

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Eliška Konečná

Ekologie lišejníků ve vztahu s funkční diverzitou a velikostí genomu
Lichen ecology in the relationship to functional diversity and genome size

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Jiří Malíček, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na dané téma vypracovala pod vedením školitele samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato bakalářská práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze 16. 8. 2018

Podpis

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování mému školiteli za jeho cenné rady a trpělivost při konzultaci mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěla poděkovat rodině za podporu při studiu.

Abstrakt

Bakalářská práce se v první části věnuje výčtu a charakterizaci funkčních znaků lišejníků a shrnutí známých závislostí konkrétních znaků na ekologických faktorech prostředí. V druhé části práce je rozebrána problematika měření velikosti genomu obecně a souhrn poznatků o velikostech genomů u lišejníků. Součástí druhé části je také nastínění vztahu velikosti genomu s ekologií organismů, který by mohl být v budoucnu zkoumán i u lišejníků.

Klíčová slova: funkční znaky, lišejníky, mykobiont, velikost genomu

Abstract

This bachelor thesis in its first part summarises and characterizes lichen functional traits and sums up known relation between particular traits and ecological factors of the environment. Second part of the thesis focuses on question of genome measurement in general and then summarises known information about lichen genome size. In the second part there is partial focus on relation between genome size and ecology of organisms as well, which could become focus of some study in the future.

Key words: functional traits, lichens, mycobiont, genome size

Obsah

1 ÚVOD	6
2 FUNKČNÍ ZNAKY	6
2.1 Definice	6
2.2 Použití, význam, jiné varianty	7
2.3 Významné funkční znaky lišejníků, jejich charakter a význam	8
2.3.1 Typ stélky	8
2.3.2 Fotobiont	10
2.3.3 Rozmnožování, šíření	12
2.3.4 Jiné znaky (sekundární metabolity, fyziologické znaky)	12
2.4 Zkoumané a známé trendy funkční diverzity na ekologickém gradientu	13
2.4.1 Interspecifické trendy	13
2.4.2 Intraspecifické trendy	13
2.4.3 Vztah ekologického gradientu a druhové diverzity	16
3 VELIKOST GENOMU	16
3.1 Měření velikosti genomu	18
3.1.1 Metody měření	18
3.1.2 Genom hub, řas	20
3.1.3 Genom lišejníků	21
3.4 C-hodnota jako funkční znak lišejníku, vztah s ekologií	23
3.4.1 Důvody různé velikosti genomu mykobiontů	23
3.4.2 Aplikace u podobných organismů	23
4 ZÁVĚR	24
Literatura:	25

1 ÚVOD

V mnoha ekologických studiích se pracuje s jevy označovanými pojmy funkční znaky nebo funkční diverzita. Lichenologické práce nejsou výjimkou. Ovšem v porovnání s výzkumem cévnatých rostlin je tento přístup v rámci lichenologie teprve na začátku svého rozvoje. (Prieto *et al.*, 2017) Také metoda analýzy velikosti genomu, která je tak rozsáhle používaná ve výzkumu cévnatých rostlin, nebyla dosud ve studiu lišejníků téměř vůbec uplatňována. Ze studií u jiných skupin organismů je známo, že velikost genomu má vliv na ekologii organismu. (Grime *et al.*, 1985; Thompson, 1990) Takovéto vztahy by mohly být nalezeny i u lišejníků.

Bakalářská práce si klade za cíl shrnout poznatky o hlavních trendech ve vztahu funkční diverzity lišejníků s jejich ekologií a shromáždit dosavadní znalosti o velikostech genomů mykobiontů a fotobiontů lichenizovaných hub (s mírným důrazem na mykobionty), a díky tomu ucelit informace o možnosti aplikace měření velikosti genomu lišejníků v ekologických studiích.

2 FUNKČNÍ ZNAKY

2.1 Definice

Funkční znak, v původní literatuře označovaný jako „functional trait“, je velmi široce používaný termín v ekologických a ekofyziologických studiích. Není ale tak jednoduché, určit jeho přesný význam, neboť se v pojetí jednotlivých autorů často liší. Nejasnosti pramení hlavně z toho, že sledování významu různých vlastností a znaků pro fungování a život organismů bylo používáno ve výzkumu již před snahou ustanovit obecnější terminologii těchto jevů. Právě proto je přesná definice komplikovaná. Avšak je potřebná. Funkční znaky jsou používány ve výzkumu většiny organismů. Vychází z jejich životní strategie a uspořádání těla. Funkční znaky lišejníků jsou podobné jako u rostlin, které jsou také sesilní fotosyntetizující organismy, nebo jako u hub, které mají podobnou stavbu těla.

Funkčním znakem můžeme rozumět dobře popsateľnou vlastnost organismu, která je proměnlivá mezi jedinci nebo druhy a má přímý vliv na fungování organismu a jeho interakci s prostředím. (Díaz and Cabido, 2001; McGill *et al.*, 2006) Mezi funkčními znaky je ještě možné odlišit dvě skupiny lehce se lišící definicí a charakterem, ovšem

v praxi se překrývají. Dvě skupiny funkčních znaků jsou „response traits“, které jsou přizpůsobením organismu na tlak prostředí a společenstev, a „effect traits“, které prostředí a společenstva ovlivňují a mění. (de Bello *et al.*, 2010; Deane-Coe and Stanton, 2017)

2.2 Použití, význam, jiné varianty

Rozmanitost a míra s jakou se jednotlivé funkční znaky v populaci, nebo společenstvu vyskytují, se nazývá funkční diverzita. (Díaz and Cabido, 2001) Důvodem, proč bychom se měli zkoumáním funkční diverzity zabývat, je fakt, že nás toto poznání povede k lepšímu porozumění komplexnosti vztahů organismů s prostředím, a také k porovnání stanovišť, na kterých se organismy vyskytují.

Jednou z prvních otázek při sledování ekologických trendů funkčních vlastností je výběr úrovně, kterou budeme studovat. Je totiž možné zkoumat přítomnost a expresivitu znaků jednoho druhu na ekologicky odlišných stanovištích, nebo studovat vlastnosti celé lišejníkové komunity. (Asplund *et al.*, 2014) Při výzkumu komunity není nezbytné sledování přítomnosti znaků na konkrétně se vyskytujících stélkách, ale spíše přítomnost druhů, u kterých známe jejich funkční charakteristiky. Při určování množství druhů s určitým funkčním znakem vyskytujících se na stanovišti může být zavádějící výskyt podobných funkčních charakteristik u příbuzných druhů. (Rogers, 1990) Proto je vhodné takovéto vztahy statisticky relativizovat. (Bässler *et al.*, 2016)

Většina ekologických výzkumů, která zkoumá vztah prostředí s v něm rostoucími lišejníky, používá druhové složení a bohatost. (Lewis and Ellis, 2010) V rámci výzkumu druhového složení se používá zaznamenání celkového množství druhů a abundance jejich výskytu. Také je možné nalezení indikačních druhů, které jsou vázané na konkrétní podmínky prostředí. Takto můžeme nalézt druhy spojené s primárním lesem, vysokou průměrnou teplotou a podobně. (Czehura, 1977) Nevýhodou tohoto přístupu je nemožnost srovnávat společenstva podle vyskytujících se druhů na velkém geografickém měřítku, protože zde začne mít teoreticky vliv historické a biogeografické rozmístění druhů. Proto by bylo vhodnější v tomto případě porovnávat spíše podobnost nebo rozdílnost prostředí spíše pomocí funkčních znaků, které poukazují na typy selekčních tlaků přímo, bez nutnosti rozlišovat indikační druh. Podobná situace bude platit i při snaze nalézt podobnost mezi prostředími se zcela jiným druhovým složením

ovlivněným výraznou ekologickou odlišností jako je například jiný podklad. (Lewis and Ellis, 2010)

Analýza na základě funkčních znaků skýtá také zjednodušení při sbírání dat a tím i urychlení práce, neboť rozlišování vlastností nevyžaduje tak dokonalé a přesné určování druhů. (Ellis and Coppins, 2007)

2.3 Významné funkční znaky lišejníků, jejich charakter a význam

Různé základní charakteristiky lišejníku mohou být s různou efektivitou používány jako funkční znaky. Proto je třeba si utřídit jejich rozmanitost a vztah s fungováním lišejníku.

2.3.1 Typ stélky

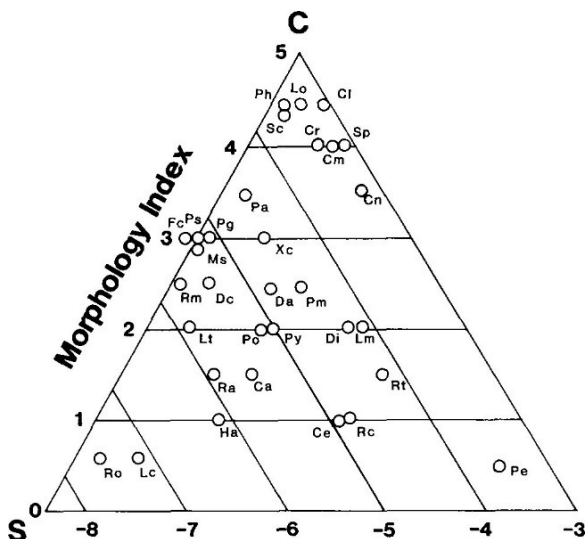
Typ stélky je jedním z vůbec nejčastěji používaných a nejprozkoumanějších funkčních znaků lišejníků, jelikož se snadno určuje a má velké množství přímých ekologických souvislostí. Podle základního dělení se u lišejníků vyskytují tři typy stélek – korovitá, lupenitá a keříčkovitá. Existuje ovšem ještě mnoho úrovní dalšího dělení. Korovitá stélka je charakterizovaná tím, že zcela přirůstá spodní stranou k podkladu. U některých typů tohoto uspořádání stélky se může vyskytovat protalus, což je odlišitelný okraj korovité stélky tvořený pouze mykobiontem. Mezi zástupce s korovitou stélkou je možné počítat i lišejníky s neorganizovanou stélkou práškovitou, tj. leprózní, ale také mnoho různou měrou strukturalizovaných typů, tvořených šupinami, laloky, nebo areolami. Stélka lupenitá je k podkladu přirostlá pouze částečně a je tvořena různě širokými a různou měrou dělenými laloky. Stejně jako ostatní typy může být homomerická nebo heteromerická a pokud je heteromerická, bývá odlišena na svrchní a spodní vrstvu, které jsou orientované podle světla a podkladu. Keříčkovitá stélka je typická tím, že vyčnívá nad povrch substrátu. Může mít stélku radiálně symetrickou (například rod *Usnea*), tedy místo zploštělými laloky může být tvořena vlákny a výrůstky na průřezu kulatými, s neodlišitelnou svrchní a spodní stranou. (Nash, 2008)

Lišejníky, jejichž stélka má vysoký poměr povrchu vůči objemu, což jsou typicky keříčkovité, podléhají rychlejšímu vysychání a zároveň i zavodňování než lišejníky s poměrem menším. To je jedním z důvodů, proč se keříčkovité druhy vyskytují převážně ve vlhkých podmínkách nebo v prostředí s výrazně se střídající vlhkostí. (Nash, 2008) Kromě příjmu a odparu vody má tento poměr vliv také na efektivní

výměnu tepla, která probíhá rychleji na větším povrchu. Typ stélky souvisí i s teplotou, které je lišejník vystaven, a také s mírou zahřívání podkladu. Zcela přisedlé korovité stélky jsou mnohem více ovlivněny teplotou substrátu, která může mít mnohem větší výkyvy než vzduch, než keříčkovité stélky vystupující do volného prostoru. (Kershaw, 1985) V rámci morfologie stélky má svůj význam ve vztahu s vodou také přítomnost nebo nepřítomnost protalu u korovitých lišejníků. Protalus totiž umožňuje vodě prostupovat stélkou, nebo také pomáhá vodu zadržovat. (Lakatos, Rascher and Büdel, 2006)

Různé stélkové typy v rámci ekosystémů zastávají různé ekologické role, které vycházejí z jejich charakteru a vlastností. K odlišení ekologických rolí podle vlastností může být mimo jiné použita metoda, v níž se pomocí několika vypočtených indexů, souvisejících s velikostí těla a rychlostí růstu, rozmístí organismy po ploše trojúhelníku, jehož rohy jsou tvořeny strategiemi C-S-R (kde C je kompetiční síla, S je tolerance vůči stresu a R je životní strategie ruderálů). Podle této teorie jsou lišejníky typickými představiteli S-strategie, protože rostou velmi pomalu, avšak jsou schopny růst i v podmínkách s extrémním stresem, kde jsou úspěšnější než v normálních podmínkách kompetičně schopnější rostliny, které je jinde vytlačí svým rychlým růstem. (Grime, 1977) Pokud se Grimova metoda přizpůsobí na detailnější rozbor strategií pouze mezi lišejníky (Obr. 1), mohou být získány jejich relativní strategie podobným způsobem jako u rostlin. Druhy s keříčkovitou stélkou mají tendenci být spíše kompetitory oproti lupenitým, které kromě této strategie mohou být i odolné vůči stresu. V situaci, kdy keříčkovitá stélka roste ve vhodných podmínkách, může snáze přerůst a zastínit pomaleji rostoucí a více přisedlé typy lišejníků. Lišejníky s korovitými typy stélek mohou spadat svým charakterem mezi strategie stresu odolné až ruderální. (Rogers, 1990)

Obrázek 1: S-C-R strategie u vybraných druhů lišejníků Na schématu je zobrazeno strategické umístění studovaných druhů lišejníků. C je kompetiční síla, S tolerance vůči stresu, R životní strategie ruderálů. Stupnice tvoří „morfologický index“ a „ L_n relativní rychlost růstu“, což jsou indexy podle (Grime, 1977) odvozené pro lišejníky v (Rogers, 1990). Schéma (Rogers, 1990)



2.3.2 Fotobiont

Dalším určujícím znakem je charakter samotných organismů, které lišejník tvoří. Lišejník může být tvořen symbiotickým spojením až několika druhů hub s až několika druhy fotosyntetizujících organismů. Také některé bakterie žijící uvnitř stélky mají na život lišejníku vliv, jejich přesná role je předmětem probíhajícího výzkumu. (Grube and Berg, 2010) Většinu druhů lišejníků je možné rozdělit podle skupin přítomných fotobiontů na bipartitní a tripartitní. Tripartitní jsou ty lišejníky, které mají jako fotobionta řasu a zároveň i sinici, bipartitní mají pouze jednu z těchto skupin. (Nash, 2008) Taxonomické určování fotobiontů je stále se vyvíjející problematika čelící mnoha úskalím. Například nedostatečnému anatomickému a morfologickému odlišení druhů řas ve stavu, v jakém jsou pozorovatelné uvnitř lišejníku, daném přizpůsobením specifickým podmínkám v rámci interakce s houbou. (Nash, 2008) Toto znesnadňuje výzkum nejen taxonomie symbiotických řas, ale i od toho odvislých jevů v biologii lišejníků. U mnoha lišejníků není fylogenetická příslušnost fotobionta prozkoumána a při jejím určování je hlavním nástrojem molekulární analýza. Přesto je do určité míry možné rozlišit alespoň základní typy fotobiontů. Pro účely funkčních znaků bývá

používáno například extrémně zjednodušené dělení na sinicové, trentepohlioidní a trebouxioidní fotobionty. (Koch *et al.*, 2013; Bäessler *et al.*, 2016; Benítez *et al.*, 2018)

Cyanolišejníky, obsahující sinicového fotobionta, jsou ve své ekologii od tohoto faktu výrazně odvislé. To platí zvláště pro bipartitní cyanolišejníky. Už i samotný charakter typu jejich stélky může být specifický. Některé mají gelatinózní typ stélky a všechny mají mnohem větší kapacitu pro nasátí vody a toleranci k její přítomnosti ve stélce oproti lišejníkům tvořených zelenou řasou. (Nash, 2008) Bipartitní cyanolišejníky dokonce pro správné fyziologické fungování fotosyntézy vyžadují přítomnost vody v tekutém stavu. (Lange, Kilian and Ziegler, 1986) To má přímý vliv na prostředí, ve kterém se tyto lišejníky mohou vyskytovat. (Ellis and Coppins, 2006)

Ekologie a potřeby fotobiontů mohou být odlišné od ekologických omezení mykobionta. V případě, že je vázanost mykobionta s fotobiontem specifická a nemůže být v nevhodných podmínkách řasa nahrazena jinou, stává se ekologická hranice pro život fotobionta omezením pro celý lišejník. (Marini, Nascimbene and Nimis, 2011)

V rámci jednoho lišejníku je možné pracovat s genetickými liniemi fotobiontů jednoho druhu a nacházet ekologické souvislosti, které nejsou přítomné v genetice mykobionta. Fotobionti různých linií jsou takto vázáni na podmínky odlišného klimatu (Blaha, Baloch and Grube, 2006) nebo podkladu (Werth and Sork, 2010).

Jako funkční znak je ovšem jednodušší používat odlišnosti v druzích nebo skupinách fotobiontů. trentepohlioidní fotobiont se dominantně oproti fotobiontovi trebouxioidnímu vyskytuje v místech s vyšší průměrnou teplotou. (Marini, Nascimbene and Nimis, 2011) Dokonce v případě oteplování klimatu může narůstat výskyt druhů lišejníků asociovaných právě s trentepohlioidním fotobiontem na úkor ostatních. (Aptroot and van Herk, 2007)

Trebouxioidní fotobiont může být více vázán na suché a poškozené části lesa, kdežto trentepohlioidní fotobiont převažuje v stinných podmínkách kompaktního nepoškozeného lesa. (Wolseley and Aguirre-Hudson, 1997)

Výskyt lišejníků s konkrétními druhy fotobiontů může být v situaci, kdy se lišejník šíří pohlavně, ovlivněn také přítomností volně žijících, a tedy pro asociaci dostupných, sinic a řas na daném stanovišti. (Hedenås, Blomberg and Ericson, 2007)

2.3.3 Rozmnožování, šíření

Důležitý vliv na výskyt lišejníku má jeho schopnost rozmnožovat a šířit se prostředím. Pohlavní rozmnožování v rámci lišejníku je téměř výhradně záležitostí houby. V závislosti na taxonomické příslušnosti probíhá uvolňováním askospor nebo bazidiospor z plodnice mykobionta. Avšak vegetativní, nepohlavní množení a šíření probíhá řadou různých cest. Samotný mykobiont může vytvářet nepohlavní propagule, konidie. K vegetativnímu šíření mohou dále sloužit náhodné úlomky stélky nebo odlomené izidie, výrůstky na stélce specializované k tomuto účelu. Poslední z nejběžnějších možností je šíření pomocí uvolňování sorédií, práškovité hmoty tvořené z propletených hyf houby s buňkami fotobionta. (Nash, 2008) Pro ekologii druhů může být zásadní velikost šířících propagulí, a to ať pohlavních nebo nepohlavních, protože tento znak má zásadní vliv na míru a způsob šíření.

Také upřednostňovaná strategie šíření či rozmnožování má přímý vliv na ekologickou strategii lišejníkového druhu. Při vhodném použití mohou být způsoby šíření rozmístěny do S-C-R schématu strategií. Podle něj jsou poté druhy sorediózní více odolné vůči stresu, ty mající izidie kompetitivní. Konečně lišejníky bez asexuálního způsobu rozmnožování jsou kompetitivní nebo ruderální (Obr. 1). (Rogers, 1990)

2.3.4 Jiné znaky (sekundární metabolity, fyziologické znaky)

Občasně používaným funkčním znakem je přítomnost sekundárních metabolitů a jejich charakter. (Hauck and Jürgens, 2008) Sekundární metabolity mohou mít vliv na ochranu proti UV záření, ochranu proti predaci nebo přizpůsobení specifickým podmínkám. (Nash, 2008)

Obzvláště pro interspecifickou funkční diverzitu jsou někdy používány fyziologické znaky, jako jsou například různé měřitelné charakteristiky fotosyntézy, specifické rozměry stélky nebo množství obsažených látek a prvků. (Asplund and Wardle, 2014, 2017)

2.4 Zkoumané a známé trendy funkční diverzity na ekologickém gradientu

2.4.1 Interspecifické trendy

Některé studie se zabývají funkční diverzitou v rámci různých jedinců jednoho druhu v závislosti na podmínkách prostředí. Taková pozorování se může soustředit na míru, s jakou se u lišejníku přítomné funkční znaky vyskytují nebo projevují. To vede k trochu jinému charakteru těchto znaků oproti těm používaných pro srovnání intraspecifické. (Asplund and Wardle, 2014) Tento přístup může být v některých studiích výhodnější než zkoumání charakteru všech druhů lišejníkové komunity. (Asplund and Wardle, 2014)

Vystavení různým vlhkostním a světlostním podmínkám může například vést u lišejníku *Pseudocyphellaria flavicans* k odlišné tloušťce svrchní korové vrstvy stélky. Rozdíly jsou však poměrně malé. (Atala *et al.*, 2015) Také u druhu *Peltigera aphthosa* byla pozorována závislost funkčních znaků na podmínkách prostředí. V místech, kde byl lišejník vystaven malé dostupnosti dusíku, bylo v stélce větší množství cephalodií. (Asplund and Wardle, 2015)

2.4.2 Intraspecifické trendy

Nadmořská výška

V rámci výškového gradientu na jednom území jsou nejvíce určujícími ekologickými faktory vlhkost a teplota. Korovitá stélka je spíše znakem druhů v nižší poloze, kdežto ve vyšší nadmořské výšce se vyskytují spíše druhy lupenité a keříčkovité. To platí jak v lesnaté krajině mírného pásma (Giordani *et al.*, 2012; Bässler *et al.*, 2016), tak i v tropickém deštném lese (Lakatos, Rascher and Büdel, 2006). Pokud je ovšem mezi stanovišti rozdíl v podobě celkového biotopu, odpovídá funkční diverzita spíše dostupnosti substrátu a jeho podmínkám ovlivněným množstvím a druhem vegetace. (Nelson, McCune and Swanson, 2015)

S přibývajícím nadmořskou výškou ubývá lišejníků s fotobiontem trentepohlioidním a narůstá množství lišejníků s trebouxiovitým. (Giordani *et al.*, 2012; Bässler *et al.*, 2016)

Ve vyšších polohách je také častější nepohlavní rozmnožování, tj. izidiemi a sorediemi, oproti sexuálnímu rozmnožování dominujícímu v nižších polohách. Při porovnání prostředků pohlavního množení mezi stanovišti v různých nadmořských výškách lze pozorovat určitý trend, kdy se v nižších polohách favorizují velké, pigmentované a septované spóry a askomata menšího průměru. (Giordani *et al.*, 2012; Bässler *et al.*, 2016)

Sukcese lesa

Během sukcese lesa je většinou nejpodstatnějším měnícím se faktorem ovlivňujícím složení lišejníkových společenstev světlo. Zásadním faktorem je také čas, po který se může společenstvo ustalovat.

V tropickém deštném lese jsou epifytické lišejníky lupenité a keříčkovité vyskytující se na kmeni spojeny výrazněji s ranějšími sukcesními stádii. Později se nacházejí tyto druhy spíše v koruně, kde je více světla, a na kmeni jsou nahrazeny druhy s korovitou stélkou. (Koch *et al.*, 2013)

Odolné lišejníky s lireloidními apotécii, přítomné také v ranějších stádiích, postupně v sukcesi tropického lesa mizí. V pozdní sukcesi na vlhkých stanovištích přibývají druhy lišejníků, které mají pohlavní rozmnožování, a které množstvím zastoupení střídají ve střední fázi sukcese výraznější výskyt druhů tvořících izidie. (Koch *et al.*, 2013)

V případě sukcese v subtropickém lese nebylo pozorováno předpokládané kompetiční funkční nahrazování druhů, možná kvůli malému pokryvu lišejníkové komunity na studovaných stanovištích. Hlavní vliv na změnu složení funkční diverzity během sukcese v subtropickém lese má různá propojenost korunového zápoje a tedy světla. Cyanolišejníky nejsou spojeny jen se starým lesem, ale mohou se objevovat také na sekundárních stanovištích s vysokou vlhkostí. (Li, Liu and Li, 2013)

V sekundárním lese se nachází nečekaně více druhů s asexuálním množením oproti lesu primárnímu, což může být ovlivněno propojeností různě starých lesů v krajině a tím, že mnohé asexuálně se šířící druhy mohou použít i sexuálního množení. Nejsilnější vliv má světlost lesního zápoje na s druhy s lupenitými úzkými laloky nebo korovitou stélkou. (Li, Liu and Li, 2013)

Různé typy lesa

Určité rozdíly ve funkčních znacích lze pozorovat na stromech stejného druhu vystavených různým klimatickým podmínkám. Ve vlhkých podmínkách a na starších stromech jsou časté lupenité cyanolišejníky a tripartitní lišejníky. Na starších stromech v podmínkách s menší vlhkostí poté převažují lupenité druhy s trebouxioidním fotobiontem. Na mladších a sušších stromech jsou častější druhy s korovitou stélkou. (Ellis and Coppins, 2006)

V horských bukových lesích se na stanovištích s menšími srážkami častěji vyskytují keříčkovité a šupinovité druhy a druhy s trebouxioidním fotobiontem a nepohlavním množením. (Prieto *et al.*, 2017)

V lesech ve velmi suchých podmínkách, kde je míra aridity pro rozšíření lišejníků důležitější než ostatní faktory prostředí, se na nejsušších místech vyskytují spíše lišejníky foliózní a cyanolišejníky. S klesající ariditou se začínají vyskytovat převážněji druhy korovité a keříčkovité, izidiosní a mající trentepolioidního fotobionta. (Matos *et al.*, 2015)

V lesích v podmínkách s vyšší teplotou narůstá výskyt epifytických lišejníků s trentepohlioidním fotobiontem. Cyanolišejníky jsou svým výskytem spojeny s lesy v místech s větším množstvím srážek a výskyt lišejníků s trebouxioidním fotobiontem má pozitivní vztah se zastíněnými stanovišti. (Marini, Nascimbene and Nimis, 2011)

Původnost stanoviště

Jako reakce na narůstající míru disturbancí stanoviště ubývá fotobiontů sinicových a trentepohlioidních. V narušených lesích je menší zastoupení lišejníků se stélkou korovitou s protalem, lupenitou s širokými laloky, vláknitou a gelatinósní, kdežto přibývají druhy lupenité s úzkými laloky, mající lireloidní apotécia a sorédie. (Benítez *et al.*, 2018)

Obsah chemických látek, jako jsou kyseliny a jiné sekundární metabolity, ve stélce je spojen s více narušovanými stanovišti. (Benítez *et al.*, 2018)

V otevřené krajině vytvořené narušením lidskou činností je u lišejníků běžnější mít malé spory, které se šíří na krátkou vzdálenost aktivně, oproti lesní vegetaci, kde mají

spory trend být spíše dlouhé, větší a septované, pasivně se šířící. Se silicím zemědělským a lesnickým využitím krajiny ubývají vzácné druhy, přibývá zástupců s fotobiontem trebouxioidním a ubývá těch s trentepohlioidním. (Stofer *et al.*, 2006)

Stáří stromu, vliv požáru, pH

Různé druhy stromů mají druhově odlišné komunity epifytických lišejníků. Na mladší a tím i hladší borce převažují korovité druhy se sexuálním rozmnožováním, které jsou na hrubší kůře starších stromů vystřídány korovitými a asexuálními druhy lišejníků, a také lišejníky s lupenitou stélkou, jako rod *Cladonia*, a druhy leprózními, kterým členitý povrch umožňuje lepší podmínky pro uchycení. (Lewis and Ellis, 2010)

Ekologickou strukturu může skokově ovlivnit i požár lesa se starším porostem. Stínomilné korovité druhy po narušení požárem mizí a nahrazují je méně specializované, mohutně rostoucí druhy a druhy preferující mrtvé dřevo. (Johansson *et al.*, 2006)

V jednotlivých typech lesa, vyznačujících se různou hodnotou pH, jsou na různou míru kyselosti vázány druhy s odlišnými funkčními znaky. Menší míra relativní acidity kůry stromů je spojena s častějším výskytem lupenitých druhů lišejníků, větší acidita s výskytem lišejníků se sorediemi. Druhy s keříčkovitou stélkou se větší míře vyskytují ve světlejších typech lesa. (Giordani *et al.*, 2012)

2.4.3 Vztah ekologického gradientu a druhové diverzity

Celková funkční diverzita optimalizovaná fylogenetickými vztahy se u lišejníků snižuje s rostoucí výškovou polohou. Ač s rostoucí nadmořskou výškou jsou lišejníky více ve stresu, jejich druhová bohatost narůstá. Pozitivní vliv na ní má i nárůst světla nebo přirozenost stanoviště. Fylogeneticky příbuzné druhy si jsou ve funkčních charakteristikách více podobní. (Bässler *et al.*, 2016) Na narušených stanovištích se vyskytuje méně vzácných druhů. (Johansson *et al.*, 2006)

3 VELIKOST GENOMU

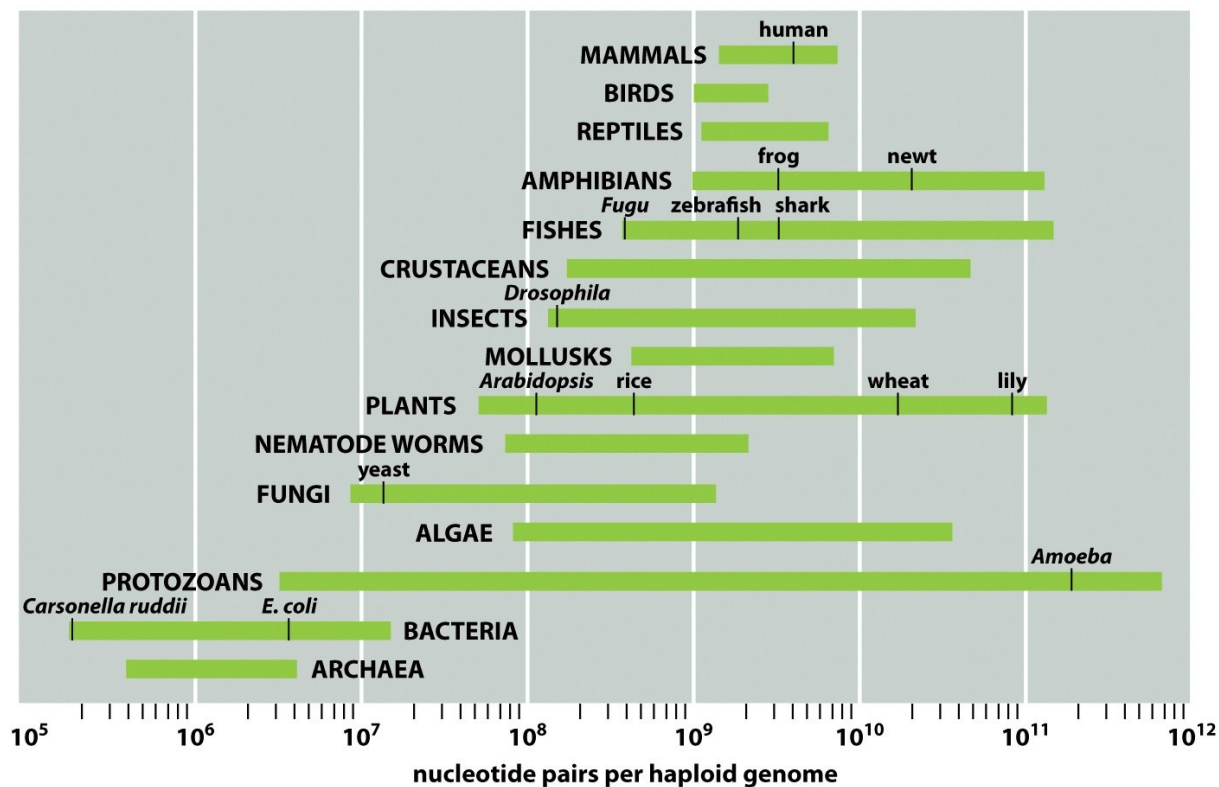
Genetická informace organismů je uložena a předávána prostřednictvím molekul nukleových kyselin přítomných v buňce. U eukaryotických organismů se jedná o deoxyribonukleovou kyselinu uloženou převážně v jádře a částečně v semiautonomních

organelách, jakými jsou mitochondrie a plastidy. DNA jednotlivých organismů se liší uspořádáním, rozdělením do chromozomů, množstvím a druhem vyskytujících se genů, frekvencí obsažených kódujících a nekódujících úseků a celkovým množstvím přítomných párů bází. (Alberts *et al.*, 2013)

Pokud chceme porovnávat velikosti genomů mezi sebou a uvažovat nějaké souvislosti, nestačí pracovat pouze s objemem jádra nebo informace, ale také s ploidií. I během samotného buněčného cyklu se celkový objem DNA proměňuje zásadním způsobem, neboť se během S fáze zdvojnásobí, aby se mohl rozdělit buněčným dělením do vznikajících dceřiných buněk. (Alberts *et al.*, 2013) Diploidní organismy mají dvě sady chromozomů, které během životního cyklu mohou být v jedné nebo dvou kopiích. Některé polyploidní organismy, jako například rostliny, mají chromozomy ve více sadách. Tím také mají srovnatelně více DNA v jádrech. Také proto je pro popis velikosti genomu pracováno s hodnotou vyjadřující jako základní jednotku haploidní genom, která se jinak označuje jako „C-value“, a zkráceně vyjadřuje, v kolika kopiích se haploidní genom v buňkách nachází jako 2C, 4C, 8C, ... (Swift, 1950) Avšak větší množství DNA tvořící haploidní genom neznamena větší komplexitu organismu. (Mirsky and Ris, 1951) Tento jev je označován jako „C-value paradox“ a zjednodušeně by se mohl vysvětlit tím, že různě velká část celkové DNA může obsahovat nekódující sekvence. (Thomas, 1971)

V porovnání mezi všemi organismy jsou hodnoty velikosti genomu velmi rozdílné (Obr. 2) a mohou být v nejextrémnějším případě až v řádu 100 000 násobku. (Gregory, 2001) Jelikož rozdílné hodnoty „C-value“ nejsou dány jen obsahem jiného množství genů spojeného s komplexností organismu (Mirsky and Ris, 1951), existují teorie navrhuující jiné důvody těchto rozdílů související s obsahem a akumulací nekódující DNA (Gregory, 2001). Tyto teorie vysvětlují obsah nekódující DNA buď skrze akumulaci mutací genetickým driftem (Ohno, 1972), schopnost některých úseků se samostatně množit a šířit (Doolittle and Sapienza, 1980), přizpůsobení se selekčnímu tlaku na velikost jádra (Cavalier-Smith, 1982), nebo na velikost buňky (Bennett and Finch, 1971).

Obrázek 2: Porovnání velikostí genomů mezi organismy Silnými čarami je vyznačen známý rozsah možné velikosti haploidního genomu u jednotlivých skupin (Alberts *et al.*, 2013)



3.1 Měření velikosti genomu

Měření velikosti genomů se rutinně používá například u cévnatých rostlin. (Bennett and Leitch, 2005) Nejčastější metodou používanou k tomuto účelu je průtoková cytometrie. (Dolezelt *et al.*, 1998) Mimo jiné je tímto způsobem možné odhalit polyploidizaci, která je u rostlin velmi běžná. (Tate, Soltis and Soltis, 2005) Další možností zjištění velikosti genomu je použití kvantitativní PCR, nebo souhrnného výsledku celogenomové sekvenace. Existuje množství studií pro houby a řasy, avšak znalosti o symbiontech v lišejníku jsou v tomto směru velmi malé.

3.1.1 Metody měření

Většina dat o velikostech genomů mykobiontů byla doposud získána metodou průtokové cytometrie, celogenomovým sekvenováním nebo kvantitativním PCR.

Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (FCM, z anglického flow cytometry) je instrumentální metoda využívaná ke studiu buněk. Princip přístroje využívá chemické a fyzikální vlastnosti studovaných komponent buňky. Pomocí vhodného fluorescenčního barviva se specificky obarví například DNA. Po vložení vzorku do přístroje se pomocí regulovaného proudu eluentu nechává strhávat vzorek do tvaru tenké proudotrubice. Pomocí tlaku eluentu se docílí co nejužšího, ale přitom kontinuálního tvaru proudotrubice se vzorkem. Tak se totiž přibližujeme ideálnímu uspořádání, kdy jednotlivé komponenty proudí přístrojem v jedné řadě. Na tento proud necháváme dopadat svazek monochromatického světla, který po dopadu na obarvenou složku excituje záření o exkluzivní vlnové délce. Intenzita a úhel excitovaného záření je v souvislosti s velikostí sledované částice. Po zpracování optickým systémem přístroje lze tedy dostat signál, který se následně převede pomocí fotodiod do digitálního signálu a obsahuje informaci o velikosti studovaných komponent buňky. (Dolezelt *et al.*, 1998)

Průtoková cytometrie je v současnosti široce využívanou metodou pro zjištění velikosti genomu. Pro aplikaci FCM v mykologii byla zpracována speciální metodika (Kullman, 2000), která by mohla být použitelná pro měření mykobiontů.

Kvantitativní PCR

Kvantitativní řetězová polymerázová reakce (quantitative polymerase chain reaction, PCR), také často označovaná jako Real-time PCR, je varianta klasického principu PCR. Jak napovídá jiný název, analýza DNA probíhá v reálném čase. Na rozdíl od klasické PCR, kde jsou jednotlivé ampflifikované úseky DNA pomocí elektroforézy analyzovány až po proběhnutí reakce, je při Real-time PCR využito fluorescenčních barviv se specifickou vazností. Pomocí optické soustavy poté lze pozorovat intenzitu excitovaného světla, a tak získat informace potřebné pro kvantifikování úseku DNA. (Boggy and Woolf, 2010)

Sekvenování genomu

Sekvenováním genomu se označují principy zjištění přesného pořadí bází v molekule DNA. K tomu se užívá nejrůznějších biochemických metod. Pro alespoň částečné zlevnění a zkrácení času potřebného k sekvenaci je vyvinuto několik optimalizačních

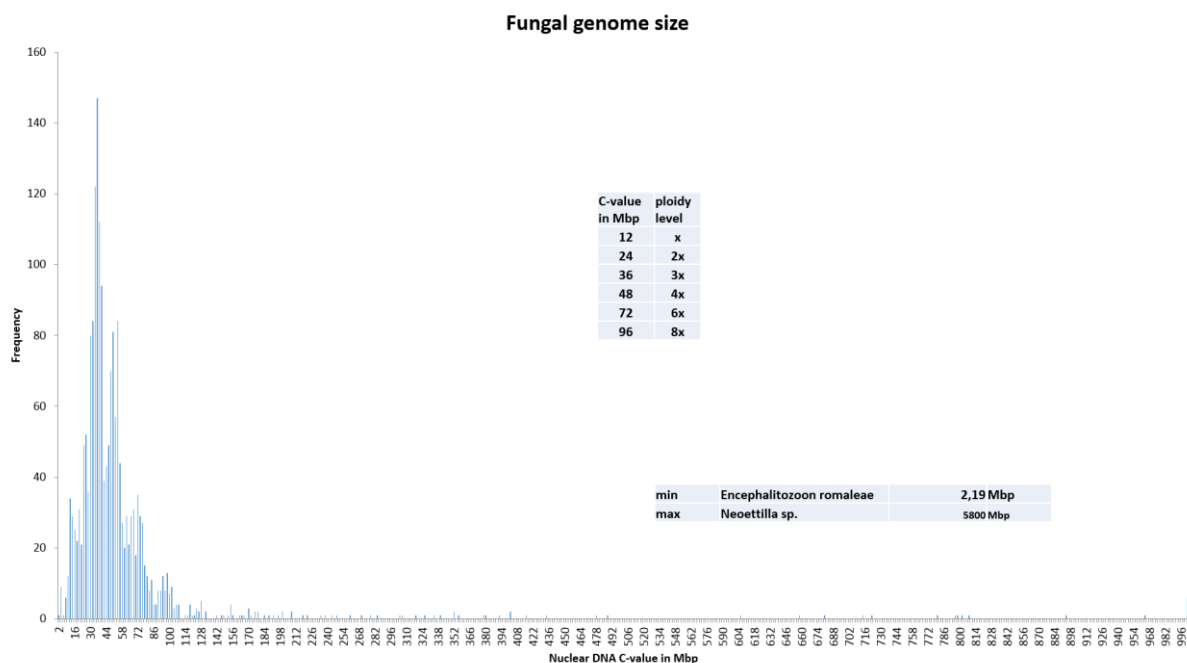
postupů. Například metoda „*Whole-genome shotgun*“, při které se nejprve celý genom náhodně rozštípe na různě dlouhé segmenty. Teprve tyto se sekvenují a po osekvenování se pomocí kombinatorického softwaru se dílčí sekvence složí dohromady. (Alberts *et al.*, 2013)

3.1.2 Genom hub, řas

Pro orientaci ve znalostech o velikostech genomů hub byla v roce 2005 vytvořena databáze *Fungal Genome Size Database* (Kullman, Tamm and Kullman, 2005).

V současnosti obsahuje 2336 záznamů o hodnotách velikosti genomů (Obr. 3) zjištěných u jednotlivých druhů různými metodami a různými autory. Tato databáze zahrnuje také asi desítku lichenizovaných hub.

Obrázek 3: Rozložení hodnot velikosti genomu hub v *Fungal Genome Size Database*
Sloupcový graf znázorňuje kolik druhů hub v databázi má určité rozmezí hodnot velikosti genomu (Kullman, Tamm and Kullman, 2005)



Informace o „C-values“ rostlin a řas jsou shromážděny v *Plant DNA C-value Database 6.0* (Bennett and Leitch, 2012), která v současnosti obsahuje data k 8510 druhům.

3.1.3 Genom lišejníků

Velikost genomu symbiontů

První studie, určující velikost genomu symbiontů v lišejníku, byla provedena na druhu *Cladonia grayi*. U haploidního genomu fotobionta rodu *Asterochloris* byla naměřena velikost 106,7 Mb („megabází“, jednotka určující počet párů nukleotidů v řetězci DNA), genom mykobionta byl naměřen 28,6 Mb velký. Výsledky pro mykobionta v rámci pododdělení Pezizomycotina jsou někde uprostřed známého rozmezí, řasa je spíše mezi druhy s menším genomem při porovnání v rámci třídy Trebouxiophyceae. Vzorky byly získány z kultur oddělených symbiontů, získaných ke kultivaci ze soredií. Data byla získána metodou založenou na kvantitativním PCR a nebyla oddělována jaderná DNA od DNA mitochondrií a plastidů, jejichž vliv byl určen jako zanedbatelný. (Armaleo and May, 2009) Existuje však pozdější měření (Mueller, 2011), které získalo jiné výsledky pomocí sekvenace.

Celogenomová sekvenace

První mykobiont s kompletně osekvenovaným genomem je součástí terikolního lišejníku *Endocarpon pusillum*. Kromě identifikace genů byla změřena také celková velikost genomu, a to na 37,5 Mb (Wang *et al.*, 2011, 2014). Také byl osekvenován fotobiont (*Symbiochloris*) i mykobiont *Lobaria pulmonaria* a mykobiont druhu *Usnea Florida*, *Xanthoria parietina* a *Tripethelium eluteniae* (JGI Fungi Portal), ne všechny tyto výsledky jsou však přístupné. Velikosti nebo částečné velikosti genomů dalších několika druhů byly získány v rámci rozsáhlejšího genového srovnávání lišejníků v rámci studie srovnávající výskyt konkrétních genů. (McDonald *et al.*, 2013)

Mitochondriální genom mykobionta

V rámci podrobného obsahového srovnávání mitochondriálních genomů mykobiontů dvou druhů lišejníků rodu *Peltigera* byly změřeny i jejich celkové velikosti. U hávnatky *Peltigera malacea* byla zjištěna délka 63,363 kb a u *P. membranacea* 62,785 kb. (Xavier *et al.*, 2012) V podobné, nedávno provedené studii, bylo pro analýzu vybráno místo dvou příbuzných druhů 22 druhů odlišných rodů lišejníků. U genomu mitochondrií byla změřena jejich velikost a zanalyzován obsah a rozložení genů. Velikost se pohybovala v intervalu 24-120 kb. (Pogoda *et al.*, 2018)

Souhrn známých velikostí genomu mykobionta

Druh	Velikost	Metoda
<i>Letharia vulpina</i>	54,5 Mb	FI-PC
<i>Micarea prasina</i>	14,6 Mb	FI-PC
<i>Porpidia crustulata</i>	29,2 Mb	FI-PC
<i>Mycocalicium subtile</i>	24,51 Mb	FI-PC
<i>Calicium adpersum</i>	25,27 Mb	FI-PC
<i>Tripethelium elutariae</i>	32,16 Mb	CS
<i>Baeomyces rufus</i>	25,27 Mb	FI-PC
<i>Endocarpon pusillum</i>	37,5 Mb	CS
<i>Letharia californica</i>	78,28 Mb	FI-PC
<i>Xanthoria parietina</i>	40,0 Mb /31.9Mb	CS
<i>Cladonia grayi</i>	34,6 Mb /28,6 Mb	CS/PCR

Tabulka 1: Známé velikosti genomů mykobiontů, FI-PC: fotometrický cytometr, CS: celogenomová sekvenace, PCR: kvantitativní PCR, podle: (Kullman, Tamm and Kullman, 2005; Armaleo and May, 2009; Wang *et al.*, 2014)

V databázi *Fungal Genome Size Database* (Kullman, Tamm and Kullman, 2005) je možné dohledat kolem deseti druhů lichenizovaných hub s naměřenou velikostí genomu mykobionta. Ne všechny tyto naměřené hodnoty byly publikovány v literatuře. Metodika přesného měření není ještě v literatuře zpracovaná a některá měření opakovaná na stejném druhu se rozcházejí ve výsledných hodnotách (*Cladonia grayi*, *Xanthoria parietina*).

3.4 C-hodnota jako funkční znak lišejníku, vztah s ekologií

Velikost genomu má přímé dopady na fungování buňky. Organismy s větším genomem mají větší jádro a jejich dělení probíhá pomaleji, v důsledku množství informace, kterou je nutné replikovat. (Van't Hof and Sparrow, 1963) Větší objem jádra souvisí dále s většími buňkami. (Cavalier-Smith, 1982) Ovšem tento vztah se může projevovat v různém poměru. (Gregory, 2001) Díky tomu může být velikost genomu znakem, který má souvislost i s ekologií organismu a může být tedy funkčním znakem. Hlavní vliv na stavbu a růst těla i velikost šířících se propagulí má v lišejníku mykobiont. (Nash, 2008) Proto pokud by měla být velikost genomu použita jako funkční znak, bude nejvhodnější u lišejníku pracovat hlavně s C-hodnotou mykobionta.

3.4.1 Důvody různé velikosti genomu mykobiontů

Při výzkumu, který by používal srovnání velikosti genomů mykobiontů, by mohly být naměřené hodnoty ovlivněny podobnými vlivy na velikost, jaké jsou pozorovány obecněji u askomycet, bazidiomycet nebo u jiných skupin hub.

U některých druhů hub je například pozorována polyploidie (Albertin and Marullo, 2012), nebo vícenásobné genové duplikace (Cornell *et al.*, 2007). Ve velikosti genomu se může také odrážet přítomnost genů pro symbiotické interakce. (Martin *et al.*, 2008)

3.4.2 Aplikace u podobných organismů

Velikost genomu může mít i další funkční souvislosti. U rostlin byla například objevena souvislost s teplotou, ve které rostliny rostou. Rostliny, které mají větší objem DNA, se ukázaly z nevysvětlených důvodů odolnější vůči mrazu, zatímco těm s malými genomy mraz vadil (MacGillivrail and Grime, 2009) a lépe prospívaly v teplejších podmínkách (Grime, 1998). Další souvislosti byly nalezeny také ve vztahu většího genomu k dřívějšímu a rychlejšímu růstu listů na jaře. (Grime *et al.*, 1985) Ve vztahu k velikosti semene vede větší objem DNA k větší velikosti semene a zároveň k nižší teplotě potřebné pro klíčení a růst. (Thompson, 1990)

V rámci hub existuje studie zabývající se vztahem velikosti a tvaru spor dřevokazných hub s jejich ekologickou strategií, která zjistila, že větší spóry mají houby, které mají

zároveň větší basidiokarp, jsou parazitické (oproti saprotrofním) a napadají listnaté stromy. (Kauserud, Colman and Ryvarden, 2008)

3.4.3 Velikost genomu jako funkční znak lišejníku

Nenalezla jsem žádnou práci, která by se zabývala ekologickými dopady velikosti genomu fotobionta nebo mykobionta lišejníku. Právě tato problematika by si však jistě v budoucnosti zasloužila pozornost, protože poskytuje možnost objevení nových poznatků.

4 ZÁVĚR

Sledování funkční diverzity lišejníků může být vhodný přístup při výzkumu dopadu různých ekologických gradientů na složení lišejníkových komunit, zejména v situacích, kdy není možné vhodně použít srovnání pomocí složení druhové diverzity. (Lewis and Ellis, 2010) Funkčními znaky, které jsou v lichenologických studiích úspěšně používány a mají prokazatelný vztah s fungováním lišejníku, je zejména vyskytující se typ stélky, typ fotobionta nebo lišejníky používaný způsob rozmnožování a šíření. Existuje řada výzkumů, které našly konkrétní spojení mezi výskytem určitých charakterů funkčních znaků se specifickými podmínkami prostředí.

Jsou známé informace o velikostech genomu mykobionta u přibližně 15 druhů lišejníků a o velikosti genomu minimálně dvou druhů fotobiontů. U některých druhů jsou dokonce známy celogenomové sekvence. (Wang *et al.*, 2014)

Vytvořením souhrnu informací týkajících se funkčních znaků a velikosti genomu lišejníků, se mi v práci podařilo splnit vytčené cíle.

Literatura:

Albertin, W. and Marullo, P. (2012) 'Polyploidy in fungi: Evolution after whole-genome duplication', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1738), pp. 2497–2509. doi: 10.1098/rspb.2012.0434.

Alberts, B. *et al.* (2013) *Essential cell biology*. Available at: <https://www.google.com/books?hl=cs&lr=&id=Cg4WAqAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR4&dq=cell+alberts&ots=ye5M5M-7O5&sig=-lDjbdFcMlfTBdx2l4k12l6mOKw> (Accessed: 12 August 2018).

Aptroot, A. and van Herk, C. M. (2007) 'Further evidence of the effects of global warming on lichens, particularly those with Trentepohlia phycobionts', *Environmental Pollution*, 146(2), pp. 293–298. doi: 10.1016/j.envpol.2006.03.018.

Armaleo, D. and May, S. (2009) 'Sizing the fungal and algal genomes of the lichen *Cladonia grayi* through quantitative PCR', *Symbiosis*, 49(1), pp. 43–51. doi: 10.1007/s13199-009-0012-3.

Asplund, J. *et al.* (2014) 'The influence of tree-scale and ecosystem-scale factors on epiphytic lichen communities across a long-term retrogressive chronosequence', *Journal of Vegetation Science*, 25(4), pp. 1100–1111. doi: 10.1111/jvs.12149.

Asplund, J. and Wardle, D. A. (2014) 'Within-species variability is the main driver of community-level responses of traits of epiphytes across a long-term chronosequence', *Functional Ecology*, pp. 1513–1522. doi: 10.1111/1365-2435.12278.

Asplund, J. and Wardle, D. A. (2015) 'Changes in functional traits of the terricolous lichen *Peltigera aphthosa* across a retrogressive boreal forest chronosequence', *Lichenologist*. doi: 10.1017/S0024282915000092.

Asplund, J. and Wardle, D. A. (2017) 'How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties', *Biological Reviews*. doi: 10.1111/brv.12305.

Atala, C. *et al.* (2015) 'Anatomical, physiological and chemical differences between populations of *Pseudocyphellaria flavicans* (Hook. f. & Taylor) Vain. from Chile',

Gayana. Botánica. doi: 10.4067/S0717-66432015000100003.

Bässler, C. *et al.* (2016) ‘Contrasting patterns of lichen functional diversity and species richness across an elevation gradient’, *Ecography*. doi: 10.1111/ecog.01789.

de Bello, F. *et al.* (2010) ‘Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits’, *Biodiversity and Conservation*. doi: 10.1007/s10531-010-9850-9.

Benítez, A. *et al.* (2018) ‘Functional traits of epiphytic lichens in response to forest disturbance and as predictors of total richness and diversity’, *Ecological Indicators*. doi: 10.1016/j.ecolind.2017.12.021.

Bennett, M. D. and Finch, R. A. (1971) ‘Duration of meiosis in barley’, *Genetical Research*. Cambridge University Press, 17(03), p. 209. doi: 10.1017/S0016672300012234.

Bennett, M. D. and Leitch, I. J. (2005) ‘Genome Size Evolution in Plants’, *The Evolution of the Genome*. Academic Press, pp. 89–162. doi: 10.1016/B978-012301463-4/50004-8.

Bennett, M. D. and Leitch, I. J. (2012) *Plant DNA C-values database*. Available at: <http://data.kew.org/cvalues/> (Accessed: 15 August 2018).

Blaha, J., Baloch, E. and Grube, M. (2006) ‘High photobiont diversity associated with the euryoecious lichen-forming ascomycete *Lecanora rupicola* (Lecanoraceae, Ascomycota)’, *Biological Journal of the Linnean Society*, 88(2), pp. 283–293. doi: 10.1111/j.1095-8312.2006.00640.x.

Boggy, G. J. and Woolf, P. J. (2010) ‘A Mechanistic Model of PCR for Accurate Quantification of Quantitative PCR Data’, *PLoS ONE*. Edited by T. Ravasi. Public Library of Science, 5(8), p. e12355. doi: 10.1371/journal.pone.0012355.

Cavalier-Smith, T. (1982) ‘Skeletal DNA and the Evolution of Genome Size’, *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA , 11(1), pp. 273–302. doi: 10.1146/annurev.bb.11.060182.001421.

Cornell, M. J. *et al.* (2007) ‘Comparative genome analysis across a kingdom of eukaryotic organisms: Specialization and diversification in the Fungi’, *Genome Research*, 17(12), pp.

1809–1822. doi: 10.1101/gr.6531807.

Czehura, S. (1977) 'A lichen indicator of copper mineralization, Lights Creek District, Plumas County, California', *Economic Geology*. GeoScienceWorld, 72(5), pp. 796–803. doi: 10.2113/gsecongeo.72.5.796.

Deane-Coe, K. K. and Stanton, D. (2017) 'Functional ecology of cryptogams: scaling from bryophyte, lichen, and soil crust traits to ecosystem processes', *New Phytologist*, 213(3), pp. 993–995. doi: 10.1111/nph.14408.

Díaz, S. and Cabido, M. (2001) 'Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes', *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11), pp. 646–655. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02283-2.

Dolezelt, J. *et al.* (1998) 'Plant Genome Size Estimation by Flow Cytometry : Inter-laboratory Comparison *', *Annals of Botany*, 82(August), pp. 17–26.

Doolittle, W. F. and Sapienza, C. (1980) 'Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution', *Nature*, 284(5757), pp. 601–603. doi: 10.1038/284601a0.

Ellis, C. J. and Coppins, B. J. (2006) 'Contrasting functional traits maintain lichen epiphyte diversity in response to climate and autogenic succession', *Journal of Biogeography*. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01522.x.

Ellis, C. J. and Coppins, B. J. (2007) 'Reproductive strategy and the compositional dynamics of crustose lichen communities on aspen (*Populus tremula* L.) in Scotland', *Lichenologist*. doi: 10.1017/S0024282907006937.

Giordani, P. *et al.* (2012) 'Functional traits of epiphytic lichens as potential indicators of environmental conditions in forest ecosystems', *Ecological Indicators*. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.12.006.

Gregory, T. R. (2001) 'Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C - value enigma', *Biological Reviews*, 76, pp. 65–101.

Grime, J. *et al.* (1985) 'Nuclear DNA contents, shoot phenology and species co-existence in a limestone grassland community', *Wiley Online Library*. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1469-8137.1985.tb02792.x> (Accessed: 12

August 2018).

Grime, J. P. (1977) 'Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory', *The American Naturalist*, 111(982), pp. 1169–1194. doi: 10.1086/283244.

Grime, J. P. (1998) 'Plant classification for ecological purposes: Is there a role for genome size?', *Annals of Botany*, 82(SUPPL. A), pp. 117–120. doi: 10.1006/anbo.1998.0723.

Grube, M. and Berg, G. (2010) 'Microbial consortia of bacteria and fungi with focus on the lichen symbiosis', *Fungal Biology Reviews*. Elsevier Ltd, 23(3), pp. 72–85. doi: 10.1016/j.fbr.2009.10.001.

Hauck, M. and Jürgens, S.-R. (2008) 'Usnic acid controls the acidity tolerance of lichens', *Environmental Pollution*. Elsevier, 156(1), pp. 115–122. doi: 10.1016/J.ENVPOL.2007.12.033.

Hedenås, H., Blomberg, P. and Ericson, L. (2007) 'Significance of old aspen (*Populus tremula*) trees for the occurrence of lichen photobionts', *Biological Conservation*, 135(3), pp. 380–387. doi: 10.1016/j.biocon.2006.10.008.

JGI Fungi Portal - Home (no date). Available at:

<https://genome.jgi.doe.gov/programs/fungi/index.jsf> (Accessed: 15 August 2018).

Johansson, P. *et al.* (2006) 'Habitat Preference, Growth Form, Vegetative Dispersal and Population Size of Lichens along a Wildfire Severity Gradient', *The Bryologist*, 109(4), pp. 527–540.

Kausrud, H., Colman, J. E. and Ryvarden, L. (2008) 'Relationship between basidiospore size, shape and life history characteristics: a comparison of polypores', *Fungal Ecology*, 1(1), pp. 19–23. doi: 10.1016/j.funeco.2007.12.001.

Kershaw, K. A. (1985) *Physiological Ecology of Lichens*. Cambridge University Press (Cambridge Studies in Ecology). Available at: <https://books.google.cz/books?id=0vKBD1BAmQcC>.

Koch, N. M. *et al.* (2013) 'Functional diversity and traits assembly patterns of lichens as indicators of successional stages in a tropical rainforest', *Ecological Indicators*. doi:

10.1016/j.ecolind.2013.04.012.

Kullman, B. (2000) 'Application of Flow Cytometry for Estimation of Nuclear Dna Content in fungi', *Folia Cryptog.*, 20(June), pp. 447–452.

Kullman, B., Tamm, H. and Kullman, K. (2005) *Fungal Genome Size Database*. Available at: <http://www.zbi.ee/fungal-genomesize/> (Accessed: 11 August 2018).

Lakatos, M., Rascher, U. and Büdel, B. (2006) 'Functional characteristics of corticolous lichens in the understory of a tropical lowland rain forest', *New Phytologist*. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01871.x.

Lange, O. L., Kilian, E. and Ziegler, H. (1986) 'Water vapor uptake and photosynthesis of lichens: performance differences in species with green and blue-green algae as phycobionts', *Oecologia*, 71(1), pp. 104–110. doi: 10.1007/BF00377327.

Lewis, J. E. J. and Ellis, C. J. (2010) 'Taxon- compared with trait-based analysis of epiphytes, and the role of tree species and tree age in community composition', *Plant Ecology and Diversity*. doi: 10.1080/17550874.2010.505966.

Li, S., Liu, W.-Y. and Li, D.-W. (2013) 'Bole epiphytic lichens as potential indicators of environmental change in subtropical forest ecosystems in southwest China', *Ecological Indicators*. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.12.012.

MacGillivray, C. W. and Grime, J. P. (2009) 'Genome Size Predicts Frost Resistance in British Herbaceous Plants : Implications for Rates of Vegetation Response to Global Warming Author (s): C . W . MacGillivray and J . P . Grime Source : Functional Ecology , Vol . 9 , No . 2 (Apr . , 1995) , pp . ', *Functional Ecology*, 9(2), pp. 320–325.

Marini, L., Nascimbene, J. and Nimis, P. L. (2011) 'Large-scale patterns of epiphytic lichen species richness: Photobiont-dependent response to climate and forest structure', *Science of the Total Environment*. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.07.010.

Martin, F. *et al.* (2008) 'The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis', *Nature*, 452(7183), pp. 88–92. doi: 10.1038/nature06556.

Matos, P. *et al.* (2015) 'Lichen traits responding to aridity', *Journal of Ecology*. doi: 10.1111/1365-2745.12364.

- McDonald, T. R. *et al.* (2013) ‘High-throughput genome sequencing of lichenizing fungi to assess gene loss in the ammonium transporter / ammonia permease gene family High-throughput genome sequencing of lichenizing fungi to assess gene loss in the ammonium transporter / ammonia permease’, *BMC Genomics*. doi: 10.1186/1471-2164-14-225.
- McGill, B. J. *et al.* (2006) ‘Rebuilding community ecology from functional traits’, *Trends in Ecology and Evolution*, 21(4), pp. 178–185. doi: 10.1016/j.tree.2006.02.002.
- Mirsky, A. and Ris, H. (1951) ‘The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance’, *The journal of general physiology*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc2147229/> (Accessed: 15 August 2018).
- Nash, T. H. I. (2008) *Lichen biology*.
- Nelson, P. R., McCune, B. and Swanson, D. K. (2015) ‘Lichen traits and species as indicators of vegetation and environment’, *The Bryologist*. doi: 10.1639/0007-2745-118.3.252.
- Ohno, S. (1972) ‘So much ‘junk’ DNA in our genome’, *Evolution of Genetic*. Available at: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10005720377/> (Accessed: 15 August 2018).
- Pogoda, C. S. *et al.* (2018) ‘Reductions in complexity of mitochondrial genomes in lichen-forming fungi shed light on genome architecture of obligate symbioses’, *Molecular Ecology*. doi: 10.1111/mec.14519.
- Prieto, M. *et al.* (2017) ‘Phylogenetic and functional structure of lichen communities under contrasting environmental conditions’, *Journal of Vegetation Science*. doi: 10.1111/jvs.12544.
- Rogers, R. W. (1990) ‘Ecological strategies of lichens’, *The Lichenologist*. doi: 10.1017/S002428299000010X.
- Stofer, S. *et al.* (2006) ‘Species richness of lichen functional groups in relation to land use intensity’, in *Lichenologist*. doi: 10.1017/S0024282906006207.
- Swift, H. (1950) ‘The Constancy of Desoxyribose Nucleic Acid in Plant Nuclei’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 36(11), pp. 643–654. doi: 10.1073/pnas.36.11.643.
- Tate, J. A., Soltis, D. E. and Soltis, P. S. (2005) ‘Polyploidy in Plants’, *The Evolution of the Genome*. Academic Press, pp. 371–426. doi: 10.1016/B978-012301463-4/50009-7.

- Thomas, C. A. (1971) 'The Genetic Organization of Chromosomes', *Annual Review of Genetics*, 5(1), pp. 237–256. doi: 10.1146/annurev.ge.05.120171.001321.
- Thompson, K. (1990) 'Genome size, seed size and germination temperature in herbaceous angiosperms.', *Evolutionary Trends in Plants*, 4(2), pp. 113–116. Available at: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19911621484> (Accessed: 12 August 2018).
- Van't Hof, J. and Sparrow, A. H. (1963) 'A relationship between DNA content, nuclear volume, and minimum mitotic cycle time', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 49, pp. 897–902. doi: 10.1073/pnas.49.6.897.
- Wang, Y.-Y. *et al.* (2014) 'Genome characteristics reveal the impact of lichenization on lichen-forming fungus *Endocarpon pusillum* Hedwig (Verrucariales, Ascomycota)', *BMC Genomics*. BioMed Central, 15(1), p. 34. doi: 10.1186/1471-2164-15-34.
- Wang, Y. Y. *et al.* (2011) 'Construction and characterization of a full-length cDNA library from mycobiont of *Endocarpon pusillum* (lichen-forming Ascomycota)', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(12), pp. 2873–2884. doi: 10.1007/s11274-011-0768-5.
- Werth, S. and Sork, V. L. (2010) 'Identity and genetic structure of the photobiont of the epiphytic lichen *Ramalina menziesii* on three oak species in southern California', *American Journal of Botany*, 97(5), pp. 821–830. doi: 10.3732/ajb.0900276.
- Wolseley, P. A. and Aguirre-Hudson, B. (1997) 'The ecology and distribution of lichens in tropical deciduous and evergreen forests of northern Thailand', *Journal of Biogeography*, 24(3), pp. 327–343. doi: 10.1046/j.1365-2699.1997.00124.x.
- Xavier, B. B. *et al.* (2012) 'Mitochondrial genomes from the lichenized fungi *Peltigera membranacea* and *Peltigera malacea*: Features and phylogeny', *Fungal Biology*, 116(7), pp. 802–814. doi: 10.1016/j.funbio.2012.04.013.