata*. Všechny kmeny *T. arboricola* se lišily od ostatních unikátní sekvencí v ITS-2 rDNA na pozicích 593-607. Fylogenetický strom založený taktéž na ITS rDNA sekvencích fotobiontů z lišejníkového rodu *Umbilicaria* nasbíraných na Antarktickém poloostrově (Romeike et al. 2002) ukázal přítomnost stejných pěti cladů jako u (Helms et al. 2001). Každý z těchto cladů byl podpořen bootstrapovou hodnotou větší než 70 %. Krom výše popsaných druhů do cladu A spadá i druh *Trebouxia showmannii* a tři nové genotypy popsané jako Antarctic B z lišejníku *Umbilicaria antarctica*, Antarctic D taktéž z lišejníku *U. antarctica* a Antarctic B z lišejníku *U. decussata*. Schaper a Ott (2003) do cladu A přiřazují fotobionty lišejníků *Fulgensia bracteata, Fulgensia fulgens* a *Toninia sedifolia*. Cordeiro et al. (2005) dokazuje, že clade A je 100 % geneticky podpořen. Mimo to do tohoto cladu připisuje dva nové fotobionty z lišejníků *Ramalina farinaceae* a *R. fraxinea*. Ostatní druhy zůstávají stejné jako u (Helms et al. 2001; Romeike et al. 2002). Blaha et al. (2006) do cladu A řadí několik odlišných fotobiontů lišejníku *Lecanora rupicola*. Clade A je dále rozdělen do

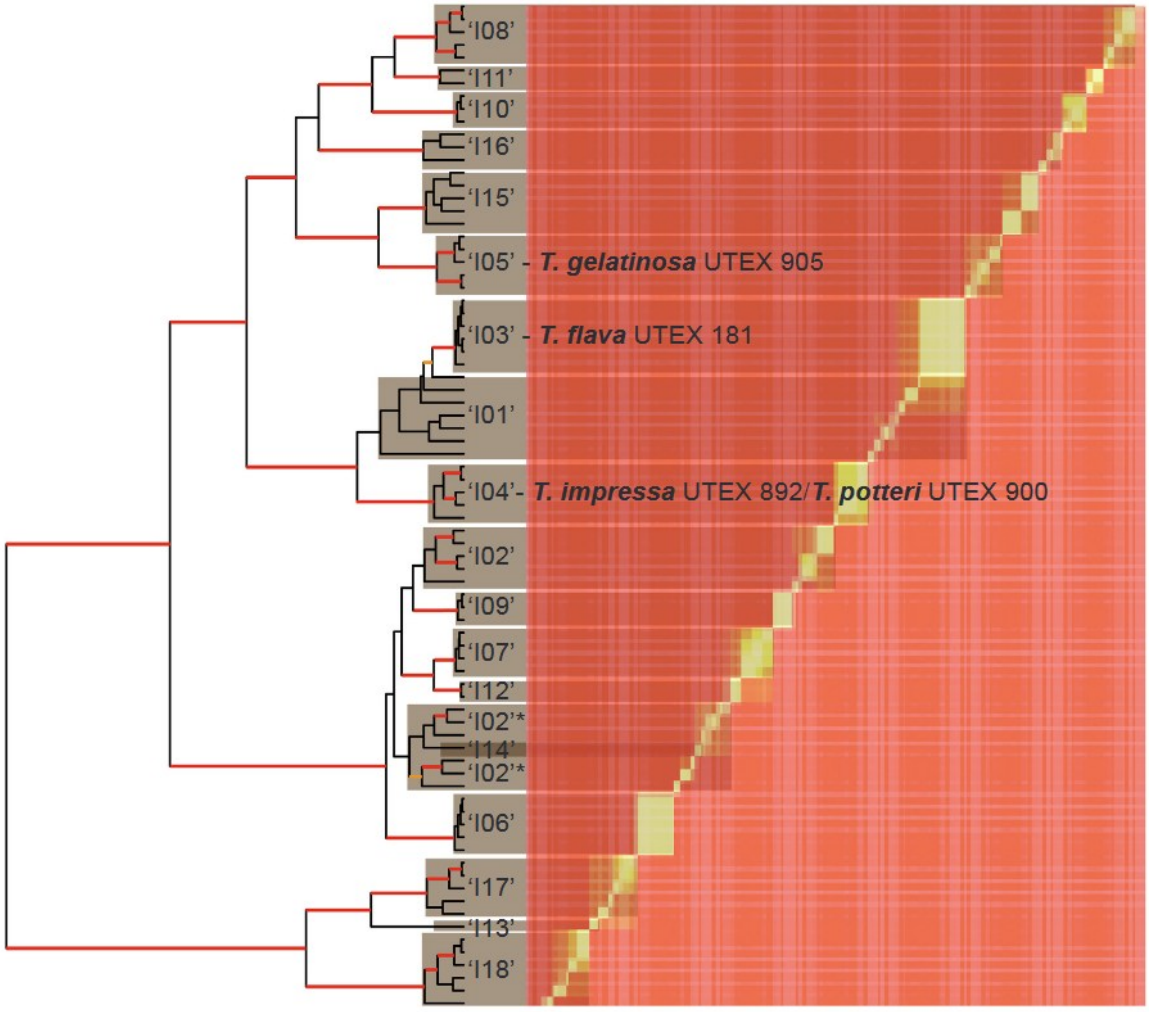
několika subcladů: *T*. spec. 3, *T. decolorans*, *T*. spec. 2, *T. incrustata* a *T*. spec. 1. Některé genotypy *T. decolorans* jsou velmi podobné druhu *T. arboricola*. Muggia et al. (2008) subclade *T. decolorans* nazývá *T. arboricola*/*decolorans* a do *T*. spec. 1 a *T*. spec. 2 subcladů přiřazuje mnoho nových sekvencí fotobiontů z lišejníkového komplexu *Tephromela atra*, přičemž subclade *T.* spec. 1 je sesterský ke druhu *T. arboricola* a subclade *T.* spec. 2 tvoří odlišnou linii. Fylogenetická analýza (Hauck et al. 2007) ukázala velmi blízkou příbuznost druhů *T. arboricola* a *T. aggregata*. Autoři studie dokonce přiznávají, že by se mohlo jednat o jeden druh. Do blízkosti cladu A spadá druh *T. jamesii* subsp. *jamesii*. Výzkum lišejníku *Thamnolia vermicularis* (Nelsen a Gargas 2009) opětovně ukazuje, že lišejníky stejného druhu mohou asociovat s fotobionty z velmi odlišných linií. Stélka lišejníku nalezeného v Číně obsahovala fotobionty z cladu A, kdežto ostatní stélky z jiných geografických oblastí obsahovaly fotobionty z cladů S a I. I přes výrazný nárůst nových referenčních sekvencí v databázi Genbank se málokdy popisují nové druhy (Cole et al. 2009). Hlavním důvodem je, že nový druh je velmi těžké charakterizovat jednak geneticky, a zároveň morfologicky. Například subclade *T*. spec. 1 nemohl být na základě ultrastrukturních znaků odlišen od ostatních druhů a u subcladu *T*. spec. 2 nebyla možná kultivace za normálních podmínek. Fylogenetické rekonstrukce ukázaly blízkou příbuznost těchto dvou subcladů k druhu *T. arboricola*/*decolorans* (Muggia et al. 2010). Přelomovou událostí taxonomie rodu *Trebouxia* byla práce (Leavitt et al. 2015). Zde autoři prezentují nový přístup k taxonomii tohoto rodu. Použitím ABGD analýzy získávají 69 OTU pro clady A, S, I a G. Nejvíce OTU bylo právě v cladu A (34 OTU). Všechny OTU v této studii představují pouze kandidátské druhy. I přesto je toto nejlepší způsob, jak vyřešit složitou taxonomickou situaci rodu *Trebouxia,* a proto je využíván dodnes. V cladu A od té doby přibylo mnoho OTU (Muggia et al. 2020; Kosecka et al. 2022; Barreno et al. 2022; De Carolis et al. 2022; Gasulla et al. 2025; Chiva et al. 2025). Avšak velmi málo nových druhů bylo formálně popsáno (obr. XX). Voytsekhovich a Beck (2016) popisují tři nové druhy *T. solaris, T. vagua* a *T. cretacea*, Garrido-Benavent et al. (2022) druh *T. maresiae*, Barreno et al. (2022) druh *T. lynnae* a Chiva et al. (2025) druh *T. valentina*. Druhy *T. arboricola, T. crenulata* a *T. aggregata* patří do jednoho OTU (Leavitt et al. 2015).




Obrázek XX. Multi-lokusová fylogenetická analýza u druhů rodu *Trebouxia* patřících do cladu A (převzato z Muggia et al. 2020)

## 4.4 Clade I (*impressa*)

Helms et al. (2001) do tohoto cladu řadí druh *T. impressa* a fotobionty lišejníků z rodů *Physcia, Physconia, Rinodina, Phaeophyscia* a *Dimelaena*. Uvádí také, že fotobionti tohoto rodu jsou specificky preferováni lišejníkotvornými houbami z čeledi Physciaceae. Romeike et al. (2002) umisťuje variantu Antarctic E z lišejníku *Umbilicaria kappeni* do tohoto cladu společně s řasami *T. potteri, T. flava* a *T. gelatinosa*. Přičemž ITS rDNA sekvence z Antarctic E byla, až na jednu substituci, totožná se sekvencí *T. impressa* z lišejníku *Parmelina tiliacea*. Ve studii (Cordeiro et al. 2005) byl tento clade použit jako tzv. outgroup (taxon nebo linie, jež slouží jako referenční bod k zakotvení kladogramu). Obsahoval druhy *T. potteri*, *T. impressa* a *T. flava*. Piercey-Normore (2006) pod název *T. impressa* sdružuju několik genotypů ze studií (Beck et al. 1998; Friedl et al. 2000). Blaha et al. (2006) přiřazuje do cladu I, krom klasických zástupců (*T. impressa, T. flava* a *T. potteri*), i fotobionty lišejníku *Lecanora rupicola* a *L. bicincta* nasbíraných ve Francii, Španělsku a Turecku. Fotobionti z cladu I byli také objeveni u lišejníku *Thamnolia vermicularis* z Číny (Nelsen a Gargas 2009), u mnoha lišejníků z rodů *Lecidea, Lecanora* a *Lecidella* (Ruprecht et al. 2012) a u lišejníku rodu *Xanthomendoza*. Genotyp *Trebouxia impressa* byl nalezen u *Teloschistes chrysophthalmus*, *T. hosseusianus* a *Josefpoeltia parva* (Nyati et al. 2014). Stejně jako u cladu A se s narůstajícím množstvím genetických dat fylogenetický strom cladu I rozrůstal čím dál rychleji. Leavitt et al. (2015) pro clade I uvádí 15 OTU. Druhy *Trebouxia impressa* (UTEX 892) a *Trebouxia potteri* (UTEX 900) jsou si velice genetické podobné, a spadají tak do jednoho OTU (Muggia et al. 2020). Stejně jako u cladu A bylo v minulých letech popsáno mnoho OTU (obr. XXI) (Muggia et al. 2020; Kosecka et al. 2022; Medeiros et al. 2024). Dnes jich máme konkrétně 24. I přes to máme v tomto cladu jen tři formálně ustanovené druhy *Trebouxia impressa/T. potteri, Trebouxia flava* a *Trebouxia gelatinosa*.

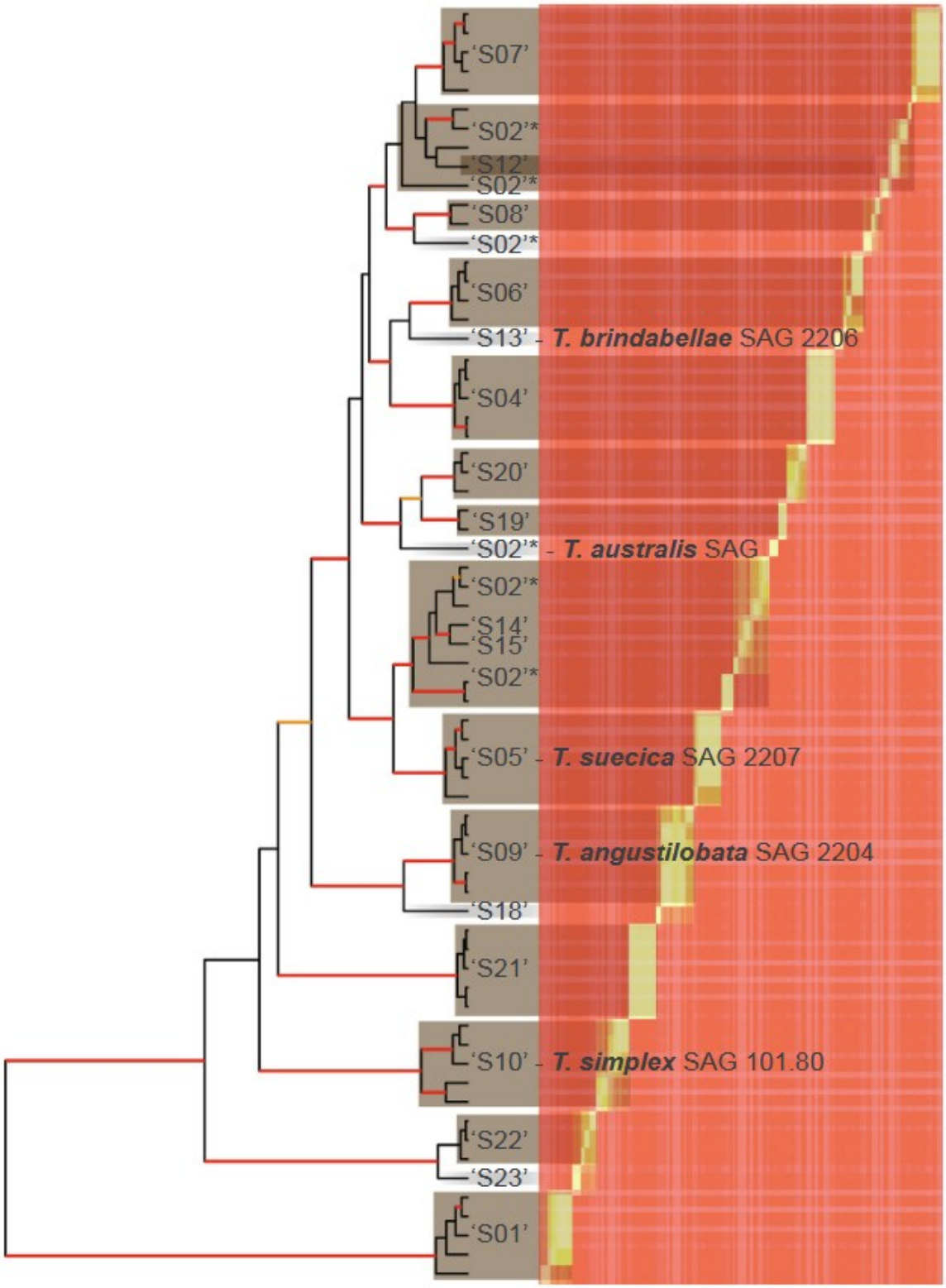



Obrázek XXI. Multi-lokusová fylogenetická analýza u druhů rodu *Trebouxia* patřících do cladu I (převzato z Muggia et al. 2020)

## 4.5 Clade S (*simplex*)

I když clade dnes nese název po druhu *Trebouxia simplex*, zprvu by se mu dalo přezdívat spíše clade J po druhu *T. jamesii*. Helms et al. (2001) do cladu S řadí právě druh *T. jamesii*. Varianta Antarctic A (Romeike et al. 2002) byla na základě morfologie určena jako *T. jamesii*. Tato varianta se vyskytovala u čtyř rozdílných druhů rodu *Umbilicaria*. Beck (2002) na základě ITS rDNA potvrzuje rozdělení rodu *Trebouxia* do čtyř skupin, přičemž zakládá tzv. *T. simplex*-group, kam řadí některé druhy spadající do *Trebouxia jamesii* morfotypu. Opanowicz a Grube (2004) výzkumem arkto-alpinského lišejníku *Flavocetraria*

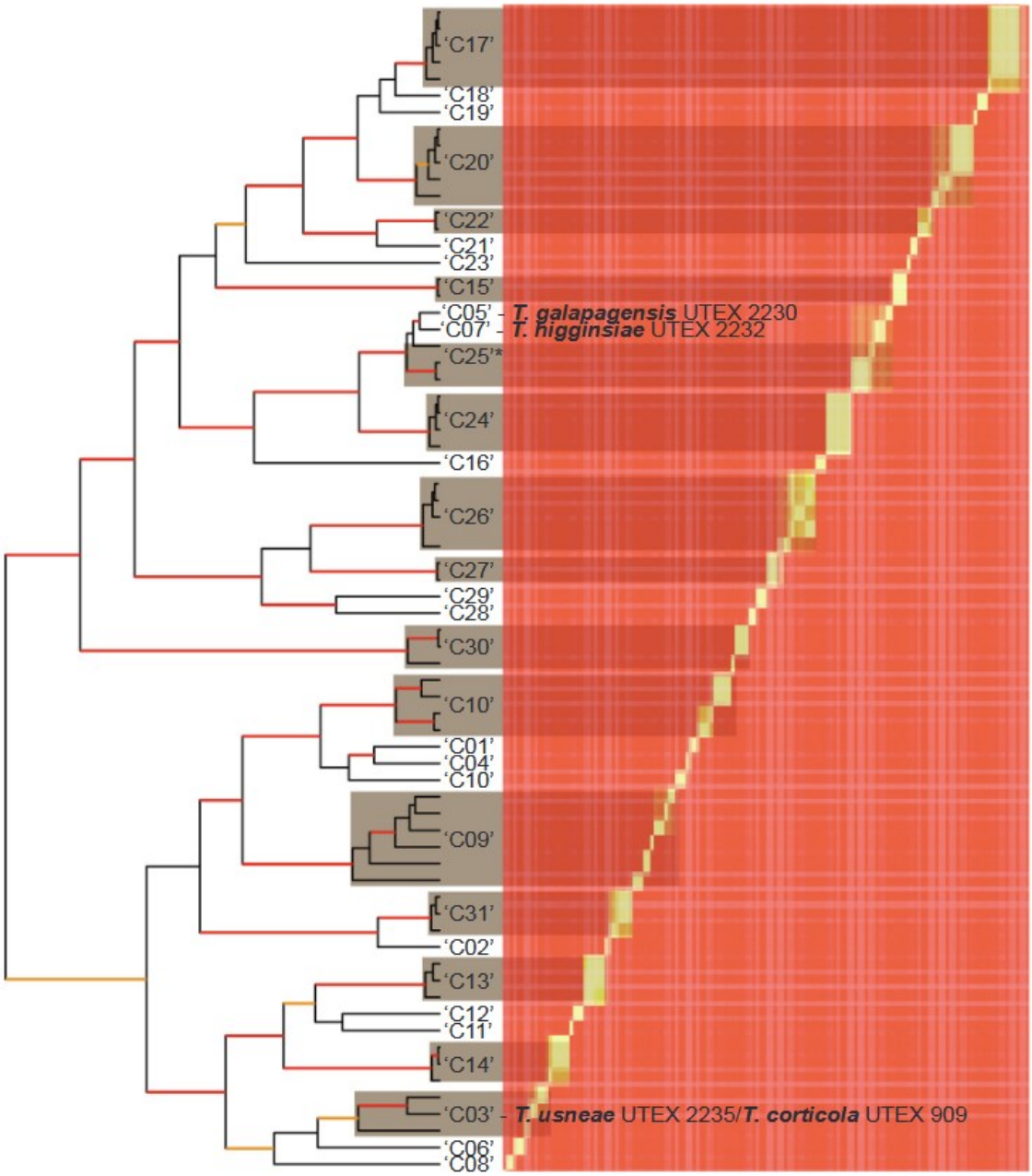
*nivalis* tuto myšlenku potvrzují a do nového agregátu řadí i druhy *T. jamesii* ze studií Romeike et al. (2002), které byly nalezeny přímo v lišejníku *Flavocetraria nivalis* a druhy *T. jamesii* od Krokena a Taylora (2000) dříve provizorně pojmenované *T.* „*letharii"*. (Beck 2002) zároveň popisuje tři nové druhy patřící do cladu S (*T. australis*, *T. brindabellae* a *T. suecica*) a pro jeden poddruh *T. jamesii* je navrženo nové jméno *Trebouxia jamesii* subsp. *angustilobata*. Posledním taxonomickým přínosem této práce je zjištění skutečnosti, že genotyp *T. jamesii* (UTEX 2233) není blízce příbuzný *T. simplex* agregátů, ale spadá do blízkosti cladu A, kam patří i podle nejnovějších fylogenetických analýz (Muggia et al. 2020). Piercey-Normore (2006) nachází v jedné stélce lišejníku *Evernia mesomorpha* souběžně několik genotypů *Trebouxia jamesii*, což poukazuje na poměrně nízkou selektivitu tohoto mykobionta. Blaha et al. (2006) bere název *T. jamesii* jako synonymum k názvu *T. simplex*. Příslušnost ke cladu S měli všichni fotobionti nacházející se ve stélkách lišejníku *L. rupicola* nalezených ve větší nadmořské výšce než 1000 m. Hauck et al. (2007) provizorně popisuje nový druh fotobionta lišejníku *Hypogymnia physodes* jako *Trebouxia hypogymniae*. Tento nový druh spadá podle ITS rDNA sekvencí do blízkosti druhu *T. jamesii* subsp. *angustilobata*. Autoři studie avizují, že by měl být druh *T. angustilobata* řádně popsán, jelikož z ITS rDNA sekvencí jasně vyplývá, že není blízce příbuzný druhu *T. jamesii* subsp. *jamesii*. Do cladu S řadí také fotobionty lišejníku *Lecanora conizaeoides*. Všichni symbionti nalezení u lišejníků z *Tephromela atra* skupiny, jejichž stélky byly sesbírány v Alpách, byli blízce příbuzní druhu *T. simplex* (Muggia et al. 2008). Symbionti lišejníku *Thamnolia vermicularis* patřili do cladů A i I, ale zdaleka nejvíce jich bylo v cladu S. Naopak u žádné stélky nebyl nalezen fotobiont z cladu G (Nelsen a Gargas 2009). Hodně nových genotypů do cladu S přibylo s prací (Piercey-Normore 2009). V cladu S se genotypy dále rozdělily podle příbuznosti ITS rDNA sekvencí do několika skupin: *T. jamesii*, *Trebouxia* sp., *T. hypogymniae*, *T. lethariae* a *T. simplex*. Nové genotypy obdržené ze stélek lišejníků čeledi Parmeliaceae byly buď příbuzné druhu *T. jamesii* subsp. *angustilobata*, nebo druhu *T. simplex*. Studie (Doering a Piercey-Normore 2009) dochází ke stejnému rozdělení, avšak celý clade S nazývá cladem *T. jamesii*. Muggia et al. (2010) clade nazývá *T. simplex/jamesii*, Leavitt et al. (Leavitt et al. 2015) pro změnu *T. simplex/letharii/jamesii*. Leavitt z ITS rDNA sekvencí pro tento clade klasifikuje 15 OTU, Muggia et al. (Muggia et al. 2020) již 24 OTU (obr. XXII). Dnes clade S obsahuje 34 popsaných OTU a šest formálně uznávaných druhů. Mezi tyto druhy patří *T. angustilobata, T. simplex, T. australis, T. suecica, T. brindabellae* a nově popsaný druh *T. barrenoae*, který je charakteristický pro lišejníky temperátních oblastí rostoucích na kyselém substrátu (Pazos et al. 2025).




Obrázek XXII. Multi-lokusová fylogenetická analýza u druhů rodu *Trebouxia* patřících do cladu S (převzato z Muggia et al. 2020)

## 4.6 Clade C (*corticola*)

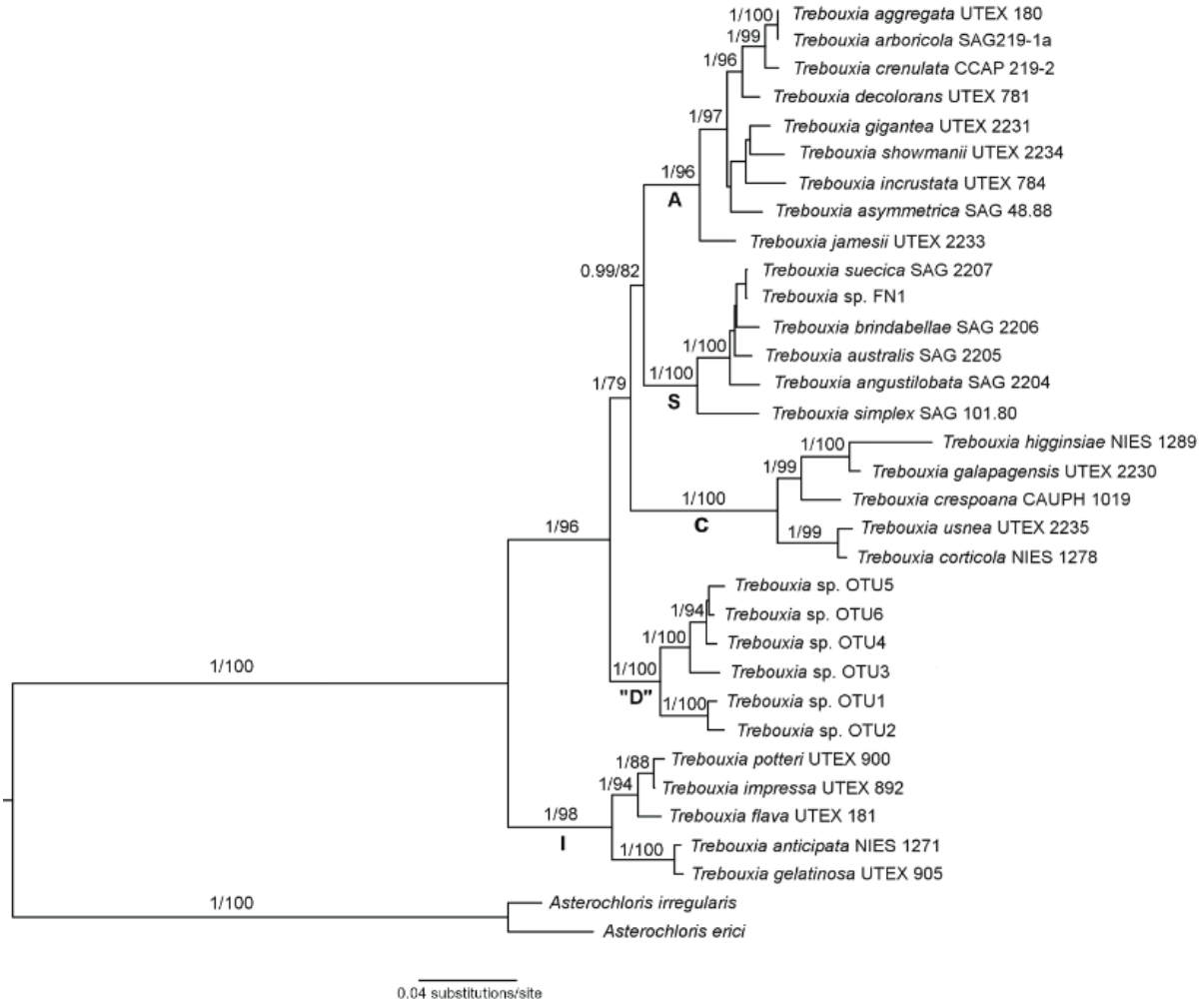
Helms et al. (2001) do cladu C řadí druh *T. usneae* (UTEX 2235) a fotobionta lišejníku rodu *Rinodina*. Romeike et al. (2002) nenacházejí příbuznost žádného z antarktických fotobiontů k tomuto cladu. Kromě druhu *T. usneae* do cladu C řadí i *T. higginsiae* (UTEX 2232) a fotobionta lišejníku *Parmotrema tinctorum*. Beck (2002) do blízké příbuznosti k druhu *T. galapagensis* (UTEX 2230) řadí druh *T. corticola* (UTEX 909) a vytváří skupinu s názvem „*corticola*-Gruppe“. *T. corticola* (UTEX 909) je velmi blízce příbuzný také s druhem *T. usneae* (UTEX 2235). Fylogenetický strom založený na ITS rDNA sekvencích ze studie (Opanowicz a Grube 2004) řadí do cladu C stejné čtyři druhy, které jsou zmíněny výše. Cordeiro et al. (2005) na základě molekulárních dat navrhují sloučení druhů *T. higginsiae* a *T. galapagensis* do jednoho. Fylogenetická analýza (Ohmura et al. 2006) objevuje několik OTU příbuzným *T. corticola* morfotypu. Konkrétně 21 genotypů popsaných písmeny od A do U. U této skupiny byla zjištěna příbuznost k druhům *T. galapagensis*, *T. higginsiae* a *T. usneae*, se kterými *T. corticola* a příslušné OTU tvoří monofyletický clade. Většina budoucích studií tomuto cladu nevěnuje velikou pozornost a používá jej jako výchozí bod fylogenetických stromů (Blaha et al. 2006; Muggia et al. 2008; Nelsen a Gargas 2009). Podle Leavitt et al. (2015) do tohoto cladu, který nazývá cladem G po druhu *T. galapagensis*, patří 7 OTU. To je nejméně ze všech cladů. Avšak ve studii (Muggia et al. 2020) clade C nese již 32 OTU, přičemž druhy *T. galapagensis* (UTEX 2230) a *T. higginsiae* (2232) jsou si velice blízce příbuzné, ale tvoří stále dva oddělené druhy. Naopak druhy *T. usneae* (UTEX 2235) a *T. corticola* (UTEX 909) tvoří dohromady jeden OTU (obr. XXIII). V roce 2018 byl popsán nový druh *Trebouxia crespoana*, který patří do cladu C (Škaloud et al. 2018). Dnes má tento clade již 45 OTU.




Obrázek XXIII. Multi-lokusová fylogenetická analýza u druhů rodu *Trebouxia* patřících do cladu C (převzato z Muggia et al. 2020)

## 4.7 Clade D (*delisei*)

Clade D je nejmladším ze všech cladů. Byl popsán teprve nedávno na základě fylogenetické studie založené na několika genetických markerech (ITS rDNA, LSU rDNA, *cox*II a *rbc*L). Obsahuje pouze 6 OTU a žádný formálně popsaný druh (obr. XXIV). Pro řádné popsání druhu *Trebouxia delisei* bude potřeba řasu kultivovat a popsat její charakteristické morfologické rysy (Xu et al. 2020).




Obrázek XXIV. Multi-lokusová fylogenetická analýza u druhů rodu *Trebouxia* patřících do cladu D (převzato z Xu et al. 2020)

# 5. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout celou poněkud složitou a zamotanou taxonomickou situaci rodu *Trebouxia* od raných popisů založených na morfologii buněk až po využití molekulárních markerů k budování přesnějších fylogenetických stromů.

Na začátku byli autoři omezeni svými možnostmi. Disponovali jen světelnou mikroskopií, a tudíž se popisy mikroskopických řas mezi různými publikacemi lišily. To vedlo k rozdílným popisům druhů a k nešťastným taxonomickým přešlapům. Jako například rozdělení rodu *Trebouxia* na rody *Trebouxia* a *Pseudotrebouxia* (Archibald 1975). Na druhou stranu zde byly i studie, které i přes omezené možnosti dokázaly správně etablovat nové taxonomické jednotky. V tomto případě mám na mysli studie Tschermak-Woess (1980, 1989), ve kterých autorka správně popisuje nový druh *Asterochloris phycobiontica* a přesouvá ho do podrodu *Eleutherococcus* v rodě *Trebouxia*. I když dnes na základě molekulárních dat víme, že patří do samostatného rodu *Asterochloris*.

S rozvojem elektronové mikroskopie začaly být popisy řas více detailní a s tím i taxonomicky přesnější. Hlavními znaky k rozlišování druhů byly tvar chloroplastu a ultrastruktura pyrenoidu. Přelomovou studií v tomto ohledu je studie (Friedl 1989). Friedl rozděluje tehdy 26 formálně popsaných druhů do osmi skupin na základě ultrastruktury jejich pyrenoidu. K řádnému popsání nového druhu se dodnes tyto morfologické charakteristiky využívají.

Kromě morfologie se s postupným rozvojem molekulárních technik začala v taxonomii používat i genetická data. Právě ta nám ukázala obrovské množství skryté diverzity v tomto rodě. S postupným sekvenováním fotobiontů z různých geografických oblastí se rozrůstalo i množství sekvencí uložených v genových bankách. Ty napomohly k tvorbě přesnějších fylogenetických stromů, ale zároveň umožnily vyvstání nové otázky: Co považovat za druh a co jenom za genotyp? Popsat nový druh jen na základě genotypu nelze. Druh musí být jasně definovaný svými morfologickými znaky. S tím se pojí velmi náročný proces kultivace a pozorování pod světelným, elektronovým, a i konfokálním mikroskopem. Proto není divu, že se dnešní taxonomie rodu *Trebouxia* vyznačuje malým počtem formálně popsaných druhů a obrovským množstvím nepopsaných genotypů. Pro větší přehlednost se genotypy sdružují do OTU na základě multilokusových fylogenetických analýz. Dnes máme v tomto rodě 33 formálně popsaných druhů (Guiry 2024) a oproti tomu 183 OTU. Do budoucna bude jednotlivých genotypů a s nimi spojenými OTU určitě přibývat. Otázkou však

stále zůstává, jak popisovat nové druhy a zda se snažit každý jednotlivý OTU definovat jako nový druh.

# 6. Použitá literatura


Abarenkov, Kessy, Panu Somervuo, R. Henrik Nilsson, et al. 2018. „Protax-fungi: a web-based tool for probabilistic taxonomic placement of fungal internal transcribed spacer sequences“. *The New Phytologist* 220 (2): 517–25.

Ahmadjian, Vernon. 1959. „Experimental observations on the algal genus Trebouxia de Puymaly“. *Svensk Botanisk Tidskrift* 53 (1).

Ahmadjian, Vernon. 1960. „SOME NEW AND INTERESTING SPECIES OF TREBOUXIA, A GENUS OF LICHENIZED ALGAE“. *American Journal of Botany* 47 (8): 677–83. https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1960.tb07152.x.

Archibald, Patricia A. 1975. „Trebouxia de Pulmaly (Chlorophyceae, Chlorococcales) and Pseudotrebouxia Gen. Nov. (Chlorophyceae, Chlorosarcinales)“. *Phycologia* 14 (3): 125–37. https://doi.org/10.2216/i0031-8884-14-3-125.1.

Barberousse, Hélène, Ruben J. Lombardo, Guillermo Tell, a Alain Couté. 2006. „Factors Involved in the Colonisation of Building Façades by Algae and Cyanobacteria in France“. *Biofouling* 22 (2): 69–77. https://doi.org/10.1080/08927010600564712.

Barreno, Eva, Lucia Muggia, Salvador Chiva, et al. 2022. „Trebouxia Lynnae Sp. Nov. (Former Trebouxia Sp. TR9): Biology and Biogeography of an Epitome Lichen Symbiotic Microalga“. *Biology* 11 (8): 1196. https://doi.org/10.3390/biology11081196.

Beck, A., T. Friedl, a G. Rambold. 1998. „Selectivity of Photobiont Choice in a Defined Lichen Community: Inferences from Cultural and Molecular Studies“. *New Phytologist* 139 (4): 709–20. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00231.x.

Beck, Andreas. b.r. *Selektivität der Symbionten schwermetalltoleranter Flechten*.

Bhattacharya, D., T. Friedl, a S. Damberger. 1996. „Nuclear-Encoded rDNA Group I Introns: Origin and Phylogenetic Relationships of Insertion Site Lineages in the Green Algae“. *Molecular Biology and Evolution* 13 (7): 978–89. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025666.

Blaha, Juliane, Elisabeth Baloch, a Martin Grube. 2006. „High Photobiont Diversity Associated with the Euryoecious Lichen-Forming Ascomycete Lecanora Rupicola (Lecanoraceae, Ascomycota)“. *Biological Journal of the Linnean Society* 88 (2): 283–93. https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2006.00640.x.

Blaxter, Mark, Jenna Mann, Tom Chapman, et al. 2005. „Defining Operational Taxonomic Units Using DNA Barcode Data“. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* 360 (1462): 1935–43.

Bordenave, Cesar D., Lucia Muggia, Salvador Chiva, Steve D. Leavitt, Pedro Carrasco, a Eva Barreno. 2022. „Chloroplast Morphology and Pyrenoid Ultrastructural Analyses Reappraise the Diversity of the Lichen Phycobiont Genus Trebouxia (Chlorophyta)“. *Algal Research* 61 (leden): 102561. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102561.

Bubrick, P., Margalith Galun, a A. Frensdorff. 1984. „Observations on Free-Living Trebouxia De Puymaly and Pseudotrebouxia Archibald, and Evidence that Both Symbionts from Xanthoria parientina (L.) Can be Found Free-Living in Nature“. *The New Phytologist* 97 (3): 455–62.

Caron, David A., Peter D. Countway, Pratik Savai, et al. 2009. „Defining DNA-Based Operational Taxonomic Units for Microbial-Eukaryote Ecology“. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (18): 5797–808. https://doi.org/10.1128/AEM.00298-09.

Cole, J. R., Q. Wang, E. Cardenas, et al. 2009. „The Ribosomal Database Project: Improved Alignments and New Tools for rRNA Analysis“. *Nucleic Acids Research* 37 (Database): D141–45. https://doi.org/10.1093/nar/gkn879.

Coleman, Annette W. 2013. „Analysis of Mammalian rDNA Internal Transcribed Spacers“. *PLoS ONE* 8 (11): e79122. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079122.

Cordeiro, Lucimara M. C., Rodrigo A. Reis, Leonardo M. Cruz, Elfriede Stocker-WÃ¶rgÃ¶tter, Martin Grube, a Marcello Iacomini. 2005. „Molecular Studies of Photobionts of Selected Lichens from the Coastal Vegetation of Brazil“. *FEMS Microbiology Ecology* 54 (3): 381–90. https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.05.003.

De Carolis, Roberto, Agnese Cometto, Patricia Moya, et al. 2022. „Photobiont Diversity in Lichen Symbioses From Extreme Environments“. *Frontiers in Microbiology* 13 (březen): 809804. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.809804.

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

Ettl, H., a G. Gärtner. 1984. „Über die Bedeutung der Cytologie für die Algentaxonomie, dargestellt an Trebouxia (Chlorellales, Chlorophyceae) / About the Significance of Cytology in the Taxonomy of Algae, Demonstrated in Trebouxia (Chlorellales, Chlorophyceae)“. *Plant Systematics and Evolution* 148 (1/2): 135–47.

Friedl, Thomas. 1989. „Comparative ultrastructure of pyrenoids in Trebouxia (Microthamniales, Chlorophyta)“. *Plant Systematics and Evolution* 164 (1/4): 145–59.

Friedl, Thomas. 1995. „INFERRING TAXONOMIC POSITIONS AND TESTING GENUS LEVEL ASSIGNMENTS IN COCCOID GREEN LICHEN ALGAE: A PHYLOGENETIC ANALYSIS OF 18S RIBOSOMAL RNA SEQUENCES FROM *DICTYOCHLOROPSIS RETICULATA* AND FROM MEMBERS OF THE GENUS *MYRMECIA* (CHLOROPHYTA, TREBOUXIOPHYCEAE CL. NOV.)[1]“. *Journal of Phycology* 31 (4): 632–39. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1995.tb02559.x.

Friedl, Thomas, Anja Besendahl, Patrick Pfeiffer, a Debashish Bhattacharya. 2000. „The Distribution of Group I Introns in Lichen Algae Suggests That Lichenization Facilitates Intron Lateral Transfer“. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14 (3): 342–52. https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0711.

Friedl, Thomas, a Claudia Rokitta. 1997. „Species Relationships in the Lichen Alga Trebouxia (Chlorophyta, Trebouxiophyceae): Molecular Phylogenetic Analyses of Nuclear-Encoded Large Subunit rRNA Gene Sequences“. *Symbiosis* 23 (květen).

Friedl, Thomas, a Cornelia Zeltner. 1994. „Assessing the Relationships of Some Coccoid Green Lichen Algae and the Microthamniales (Chlorophyta) with 18s Ribosomal Rna Gene Sequence

Comparisons“. *Journal of Phycology* 30 (3): 500–506. https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00500.x.

Fučíková, Karolina, Marie Pažoutová, a Fabio Rindi. 2015. „Meiotic Genes and Sexual Reproduction in the Green Algal Class Trebouxiophyceae (Chlorophyta)“. *Journal of Phycology* 51 (3): 419–30. https://doi.org/10.1111/jpy.12293.

Garrido-Benavent, Isaac, Salvador Chiva, César D. Bordenave, Arantzazu Molins, a Eva Barreno. 2022. „Trebouxia Maresiae Sp. Nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a New Lichenized Species of Microalga Found in Coastal Environments“. *Cryptogamie, Algologie* 43 (9). https://doi.org/10.5252/cryptogamie-algologie2022v43a9.

Gärtner, Georg. 1985. „Die Gattung Trebouxia Puymaly (Chlorellales, Chlorophyceae)  The genus Trebouxia Puymaly (Chlorellales, Chlorophyceae)“. *Arch. Hydrobiol. Suppl. 71,4*.

Gasulla, Francisco, Leonardo M. Casano, a Sergio Pérez-Ortega. 2025. „Algae and the City: The Genetic and Ecophysiological Diversity of Photobionts in Two Areas of Madrid (Spain) with Contrasting Levels of Nitrogen Pollution“. *Environmental Science and Pollution Research* 32 (30): 17978–96. https://doi.org/10.1007/s11356-025-36681-0.

Gazquez, Ayelén, César Daniel Bordenave, Javier Montero-Pau, et al. 2024. „From Spores to Gametes: A Sexual Life Cycle in a Symbiotic Trebouxia Microalga“. *Algal Research* 84 (prosinec): 103744. https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103744.

Guiry. 2024. *M.D. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 22 April 2024. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org; searched on 22 April 2026*.

Hauck, Markus, Gert Helms, a Thomas Friedl. 2007. „Photobiont selectivity in the epiphytic lichens *Hypogymnia physodes* and *Lecanora conizaeoides*“. *The Lichenologist*, dostupné online před tiskem. https://doi.org/10.1017/S0024282907006639.

Helms, Gert, Thomas Friedl, Gerhard Rambold, a Helmut Mayrhofer. 2001. „Identification of Photobionts from the Lichen Family *Physciaceae* Using Algal-Specific ITS rDNA Sequencing“. *The Lichenologist* 33 (1): 73–86. https://doi.org/10.1006/lich.2000.0298.

Honegger, Rosmarie. 1986. „Ultrastructural Studies in Lichens“. *New Phytologist* 103 (4): 785–95. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1986.tb00853.x.

Honegger, Rosmarie. 2000. „Simon Schwendener (1829–1919) and the Dual Hypothesis of Lichens“. *The Bryologist* 103 (2): 307–13. https://doi.org/10.1639/0007-2745(2000)103%5B0307:SSATDH%5D2.0.CO;2.

Chiva, Salvador, Cesar D. Bordenave, Mariana F. G. Assunção, et al. 2025. „Revisiting the Free-Living *Trebouxia* Strains of the Coimbra Collection of Algae (ACOI): *Trebouxia Valentina* Sp. Nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)“. *European Journal of Phycology* 60 (1): 53–66. https://doi.org/10.1080/09670262.2024.2441375.

Chodat, R. 1912. *Monographies d’algues en culture pure*. Text/html,application/pdf,text/html. https://doi.org/10.5169/SEALS-821081.

Jacobs, J. B., a V. Ahmadjian. 1971. „The Ultrastructure of Lichens. IV. Movement of Carbon Products from Alga to Fungus as Demonstrated by High Resolution Radioautography“. *The New Phytologist* 70 (1): 47–50.

Jeong, Minseok, Yitong Wang, Jong Im Kim, a Woongghi Shin. 2023. „Multigene Phylogeny Reveals a Cryptic Diversity in the Genus Dinobryon (Chrysophyceae) with Integrative Description of Five New Species“. *Frontiers in Plant Science* 14 (duben): 1150814. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1150814.

Kosecka, Magdalena, Martin Kukwa, Agnieszka Jabłońska, et al. 2022. „Phylogeny and Ecology of Trebouxia Photobionts From Bolivian Lichens“. *Frontiers in Microbiology* 13 (březen): 779784. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.779784.

Kretzer, Annette, Yunan Li, Timothy Szaro, a Thomas D. Bruns. 1996. „Internal Transcribed Spacer Sequences from 38 Recognized Species of Suillus sensu lato: Phylogenetic and Taxonomic Implications“. *Mycologia* 88 (5): 776–85. https://doi.org/10.2307/3760972.

Kroken, Scott, a John W. Taylor. 2000. „Phylogenetic Species, Reproductive Mode, and Specificity of the Green Alga Trebouxia Forming Lichens with the Fungal Genus Letharia“. *The Bryologist* 103 (4): 645–60.

Leavitt, Steven D., Ekaphan Kraichak, Matthew P. Nelsen, et al. 2015. „Fungal Specificity and Selectivity for Algae Play a Major Role in Determining Lichen Partnerships across Diverse Ecogeographic Regions in the Lichen-forming Family Parmeliaceae (Ascomycota)“. *Molecular Ecology* 24 (14): 3779–97. https://doi.org/10.1111/mec.13271.

Manktelow, Mariette. b.r. *History of Taxonomy*.

Marrelli, Mauro Toledo, Maria Anice Mureb Sallum, a Osvaldo Marinotti. 2006. „The Second Internal Transcribed Spacer of Nuclear Ribosomal DNA as a Tool for Latin American Anopheline Taxonomy: A Critical Review“. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 101 (8): 817–32. https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000800002.

Medeiros, Ian D., Alicia Ibáñez, A. Elizabeth Arnold, et al. 2024. „Eco-Phylogenetic Study of Trebouxia in Southern Africa Reveals Interbiome Connectivity and Potential Endemism in a Green Algal Lichen Photobiont“. *American Journal of Botany* 111 (12): e16441. https://doi.org/10.1002/ajb2.16441.

Melkonian, Michael, a Elisabeth Peveling. 1988. „Zoospore ultrastructure in species of Trebouxia and Pseudotrebouxia (Chlorophyta)“. *Plant Systematics and Evolution* 158 (2/4): 183–210.

Muggia, Lucia, Martin Grube, a Mauro Tretiach. 2008. „Genetic Diversity and Photobiont Associations in Selected Taxa of the Tephromela Atra Group (Lecanorales, Lichenised Ascomycota)“. *Mycological Progress* 7 (3): 147–60. https://doi.org/10.1007/s11557-008-0560-6.

Muggia, Lucia, Matthew P. Nelsen, Paul M. Kirika, et al. 2020. „Formally Described Species Woefully Underrepresent Phylogenetic Diversity in the Common Lichen Photobiont Genus Trebouxia (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): An Impetus for Developing an Integrated Taxonomy“. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 149 (srpen): 106821. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106821.

Muggia, Lucia, Günther Zellnig, Johannes Rabensteiner, a Martin Grube. 2010. „Morphological and Phylogenetic Study of Algal Partners Associated with the Lichen-Forming Fungus Tephromela

Atra from the Mediterranean Region“. *Symbiosis* 51 (2): 149–60. https://doi.org/10.1007/s13199-010-0060-8.

Nelsen, Matthew P., a Andrea Gargas. 2009. „Symbiont Flexibility in Thamnolia vermicularis (Pertusariales: Icmadophilaceae)“. *The Bryologist* 112 (2): 404–17.

Nelsen, Matthew P., Steven D. Leavitt, Kathleen Heller, Lucia Muggia, a H. Thorsten Lumbsch. 2021. „Macroecological Diversification and Convergence in a Clade of Keystone Symbionts“. *FEMS Microbiology Ecology* 97 (6): fiab072. https://doi.org/10.1093/femsec/fiab072.

Nyati, Shyam, Sandra Scherrer, Silke Werth, a Rosmarie Honegger. 2014. „Green-Algal Photobiont Diversity ( *Trebouxia* Spp.) in Representatives of *Teloschistaceae* (Lecanoromycetes, Lichen-Forming Ascomycetes)“. *The Lichenologist* 46 (2): 189–212. https://doi.org/10.1017/S0024282913000819.

Ohmura, Yoshihito, Masanobu Kawachi, Fumie Kasai, Makoto M. Watanabe, a Shunji Takeshita. 2006. „Genetic Combinations of Symbionts in a Vegetatively Reproducing Lichen, Parmotrema tinctorum, Based on ITS rDNA Sequences“. *The Bryologist* 109 (1): 43–59.

Opanowicz, Magdalena, a Martin Grube. 2004. „Photobiont Genetic Variation in ***Flavocetraria Nivalis*** from Poland ( ***Parmeliaceae*** , Lichenized Ascomycota)“. *The Lichenologist* 36 (2): 125–31. https://doi.org/10.1017/S0024282904013763.

Paulson, Robert. 1929. „The Gonidium Common to Many Lichens“. *Transactions of the British Mycological Society* 14 (1–2): 135–39. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(29)80037-X.

Pazos, Tamara, Patricia Moya, Isaac Garrido-Benavent, César D. Bordenave, Ayelén Gazquez, a Salvador Chiva. 2025. „Trebouxia Barrenoae Sp. Nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a New Lichenized Microalga Widespread in Temperate Ecosystems“. *Fottea* 25 (1): 68–80. https://doi.org/10.5507/fot.2024.010.

Piercey-Normore, Michele. 2009. „Vegetatively Reproducing Fungi in Three Genera of the Parmeliaceae Share Divergent Algal Partners“. *The Bryologist* 112 (4): 773–85.

Piercey-Normore, Michele D. 2006. „The Lichen-Forming Ascomycete Evernia Mesomorpha Associates with Multiple Genotypes of Trebouxia Jamesii“. *New Phytologist* 169 (2): 331–44. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01576.x.

Piercey-Normore, Michele D., a Paula T. DePriest. 2001. „Algal Switching among Lichen Symbioses“. *American Journal of Botany* 88 (8): 1490–98. https://doi.org/10.2307/3558457.

Plitt, Charles. 1919. „A Short History of Lichenology“. *The Bryologist*. https://www.jstor.org/stable/3238526.

Powers, T. O., T. C. Todd, A. M. Burnell, et al. 1997. „The rDNA Internal Transcribed Spacer Region as a Taxonomic Marker for Nematodes“. *Journal of Nematology* 29 (4): 441–50.

„puymaly“. b.r.

Puymaly, A. 1924. „Le Chlorococcum Humicola (Naeg.) Rabenh.“ *Revue algologique 1: 107-114*.

Rambold, Gerhard, Thomas Friedl, a Andreas Beck. 1998. „Photobionts in Lichens: Possible Indicators of Phylogenetic Relationships?“ *The Bryologist* 101 (3): 392. https://doi.org/10.2307/3244177.

Raths, Hermine. 1938. „Experimentelle Untersuchungen mit Flechtengonidien aus der Familie der Caliciaceen“. ETH Zurich. Application/pdf, 88 S. https://doi.org/10.3929/ETHZ-A-000091212.

Romeike, J., T. Friedl, G. Helms, a S. Ott. 2002. „Genetic Diversity of Algal and Fungal Partners in Four Species of Umbilicaria (Lichenized Ascomycetes) Along a Transect of the Antarctic Peninsula“. *Molecular Biology and Evolution* 19 (8): 1209–17. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004181.

Ruprecht, Ulrike, Georg Brunauer, a Christian Printzen. 2012. „Genetic Diversity of Photobionts in Antarctic Lecideoid Lichens from an Ecological View Point“. *The Lichenologist* 44 (5): 661–78. https://doi.org/10.1017/S0024282912000291.

Ruska, Ernst. 1987. „The Development of the Electron Microscope and of Electron Microscopy“. *Reviews of Modern Physics* 59 (3): 627–38. https://doi.org/10.1103/RevModPhys.59.627.

Sadowska-Deś, Anna D., Francesco Dal Grande, H. Thorsten Lumbsch, et al. 2014. „Integrating Coalescent and Phylogenetic Approaches to Delimit Species in the Lichen Photobiont Trebouxia“. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 76 (červenec): 202–10. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.020.

Schaper, T., a S. Ott. 2003. „Photobiont Selectivity and Interspecific Interactions in Lichen Communities. I. Culture Experiments with the Mycobiont Fulgensia bracteata“. *Plant biology*, dostupné online před tiskem. https://doi.org/https://doi.org/10.1055/s-2003-42711.

Skaloud, Pavel, a Ondrej Peksa. 2010. „Evolutionary Inferences Based on ITS rDNA and Actin Sequences Reveal Extensive Diversity of the Common Lichen Alga Asterochloris (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)“. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54 (1): 36–46. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.09.035.

Slocum, R. D., V. Ahmadjian, a K. C. Hildreth. 1980. „Zoosporogenesis In *Trebouxia Gelatinosa:* Ultrastructure Potential For Zoospore Release And Implications For The Lichen Association“. *The Lichenologist* 12 (2): 173–87. https://doi.org/10.1017/S0024282980000151.

Stern, Rowena F., Robert A. Andersen, Ian Jameson, et al. 2012. „Evaluating the Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) as a Candidate Dinoflagellate Barcode Marker“. *PLoS ONE* 7 (8): e42780. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042780.

Sugita, Takashi, Masako Takashima, Reiko Ikeda, Takashi Nakase, a Takako Shinoda. 2000. „Intraspecies Diversity of *Cryptococcus Laurentii* as Revealed by Sequences of Internal Transcribed Spacer Regions and 28S rRNA Gene and Taxonomic Position of *C. Laurentii* Clinical Isolates“. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (4): 1468–71. https://doi.org/10.1128/JCM.38.4.1468-1471.2000.

Škaloud, Pavel, Patricia Moya, Arántzazu Molins, Ondřej Peksa, Arnoldo Santos-Guerra, a Eva Barreno. 2018. „Untangling the Hidden Intrathalline Microalgal Diversity in *Parmotrema Pseudotinctorum* : *Trebouxia Crespoana* Sp. Nov.“ *The Lichenologist* 50 (3): 357–69. https://doi.org/10.1017/S0024282918000208.

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

Tschermak-Woess, Elisabeth. 1978. „Über die Phycobionten der Sektion Cystophora von Chaenotheca, insbesondere Dictyochloropsis splendida und Trebouxia simplex, spec. nova: The Phycobionts in the Section Cystophora of Chaenotheca, Especially Dictyochloropsis splendida and Trebouxia simplex, spec. nova“. *Plant Systematics and Evolution* 129 (3): 185–208.

Tschermak-Woess, Elisabeth. 1980. „Asterochloris phycobiontica, gen. et spec., nov., der Phycobiont der Flechte Varicellaria carneonivea / Asterochloris phycobiontica, nov. gen., nova spec., the Phycobiont of the Lichen Varicellaria carneonivea (Anzi) Erichs“. *Plant Systematics and Evolution* 135 (3/4): 279–94.

Tschermak-Woess, Elisabeth. 1989. „Developmental Studies in Trebouxioid Algae and Taxonomical Consequences“. *Plant Systematics and Evolution* 164 (1–4): 161–95. https://doi.org/10.1007/BF00940436.

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

Warén, Harry. 1920. *Öfversigt af Finska vetenskaps-societetens förhandlingar*.

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

Yahr, Rebecca, Rytas Vilgalys, a Paula T. Depriest. 2004. „Strong Fungal Specificity and Selectivity for Algal Symbionts in Florida Scrub Cladonia Lichens“. *Molecular Ecology* 13 (11): 3367–78. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02350.x.

Yahr, Rebecca, Rytas Vilgalys, a Paula T. DePriest. 2006. „Geographic Variation in Algal Partners of Cladonia Subtenuis (Cladoniaceae) Highlights the Dynamic Nature of a Lichen Symbiosis“. *New Phytologist* 171 (4): 847–60. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01792.x.

Zechman, Frederick W., Elizabeth A. Zimmer, a Edward C. Theriot. 1994. „Use of Ribosomal Dna Internal Transcribed Spacers for Phylogenetic Studies in Diatoms“. *Journal of Phycology* 30 (3): 507–12. https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00507.x.