

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
BIOLOGICKÁ FAKULTA

Bakalářská práce

Charakteristika cyanobiontů  
vybraných evropských lišejníků



Hana Pokorná

školitel: RNDr. Jan Kaštovský, PhD.

2004



**Pokorná, H. (2004)** Charakteristika cyanobiontů vybraných evropských lišejníků. [Characterization of cyanobionts from several European lichen species. Bc. Thesis, in Czech] – 27 p., Faculty of Biological Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:** Not all lichen cyanobionts can be reliably identified in their lichenized state. In some cases, identification is possible only after the photobiont has been extracted from the lichen thallus and grown in culture under laboratory conditions. This study shows the plastic morphology of cyanobionts from several European lichen species.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama pouze s použitím citované literatury.

České Budějovice, 5. 5. 2004



### **Poděkování:**

Chtěla bych poděkovat svému školiteli za prospěšné rady, Honzovi Vondrákovi za jeho štědrost, Simče Šafarčíkové, Bári Vašákové, Ifě Bártů, Poky Pokorné starší za naslouchání a klid, Alíkovi Melounovi za hardware+software a všem lidem, kteří vytvářejí to nezbytné okolo... Také bych chtěla poděkovat výrobci čokoládové tyčinky Margot, která byla mou jedinou společnicí v nevlídných ranních hodinách.

Největší dík však patří mým rodičům, kteří mi jak fyzicky tak finančně umožnili prožívat toto nádherné peklo ☺.

# Obsah

## 1. Úvod

- 1. 1. Lišejníky.....1
- 1. 2. Cyanobionti.....1
- 1. 3. Specifita kmenů *Nostoc* spp. v jednotlivých lišejnících.....4
- 1. 4. Klasifikace lichenizovaných kmenů *Nostoc* spp. ....5
- 1. 5. Cíle práce.....5

## 2. Materiál.....6

## 3. Metody

- 3. 1. Fotodokumentace a identifikace fotobionta ve stélce.....7
- 3. 2. Kultivace.....7
- 3. 3. Kontrola rostoucích kultur fotobionta.....8

## 4. Výsledky

- 4. 1. *Peltigera* spp. ....8
- 4. 2. *Thermutis vellutina*.....14
- 4. 3. *Placynthium nigrum*.....15
- 4. 4. *Anema tumidulum*.....16
- 4. 5. *Collema* spp. ....17
- 4. 6. *Leptogium* spp. ....19
- 4. 7. *Nephroma* spp. ....19
- 4. 8. *Lobaria amplissisima*.....20

## 5. Diskuze.....20

## 6. Závěr.....23

## 7. Použitá literatura.....24

# 1. Úvod

## **1.1 Lišejníky**

Mnoho autorů dnes definuje lišejníky jako ekologicky obligátní dlouhožijící společenství fototrofního organismu a houby, v němž houba vytváří specifickou – symbiózou indukovanou – stélku (AHMADJIAN 1993; HAWKSWORTH 1994). Vyjimečně může být dominantní složkou stélky fotobiont, který pak určuje vzhled lišejníku, zatímco hyfy mykobionta jsou v celkové biomase téměř nepatrné (*Thermutis velutina*).

Až 20% všech známých hub vytváří lišejníky (13 500 druhů). Nejčastěji jsou to zástupci ze skupiny *Ascomycetes* (98%), v nepatrném počtu také *Deuteromycetes* (1,6%) a *Basidiomycetes* (0,4%, HAWKSWORTH *et al.* 1995; RAI & BERGMAN 2000). Dvousložkové lišejníky mají pouze jednoho – primárního – fotobionta a tím může být buď řasa (tzv. fykobiont) nebo sinice (tzv. cyanobiont). Nejčastěji se jako fykobiont vyskytují rody *Trebouxia* a *Coccomyxa*.

Cyanobiont se může vyskytovat také jako sekundární fotobiont ve speciálních útvarech nazývaných cephalodia, která mohou vznikat buď uvnitř anebo na povrchu bipartitních lišejníků obsahujících jako primární fototrofní organismus řasu. Cephalodium se utváří tak, že mykobiont obrůstá cyanobionta, ale drží ho odděleně od svého primárního fotobionta. Někdy může být cephalodium klasifikováno jako jiný taxon. Tak je tomu např. u druhu *Lobaria aplissima*, jejíž externí cephalodia se mohou osamostatnit a označují se jako *Dendriscoaulon umhausense*. Jedna houba tak vytváří dva různé morfotypy indukované různými fotobionty (JAMES & HENSSEN 1976; JØRGENSEN 1998). Systematika lišejníků se však odvíjí od mykobiontů, takže název rodu nic nevyovídá o symbiotickém systému, ale pouze o houbovém partnerovi a výše popsaný případ je vlastně výjimkou (GREUTER 1988).

Jako primární fotobiont se sinice objevují v 10% lišejníků, zatímco sekundárním fototrofním organismem jsou ve stélkách 3-4% lišejníků (RAI & BERGMAN 2000).

## **1.2 Cyanobionti**

Nejčastěji lichenizovanou sinicí je *Nostoc*, který je přítomen v 8% lišejníků (1194 druhů, CHAPMAN & MARGULIS 1998). Méně častěji se pak objevují *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Scytonema*, *Calothrix*, *Dichothrix*, *Stigonema*, *Hyella*



(AHMADJIAN 1967) a *Chroococcidiopsis* (BOISSIÈRE et al. 1983; LANGE et al. 1993; WIRTH 1995).

Následující tabulka (Tabulka 1) ukazuje výčet 57 rodů lišejníků obsahujících jako fototrofního symbionta sinici (zahrnutý jsou i tripartitní rody s cephalodii). V druhém sloupci je zařazená klasifikace cyanobiontů, jak ji popisují různé literární prameny.

**Tabulka 1** – Seznam lišejníků s cyanobiontem.

| lišejník (rod)               | fotobiont  |
|------------------------------|--|
| <b><i>Amygdalaria</i></b>    | cephalodia: <i>Stigonema</i> (WIRTH 1995) / N  |
| <b><i>Anema</i>*</b>         | <i>Gloeocapsa</i> (WIRTH 1995), <i>Chroococcidiopsis</i> (BÜDEL & HENSSEN 1983), <i>Chroococcidiopsis</i> / <i>Myxosarcina</i> (LANGE et al. 1993) |
| <b><i>Arctomia</i></b>       | <i>Nostoc</i> (JØRGENSEN 2003)   |
| <b><i>Arthopyrenia</i>*</b>  | <i>Hyella</i> (SWINSCOW 1965), <i>Trentepohlia</i> (WIRTH 1995)  |
| <b><i>Calotrichopsis</i></b> | <i>Calothrix</i> (AHMADJIAN 1962)  |
| <b><i>Coccocarpia</i></b>    | <i>Scytonema</i> (SANTESSON 1952; LANGE et al. 1993)   |
| <b><i>Collema</i>*</b>       | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Cora</i></b>           | <i>Scytonema</i> ( <a href="http://www.botany.org/plantimages/Lichens.php">http://www.botany.org/plantimages/Lichens.php</a> )                     |
| <b><i>Degelia</i></b>        | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Dictyonema</i></b>     | <i>Scytonema</i> (BORNET 1873)   |
| <b><i>Ephebe</i>*</b>        | <i>Stigonema</i> (HENSSEN 1963), <i>Scytonema</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Erioderma</i></b>      | <i>Scytonema</i> (BORNET 1873)   |
| <b><i>Euopsis</i></b>        | <i>Gloeocapsa sanguinea</i> + <i>Trebouxia aggregata</i> (BÜDEL & HENSSEN 1987)  |
| <b><i>Gloeoheppia</i></b>    | <i>Gloeocapsa</i> (LANGE et al. 1993)  |
| <b><i>Gonohymenia</i>*</b>   | <i>Gloeocapsa</i> (LANGE et al. 1993), <i>Entophysalidaceae</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Heppia</i>*</b>        | <i>Scytonema</i> (WIRTH 1995; LANGE et al. 1993)   |
| <b><i>Hydrothyria</i></b>    | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  |
| <b><i>Koerberia</i></b>      | <i>Scytonema</i> (GOWARD 1999)   |
| <b><i>Lasioloma</i></b>      | cephalodia: <i>Scytonema</i> (AHMADJIAN 1967)  |
| <b><i>Lempholema</i>*</b>    | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Leptogium</i>*</b>     | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Lichenothrix</i></b>   | <i>Scytonema</i> (HENSSEN 1964)  |
| <b><i>Lichina</i></b>        | <i>Calothrix</i> (AHMADJIAN 1962) / <i>Dichothrix</i>  |
| <b><i>Lichinella</i>*</b>    | <i>Chroococcaceae</i> (HENSSEN 1963), <i>Pleurocapsales</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Lichinodium</i></b>    | <i>Scytonema</i> (HENSSEN 1963)  |
| <b><i>Lobaria</i>*</b>       | externí / interní cephalodia: <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b><i>Lopadium</i>*</b>      | cephalodia: <i>Scytonema</i> (AHMADJIAN 1967)  |
| <b><i>Massalongia</i>*</b>   | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  |
| <b><i>Metamelanea</i></b>    | <i>Chroococcales</i> (WIRTH 1995)  |

| <b>lišejník (rod)</b>                                | <b>fotobiont</b>  |
|--|---|
| <b>Moelleropsis*</b>                                 | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)  |
| <b>Nephroma*</b>                                     | <i>Nostoc</i> (primární) / interní cephalodia: <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b>Pannaria*</b>                                     | <i>Nostoc</i> (SCHIMAN 1957; Wirth 1995), <i>Scytonema</i> (BORNET 1873)  |
| <b>Parmeliella*</b>                                  | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)  |
| <b>Peccania*</b>                                     | <i>Gloeocapsa</i> (GEITLER 1937; LANGE <i>et al.</i> 1993),<br><i>Chroococcidiopsis</i> (BÜDEL & HENSSEN 1983; WIRTH 1995)                |
| <b>Peltigera*</b>                                    | <i>Nostoc</i> (primární) / cephalodia: <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  |
| <b>Peltula*</b>                                      | <i>Chroococcales</i> (WIRTH 1995), <i>Chroococcidiopsis</i> / <i>Myxosarcina</i> (LANGE <i>et al.</i> 1993)                               |
| <b>Petractis*</b>                                    | <i>Trentepohlia</i> / <i>Scytonema</i> (WIRTH 1995)   |
| <b>Phylliscum</b>                                    | <i>Chroococcus</i> (JAAG 1945), <i>Chroococcaceae</i> (WIRTH 1995)  |
| <b>Placynthium*</b>                                  | <i>Dichothrix</i> (GEITLER 1934), <i>Rivulariaceae</i> / <i>Scytonemataceae</i> (WIRTH 1995), <i>Calothrix</i> (LANGE <i>et al.</i> 1993) |
| <b>Polychidium*</b>                                  | <i>Nostoc</i> (Goward 1999) / <i>Scytonema</i> (HENSSEN 1963; WIRTH 1995)   |
| <b>Porocyphus*</b>                                   | <i>Calothrix</i> (AHMADJIAN 1962; Wirth 1995)   |
| <b>Pseudocyphellaria</b>                             | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000; SUMMERFIELD <i>et al.</i> 2002)   |
| <b>Psorotichia*</b>                                  | <i>Gloeocapsa</i> (JAAG 1945), <i>Chroococcidiopsis</i> (BÜDEL & HENSSEN 1983; LANGE <i>et al.</i> 1993; WIRTH 1995)                      |
| <b>Pterygiopsis*</b>                                 | <i>Chroococcaceae</i> (HENSSEN 1963)  |
| <b>Pyrenopsidium</b>                                 | <i>Chroococcus</i> (JAAG 1945)  |
| <b>Pyrenopsis</b>                                    | <i>Gloeocapsa</i> (JAAG 1945; WIRTH 1995)   |
| <b>Solorina*</b>                                     | interní cephalodia: <i>Nostoc</i> (Wirth 1995; MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)   |
| <b>Spilonema*</b>                                    | <i>Stigonema</i> (HENSSEN 1963; WIRTH 1995)/ <i>Hyphomorpha</i> (HENSSEN 1981; WIRTH 1995)  |
| <b>Stereocaulon*</b>                                 | cephalodia: <i>Nostoc</i> (LAMB 1951; WIRTH 1995), <i>Scytonema</i> / <i>Stigonema</i> (WIRTH 1995), <i>Gloeocapsa</i> (LAMB 1951)        |
| <b>Sticta*</b>                                       | zelená řasa/ <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   |
| <b>Synalissa*</b>                                    | <i>Gloeocapsa</i> (GEITLER 1937; WIRTH 1995)  |
| <b>Thermutis*</b>                                    | <i>Scytonema</i> (HENSSEN 1963; WIRTH 1995)   |
| <b>Thyrea*</b>                                       | <i>Gloeocapsa</i> (GEITLER 1937), <i>Chroococcales</i> / <i>Pleurocapsales</i> (WIRTH 1995)   |
| <b>Vestergrenopsis</b>                               | <i>Scytonema</i> (GOWARD 1999)  |
| <b>Zahlbrucknerella</b>                              | <i>Scytonema</i> (HENSSEN 1963)   |
| * lišejníky vyskytující se v ČR (VÉZDA & LIŠKA 1999) |   |

Identifikace cyanobionta a jeho systematické zařazení (byť jen do rodu), jsou často velmi obtížné, neboť morfologie a životní cyklus fotobionta je mnohdy lichenizací změněn tak, že se nedá užít běžných kritérií pro klasifikaci. Cytologické studie ukazují značné rozdíly mezi buňkami sinice *Nostoc* pozorovanými přímo ve stélce lišejníků a mezi těmi, které z nich byly



vykultivovány (BERGMAN & HÄLLBOM 1981; BOISSIÉRE 1987; KARDISH *et al.* 1989). Lichenizovaný *Nostoc* může mít silnější gelatinózní obal, menší a nepravidelné buňky, cyanophycinové granule a méně heterocytů (CHAPMAN & MARGULIS 1998). Naproti tomu, pokud je *Nostoc* sekundárním cyanobiontem v cephalodiích, může vzrůst počet heterocytů až na 30% všech buněk (RAI 1990). Symbiózou může být pozměněn i povrch buněk cyanobionta – zvětšený prstovitými výčnělky např. u *Nephroma laevigatum* (KARDISH *et al.* 1989) nebo u *Collema crispum* (BOISSIÉRE 1976).

### **1.3 Specifita kmenů *Nostoc* spp. v jednotlivých lišejnících**

Z dosavadních výsledků mnoha studií je zřejmé, že oproti velmi nespecifickým symbiózám rodu *Nostoc* s různými rostlinami (*Anthoceros*, *Phaeoceros*, *Blasia*, *Azolla*, *Gunnera* a *Cycas*), při kterých je v jedné rostlině několik různých kmenů této sinice (ENDERLIN & MEEKS 1983; BERGMAN *et al.* 1992; MEEKS 1998; COSTA *et al.* 1999; ADAMS 2000; RAI *et al.* 2000), je v lišejnících velmi vysoký stupeň specifity.

Většina dnešních prací se zabývá specifitou jednotlivých kmenů rodu *Nostoc* a jejich schopností formovat symbiózu s různými mykobionty. Používají se molekulární metody, při kterých se sleduje podobnost tRNA<sup>Leu</sup>(UAA) intronů (PAULSRUD & LINDBLAD 1998; PAULSRUD *et al.* 2000; OKSANEN *et al.* 2002).

Ze současných výsledků vyplývá, že specifita symbiotických kmenů *Nostoc* spp. je závislá spíše na druhu mykobionta než na geografickém rozšíření jednotlivých lišejníků. Obvykle se ve stélkách jednoho druhu lišejníku ač z různých geografických lokalit nachází pouze jeden kmen rodu *Nostoc*. Vysvětlením by mohlo být to, že lišejníky se nejčastěji rozmnožují způsobem, při kterém se oba symbionti šíří společně a lichenizace *de novo* se v přírodě vyskytuje jen velmi zřídka (PAULSRUD & LINDBLAD 1998; PAULSRUD *et al.* 1998). (Testování byli např. cyanobionti ze stélek *Peltigera membranacea* a *Nephroma resupinatum* ze severní Evropy a Oregonu.) Větší stupeň diverzity byl zaznamenán v cephalodiích u tripartitního druhu *Peltigera venosa*, jejíž stélka obsahovala několik kmenů *Nostoc* sp. s různými intronovými sekvencemi (PAULSRUD *et al.* 2000). Naopak u jiného tripartitního druhu *Peltigera aptosa* byl ve všech cephalodiích identifikován pouze jeden kmen *Nostoc* sp. , a všechny pokusy o introdukci nových kmenů (volně žijících nebo izolovaných z jiných lišejníků) byly neúspěšné. Ve všech nově vzniklých cephalodiích byl pouze

původní kmen *Nostoc* sp.. Stejný kmen byl zároveň identifikován jak v bipartitní tak tripartitní stélce tohoto druhu (*P. apthosa* má schopnost růst jako tzv. fotosymbiodém, kdy mykobiont může s cyanobiontem vytvářet bipartitní i tripartitní stélku, PAULSRUD *et al.* 2001). K podobným závěrům se dospělo i při starších pokusech s cephalodii druhu *Peltigera leucophlebia*, kdy nebyl lišejník schopen inkorporovat do své stélky kmene volně žijících *Nostoc* spp. (STÖCKER-WÖRGÖTTER & TÜRK 1994).

Ovšem byly také zaznamenány případy, ve kterých měli cyanobionti izolovaní ze stélky schopnost žít na povrchu stélky a vytvářet kolonie stejně jako volně žijící druhy bez jakékoliv známky lichenizace (PAULSRUD *et al.* 2001). Zároveň se některé kmene mohou vyskytovat v asociacích s několika různými mykobionty (PAULSRUD *et al.* 2000).

#### **1.4 Klasifikace lichenizovaných kmenů *Nostoc* spp.**

Kmeny *Nostoc* spp. asociované v lišejnících tvoří monofyletickou skupinu s *N. punctiforme* a *N. muscorum* (RIPPKA *et al.* 1979), ale podle fenotypových charakteristik se obvykle neurčují jako volně žijící druhy. Někteří autoři však tuto klasifikaci používají. Např. pro různé kmene fotobiontů *Collema* spp. byla v minulosti používána jména jako *Nostoc commune*, *N. punctiforme*, *N. muscorum* a *N. sphaericum* (DEGELIUS 1954). Symbiotické sinice *Nostoc* spp. z lišejníků *Peltigera canina*, *P. rufescens*, *P. horizontalis* a *P. spuria* byly označeny jako *Nostoc punctiforme* (Kütz) Hariot a cyanobiont druhu *Collema tenax* identifikován jako *Nostoc commune* Vauch. (BOISSIÉRE *et al.* 1987). Ostatní autoři obvykle používají pouze označení *Nostoc* sp..

#### **1.5 Cíle práce**

1. Sjednotit velmi roztříštěné literární prameny týkající se identifikace, izolace, kultivace a specifity lišejníkových cyanobiontů a zjistit, co již bylo testováno.
2. Shromáždit maximální možnou kolekci lišejníků se sinicovým symbiontem.
3. Pokusit se identifikovat cyanobionta přímo ve stélce a porovnat svá zjištění s literárními údaji jiných autorů.
4. Kultivací vyizolovat jednotlivé kmene cyanobiontů.



## 2. Materiál

Stélky lišejníků jsem získala díky laskavosti Mgr. Jana Vondráka, který mi poskytl 23 druhů (7 rodů) ze svého herbáře.

**Tabulka 2** - Seznam kultivovaných lišejníků.

| lišejník                      | cyanobiont (z literatury)  | lokality sběru                                      |
|-------------------------------|--|---|
| <i>Anema tumidulum</i>        | <i>Gloeocapsa</i> (WIRTH, 1995)  | Pavlovské vrchy (Mikulov), 2002                     |
| <i>Collema cristatum</i>      | <i>Nostoc</i> (WIRTH, 1995)  | Český Kras, 5.5.1995                                |
| <i>Collema flaccidum</i>      | <i>Nostoc</i> (WIRTH, 1995)  | českokrumlovské předšumaví, Kamenný Újezd, 1.6.2002 |
| <i>Collema fuscovirens</i>    | <i>Nostoc</i> (WIRTH, 1995)  | Blanský les, 5.6. 2001                              |
| <i>Collema nigrescens</i>     | <i>Nostoc</i> (WIRTH, 1995)  | Rakousko, 2001                                      |
| <i>Collema tenax</i>          | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   | Křivoklátsko, Rakovnický potok, 2002                |
| <i>Leptogium gelatinosum</i>  | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   | Portugalsko, 8.7.2002                               |
| <i>Leptogium lichenoides</i>  | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   | vimperské předšumaví, 13.4. 2000                    |
| <i>Leptogium saturninum</i>   | <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   | Bulharsko (Central Rodopi), 26.10.2002              |
| <i>Lobaria amplissima</i>     | cephalodia: <i>Nostoc</i> (WIRTH 1995)   | Portugalsko (Serra do Estrella), 2001               |
| <i>Nephroma laevigatum</i>    | <i>Nostoc</i> (LOHTANDER et al. 2003)  | Portugalsko (Serra do Estrella), 2002               |
| <i>Nephroma resupinatum</i>   | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Rakousko, 2001                                      |
| <i>Nephroma parile</i>        | <i>Nostoc</i> (LOHTANDER et al. 2003)  | Albania, 2001                                       |
| <i>Nephroma tangeriense</i>   | <i>Nostoc</i> (LOHTANDER et al. 2003)  | Portugalsko (Serra do Estrella), 2002               |
| <i>Peltigera canina</i>       | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | chvalšivské předšumaví, "Pražačka" hill, 2002       |
| <i>Peltigera degenii</i>      | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | České Středohoří, Velemín, Milešov, 27.9.2002       |
| <i>Peltigera didactyla</i>    | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Šumava, Volary, Nová Pec, 14.6.2000                 |
| <i>Peltigera horizontalis</i> | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Novohradské hory, Velešín, 7.3.2002                 |
| <i>Peltigera hymenia</i>      | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Novohradské hory, Pohorská Ves, 12.5.2002           |
| <i>Peltigera membranacea</i>  | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Křivoklátsko, 23.3.2003                             |
| <i>Peltigera praetextata</i>  | <i>Nostoc</i> (MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000)  | Dívčí kámen, 6.5.2003                               |
| <i>Placynthium nigrum</i>     | <i>Dichothrix</i> (GETTLER 1934),<br><i>Rivulariaceae</i> /<br><i>Scytonemataceae</i> (WIRTH 1995) | Blanský les, 15.3.2002                              |
| <i>Thermutis velutina</i>     | <i>Scytonema</i> (WIRTH 1995)  | Táborsko-Vlašimsko, 31.11.2002                      |

## 3. Metody

### **3.1 Fotodokumentace a identifikace fotobionta ve stélce**

Od každého druhu lišejníku jsem malý fragment stélky nařezala žiletkou, případně jsem ho ještě zhomogenizovala mezi dvěma podložními sklíčky a pokusila se pod světelným mikroskopem identifikovat cyanobionta. Ke každému druhu lišejníku jsem zhotovila fotodokumentaci. (viz výsledky)

Použit byl mikroskop značky Olympus CX 40 a digitální fotoaparát Olympus DP 10.

### **3.2 Kultivace**

#### Příprava stélky lišejníku:

Před jakoukoli manipulací se stélkou je nejdůležitější zbavit ji organismů, které se mohou vyskytovat na povrchu. Použila jsem omývání pod tekoucí vodou - 15 až 20 minut (Ahmadjian 1967).

1. **Fragmentace** - Jako první jsem vyzkoušela použít větší fragmenty stélky od 0,25 cm<sup>2</sup> do 1 cm<sup>2</sup>, ty jsem pak položila přímo na agar. Od každého druhu jsem odstříhla 2 kousky – jeden jsem nechala suchý a druhý jsem nechala 5 minut nasáknout v médiu.

Při druhém pokusu jsem fragmenty stélky zmenšila rozřezáním žiletkou a umístila je opět na agar.

2. **Homogenizace a pipetování** – Stélku jsem rozdrtila mezi dvěma podložními sklíčky s kapkou vody – až vznikla homogenní suspenze. Z té jsem mikropipetou (2μl) pod mikroskopem odebírala okrsky s největší koncentrací fotobionta a přenesla je na agar. Tímto způsobem jsem na každou Petriho misku přenesla 20 kapek suspenze.

Kultivační podmínky: teplota: 18°C

doba kultivace: 3 až 8 týdnů

Kultivační médium: BG-11 (Stanier 1971) s 1,5 % agarem



### **3.3 Kontrola rostoucích kultur fotobionta**

Průběžně jsem začala 1x týdně kontrolovat, jestli se na kultivačních miskách objevují nějaké kolonie sinic. Kousek nově vzniklé biomasy jsem vždy odebrala a pod mikroskopem sledovala, zda se jedná o fotobionta z lišejníku anebo nějaký jiný organismus. Kolonie fotobiontů jsem pak přeočkovala na nové Petriho misky.

Když se ani po 8 týdnech na miskách neobjevily žádné nové kolonie, pokus jsem ukončila. (Většinou byl ukončen spontánně vyschnutím agaru.) Stejně tak jsem uzavřela pokusy u ploten, kde narůstaly pouze jiné organismy než sinice.

Pokud se mi podařilo cyanobionta vykultivovat, zhotovila jsem také fotodokumentaci, zakreslila různá životní stádia, která se v kultuře objevovala, a systematicky symbionta zařadila. (použit byl stejný mikroskop a fotoaparát jako ve 3. 1.)

## **4. Výsledky**

Z celkového počtu 23 druhů lišejníků se u šesti „pipetovací metodou“ (viz metodika) podařilo vykultivovat jejich cyanobionty. Jedná se o fotobionty 5 druhů rodu *Peltigera*: *P. canina*, *P. hymenia*, *P. horizontalis*, *P. membranacea* a *P. praetextata* a lišejníku *Thermutis velutina* (viz dále). Také byly zjištěny nesrovnalosti s literárními údaji o fotobiontech u druhů *Placynthium nigrum* a *Anema tumidulum*.

**Tabulka 3** – Seznam kmenů cyanobiontů, které se podařilo vykultivovat.

| cyanobiont           | lišejník   | název kmenu     |
|----------------------|--|-----------------|
| <i>Nostoc</i> sp.    | <i>Peltigera canina</i> (L.) Willd.                    | Pokorná, 2004/1 |
| <i>Nostoc</i> sp.    | <i>Peltigera horizontalis</i> (Hudson) Baumg.          | Pokorná, 2004/2 |
| <i>Nostoc</i> sp.    | <i>Peltigera hymenia</i> (Ach.) Delise                 | Pokorná, 2004/3 |
| <i>Nostoc</i> sp.    | <i>Peltigera membranacea</i> (Ach.) Nyl.               | Pokorná, 2004/4 |
| <i>Nostoc</i> sp.    | <i>Peltigera praetextata</i> (Flörke ex Sommerf.) Zopf | Pokorná, 2004/5 |
| <i>Scytonema</i> sp. | <i>Thermutis velutina</i> (Ach.) Flotow                | Pokorná, 2004/6 |

### **4.1 Peltigera spp.**

Všechny vybrané druhy mají jako primárního fotobionta sinici *Nostoc* sp. (WIRTH 1995; MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000). Cyanobiont ve stélce nemá typickou podobu dlouhých vláken, ale tvoří pouze sarcinoidní balíčky složené ze dvou až deseti buňek. Ty jsou ještě navíc obaleny průhlednou slizovou pochvou.

Heterocyty se vyskytují velmi zřídka. Podařilo se vykultivovat cyanobionta z 5 druhů: *P. canina*, *P. horizontalis*, *P. hymenia*, *P. membranacea* a *P. praetextata*.

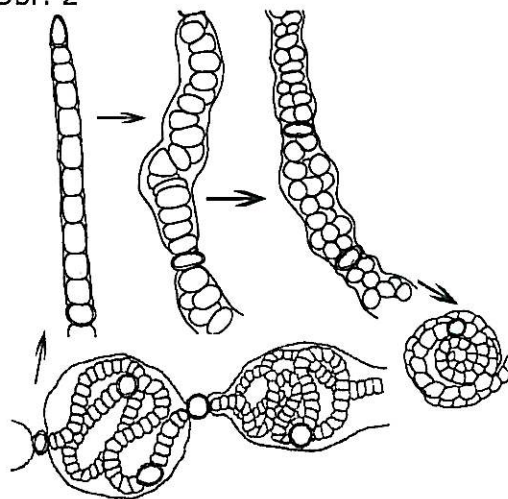
### ***Peltigera canina* (L.) Willd.**

Buňky fotobionta rostoucího ve stélce mají velikost okolo 5  $\mu\text{m}$  a jsou uloženy ve slizovém obalu (obr. 1). Při samostatném růstu na vhodném médiu začíná mít *Nostoc* opět typickou podobu volně žijících druhů – vytváří dlouhá vlákna o šířce 3 až 4  $\mu\text{m}$  (obr. 3), která se postupně obalují stále silnější slizovou pochvou (obr. 4) až dospějí do stádia kulovitých kolonií, které jsou pospojovány heterocyty (obr. 4, 5, 6). Různá životní stádia kmene vyskytující se v kultuře jsou zakreslena na obr. 2.

Obr. 1



Obr. 2



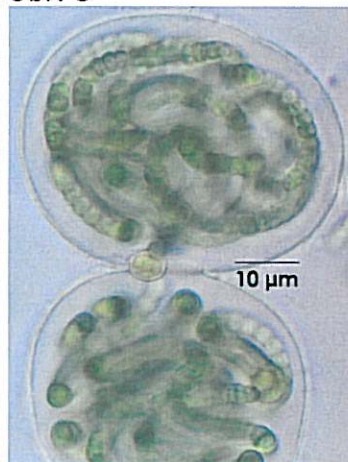
Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5



Obr. 6



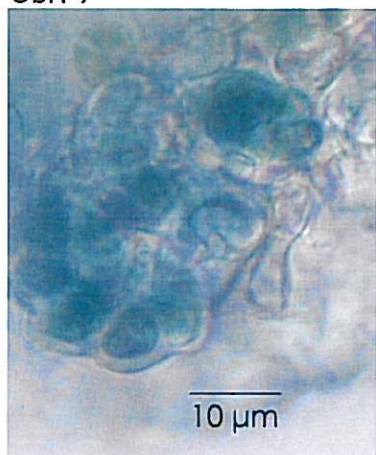
### ***Peltigera horizontalis* (Hudson) Baumg.**

Ve stélce tvoří cyanobiont shluky maximálně deseti buněk o velikosti 6 až 7  $\mu\text{m}$ , které jsou obalené pochvou (obr. 7). Na obr. 8 jsou buňky uvolněné ze

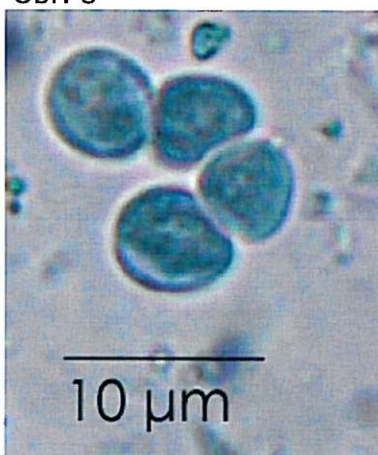


stélky a zbavené průhledného obalu. Objevují se heterocyty (obr. 9). Fotobionta se podařilo vykultivovat. Volně rostoucí Nostoc opět nabývá typickou podobu vláken s heterocyty. Buňky jsou spíše hranatějšího tvaru o tloušťce 3 – 4  $\mu\text{m}$  a různé délce od 2 do 4  $\mu\text{m}$  (obr. 10, 11). V kultuře se také vyskytují shluky větších buněk – akinet - o průměru kolem 5  $\mu\text{m}$ , které jsou ve slizové pochvě (obr. 12, 13). Obr. 14 znázorňuje různá životní stadia cyanobionta v kultuře.

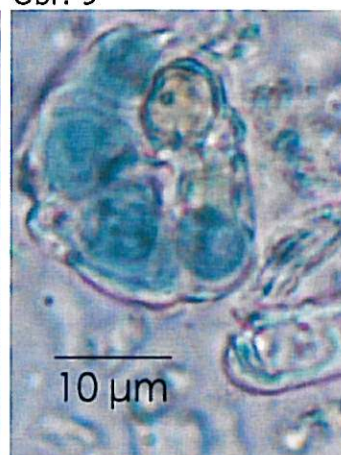
Obr. 7



Obr. 8



Obr. 9



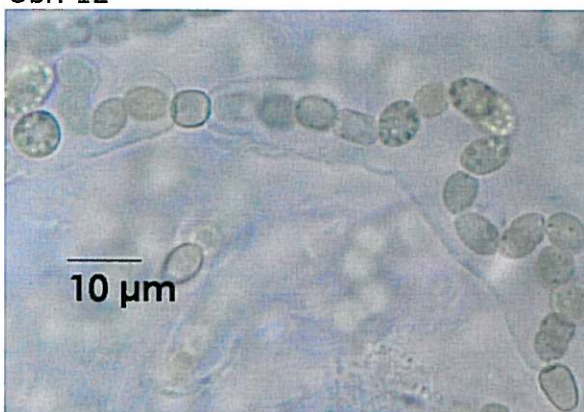
Obr. 10



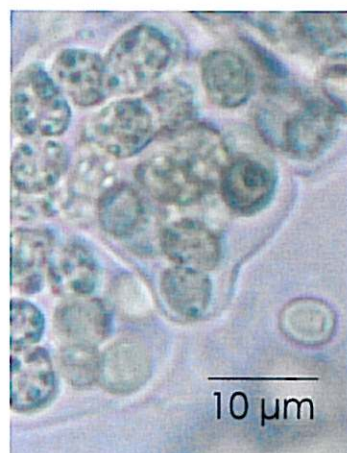
Obr. 11



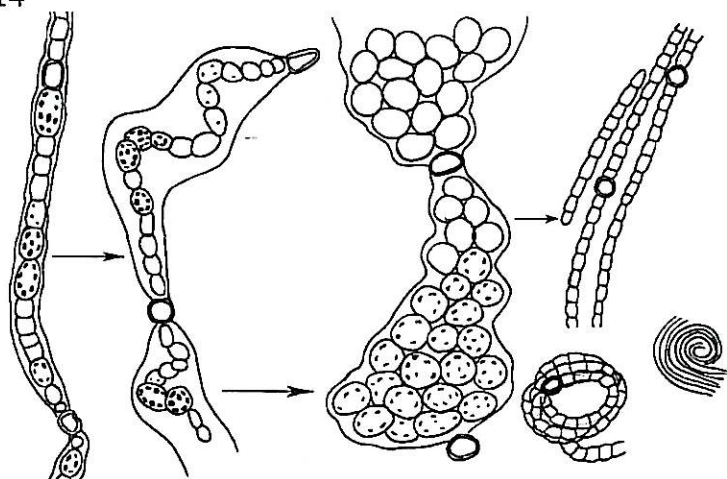
Obr. 12



Obr. 13



Obr. 14

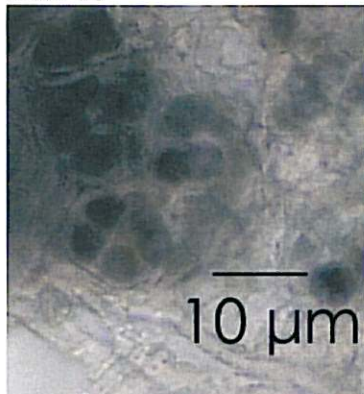




### ***Peltigera hymenia* (Ach.) Delise**

Cyanobiont má opět ve stélce podobu typických sarcinoidních balíčků ve slizové pochvě (obr. 15). Jednotlivé buňky mají velikost 4 až 5  $\mu\text{m}$ . Při kultivaci *Nostoc* také vytváří dlouhá vlákna (o šířce 4  $\mu\text{m}$ ) s heterocyty (až 8  $\mu\text{m}$ , obr. 16). Nezaznamenal jsem však žádné akinety, kulovité kolonie ani vlákna ve slizovém obalu.

Obr. 15



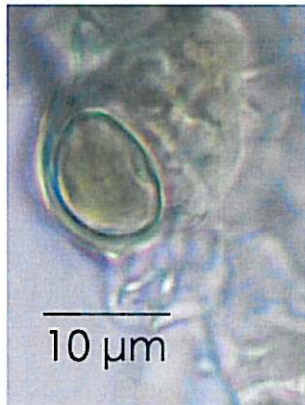
Obr. 16



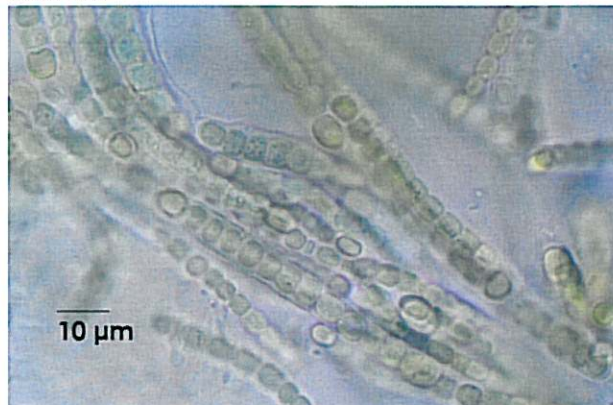
### ***Peltigera membranacea* (Ach.) Nyl.**

*Nostoc* sp. tvoří ve stélce shluky s heterocyty (obr. 17) ve slizové obalu. Jednotlivé buňky mají velikost 5  $\mu\text{m}$ . V kultuře má cyanobiont opět typický životní cyklus. Kolonie obsahují dlouhá vlákna z vegetativních buňek o šířce 4  $\mu\text{m}$  (obr. 22). Vyskytují se v nich heterocyty o velikosti 5  $\mu\text{m}$ . Dále se objevují vlákna s rostoucími akinetami (5  $\mu\text{m}$ , obr. 18), které mají slizový obal. Tyto vlákna postupně rostou a obsahují heterocyty o velikosti až 7  $\mu\text{m}$  (obr. 19, 20). Detail hormogonia je na obr. 21. Různá stádia životního cyklu jsou zakreslena na obr. 23.

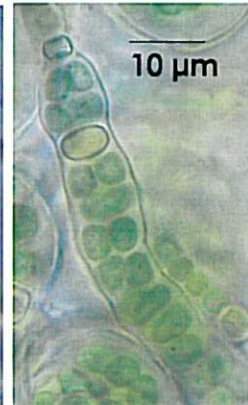
Obr. 17



Obr. 18

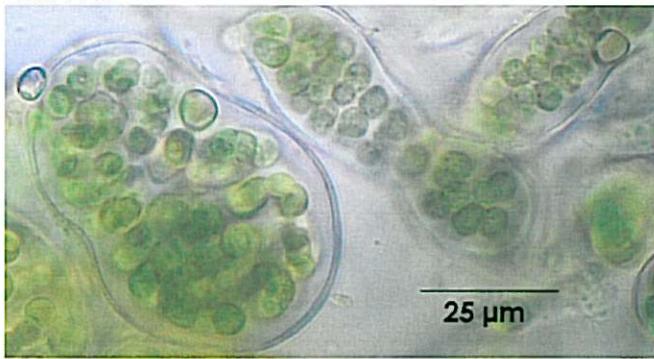


Obr. 19

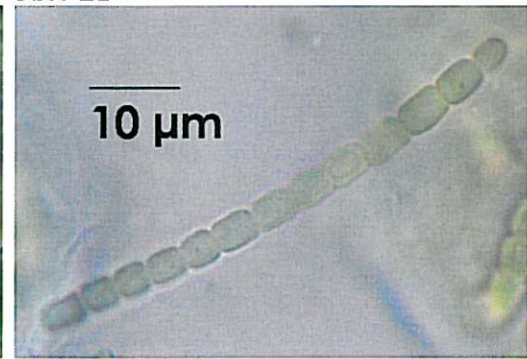




Obr. 20



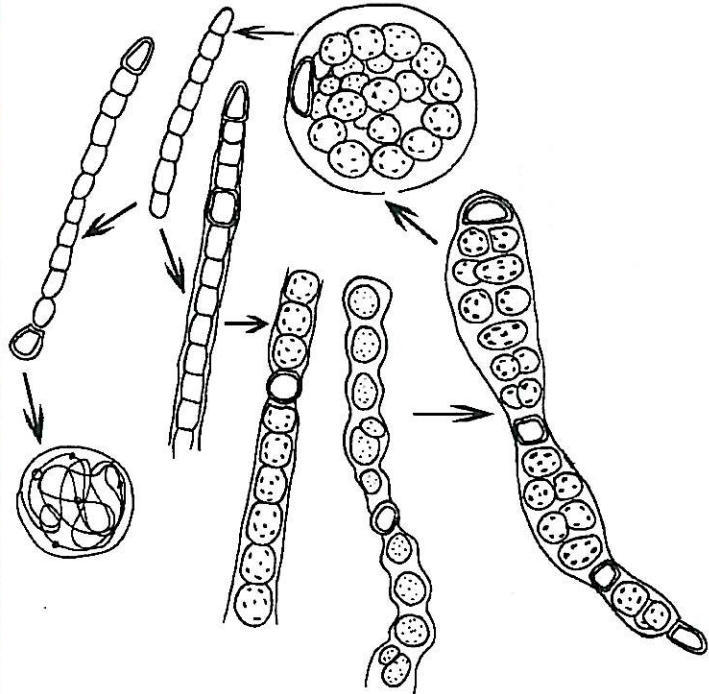
Obr. 21



Obr. 22



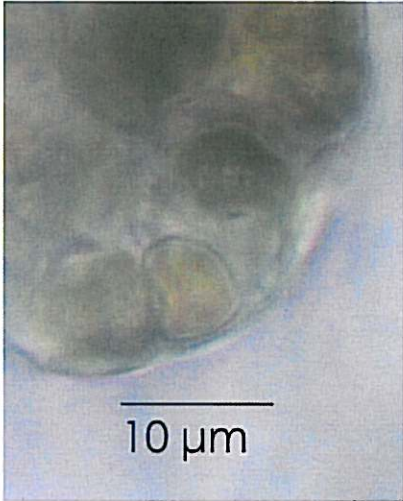
Obr. 23



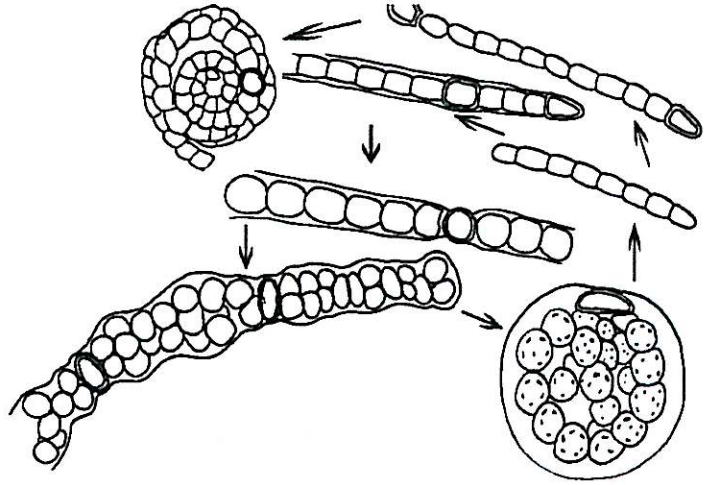
### ***Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf**

Ve stélce lišejníku má cyanobiont typickou podobu - buňky o velikosti 5  $\mu\text{m}$  jsou po skupinkách uloženy ve slizové pochvě (obr. 24). Cyanobionta se podařilo kultivovat a zachytit jeho životní cyklus (obr. 25) Rostoucí hormogonia (šířka 4  $\mu\text{m}$ ) (obr. 26, 27), jsou často stočená do spirály (obr. 28). Dále jsou patrné rostoucí a již vyvinuté slizem obalené kolonie akinet (obr. 29, 30). Jednotlivé kolonie obsahující akinety jsou spojeny heterocyty o velikosti až 8  $\mu\text{m}$  (obr. 31).

Obr. 24



Obr. 25



Obr. 26



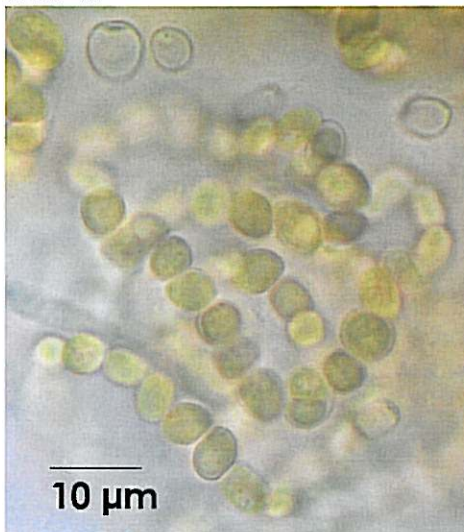
Obr. 27



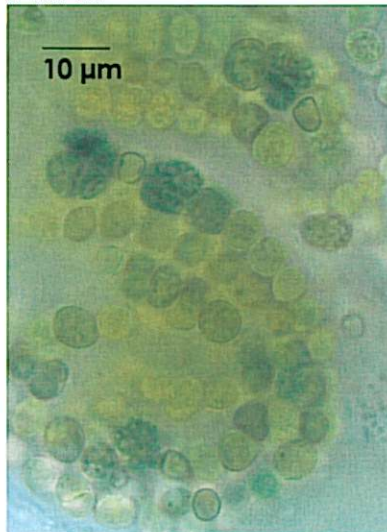
Obr. 28



Obr. 29



Obr. 30



Obr. 31

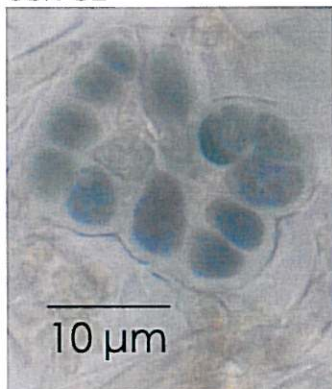




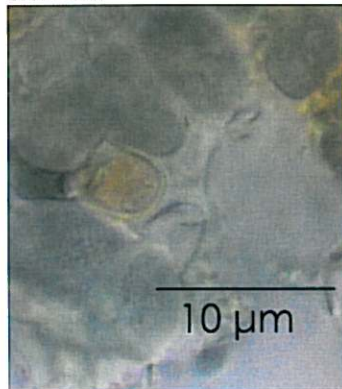
### ***Peltigera didactyla* (With.) Laundon a *Peltigera degenii* Gyelink**

Cyanobiont vypadá ve stélce velmi podobně jako u ostatních zástupců tohoto rodu. Buňky sinice *Nostoc* vytváří skupinky obalené průhlednou slizovou pochvou. Slizový obal je u druhu *P. didactyla* (obr. 32) poměrně výraznější než u druhu *P. degenii* (obr. 33). Velikost jednotlivých buňek je u obou druhů 5 µm. Fotobionty těchto druhů se nepodařilo kultivovat.

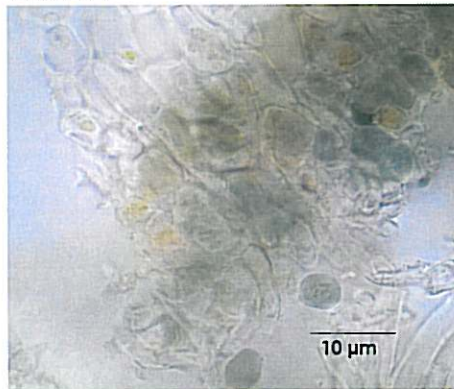
Obr. 32



Obr. 33



Obr. 34



### **4.2 *Thermutis velutina* (Ach.) Flotow**

Fotobiontem tohoto lišejníku je sinice *Scytonema* (WIRTH 1995). Cyanobiont je ve stélce dominantním elementem (obr. 35), takže vlákna mykobionta nejsou téměř patrná. Na základě pozorování se jednoznačně jedná o zástupce skupiny *Scytonemataceae*. Pro tuto čeleď je typické nepravé větvení (obr. 36) a tvorba heterocytů (obr. 39) Hormogonia jsou pozorovatelná jak ve stélce (obr. 37) tak v kultuře (obr. 40). Vlákna mají šířku 8 µm a jsou obalena slizovou pochvou (do 2 µm). Cyanobionta se podařilo vykultivovat - obr. 38, 39, 40. Podle typu větvení se jedná o rod *Scytonema*.

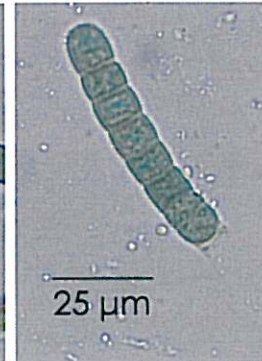
Obr. 35



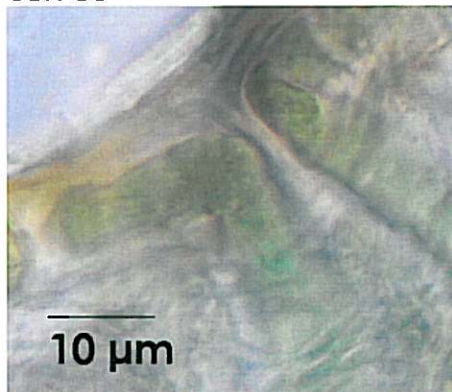
Obr. 36



Obr. 37



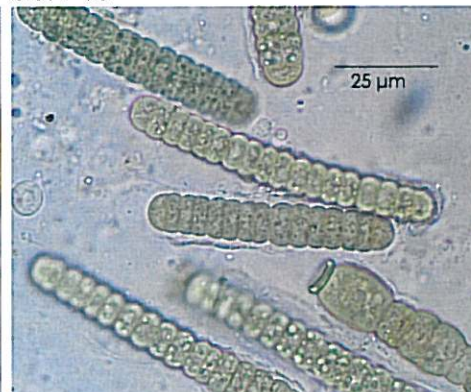
Obr. 38



Obr. 39



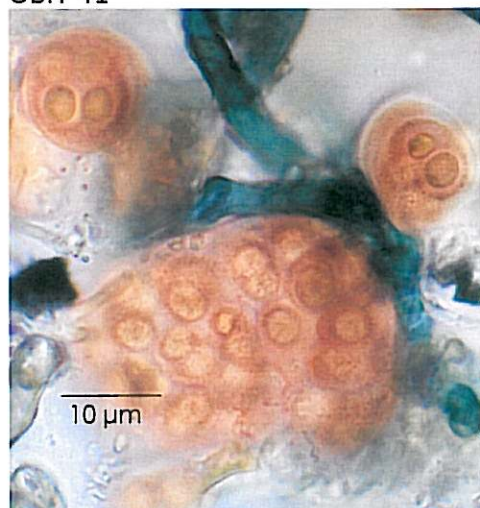
Obr. 40



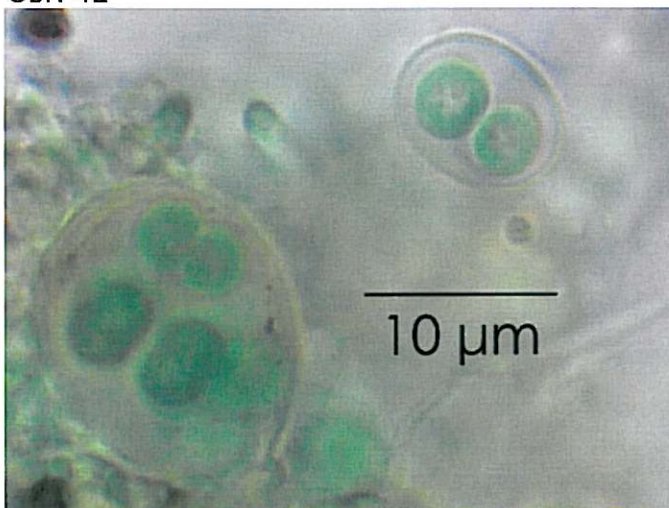
### **4.3 *Placynthium nigrum* (Hudson) S. Gray**

Literatura uvádí u rodu *Placynthium* různé fotobionty: *Dichothrix* (GEITLER 1934), či blíže neurčeného zástupce čeledi *Rivulariaceae/ Scytonemataceae* (WIRTH 1995) anebo sinici *Calothrix* (LANGE *et al.* 1993). Dle mého pozorování je symbiontem jednoznačně sinice rodu *Gloeocapsa*. Zelené buňky (obr. 41, 42) o velikosti 3 až 5 μm jsou uloženy ve vrstevnatém slizovém obalu, který je buď průhledný anebo zabarven do červenorůžova. Na obr. 43 je patrný plynulý přechod zabarvení v rámci jedné kolonie. Velikost jedné kolonie může být až 30 μm (obr. 41). Pro srovnání jsem zařadila obrázky vláknitých sinic: *Dichothrix* sp. (obr.44) a *Calothrix* sp. (obr. 45).

Obr. 41



Obr. 42

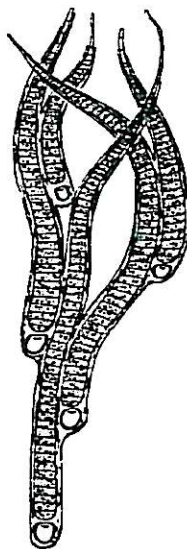




Obr. 43



Obr. 44



Obr. 45



#### **4.4 *Anema tumidulum* Henssen ined.**

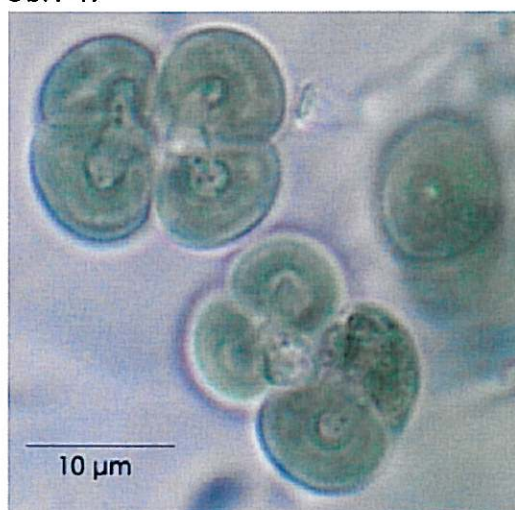
Dle literárních pramenů je fotobiontem tohoto lišejníku *Gloeocapsa* sp. (WIRTH 1995), u jiných druhů rodu *Anema* bylo prokázáno, že jde o *Chroococidiopsis* sp. (LANGE et al. 1993).

V analyzovaných vzorcích byly ale identifikováni dva různí fotobionti. Jedná se o jednoho cyanobionta a jednoho fykobionta. Cyanobiont se morfologií nejvíce blíží rodu *Cyanosarcina* (obr. 46, 47). Buňky o průměru 8 µm jsou vždy po čtyřech umístěny v nepatrné slizové pochvě. Fykobiontem je drobná zelená řasa pravděpodobně z čeledi *Radiococcaceae*. Podobně jako cyanobiont tvoří tetrády, jednotlivé buňky měří 4 až 5 µm a slizová pochva je podstatně výraznější než u cyanobionta (1,5 µm) (obr. 48, 49, 50, 51).

Obr. 46



Obr. 47





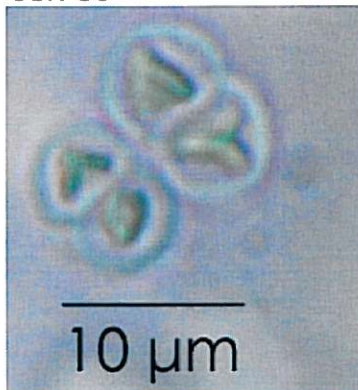
Obr. 48



Obr. 49



Obr. 50



Obr. 51

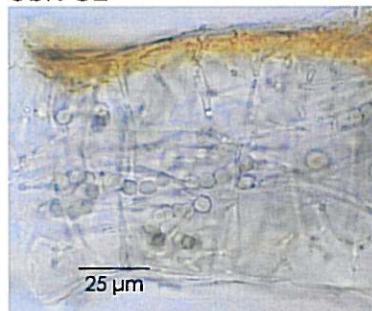


#### **4.5 Collema spp.**

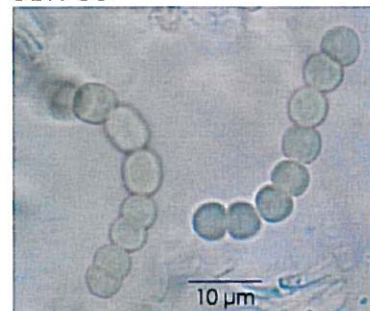
Všechny druhy mají (v souladu s literárními prameny např. WIRTH 1995) jako fotobionta sinici *Nostoc* sp.. Cyanobiont tvoří ve stélce nevětvená vlákna složená z kulovitých buněk s heterocyty. Oproti rodu *Peltigera* nevytváří fotobiont ve stélce pouze jednu vrstvu, ale rovnoměrně zaplňuje celý prostor lišejníku.

***C. nigriscens*** (Hudson) DC. – Buňky (5 μm) cyanobionta vytvářejí řetězce podobně jako ostatní druhy r. *Collema*, nejsou však ve stélce tolik nahuštěny (obr. 52, 53). Heterocyty (až 7 μm) jsou též přítomny (obr. 54).

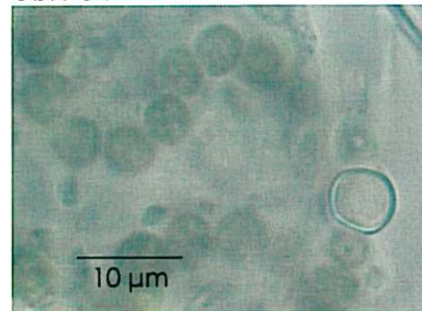
Obr. 52



Obr. 53

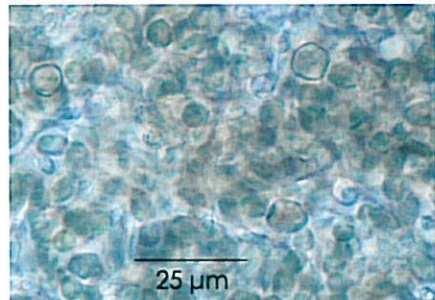


Obr. 54

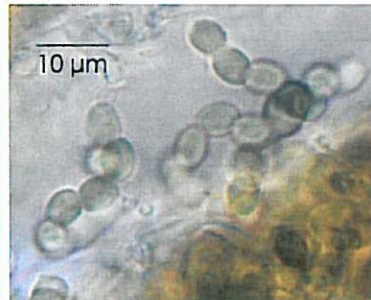


***C. flaccidum*** (Ach.) Ach. – *Nostoc* tvoří ve stélce dlouhá vlákna, která jsou velmi nahuštěna (obr. 55, 56). Velikost jednotlivých buněk je 4 až 5 μm. Heterocyty se objevují velmi často (6 až 7 μm, obr. 55, 57).

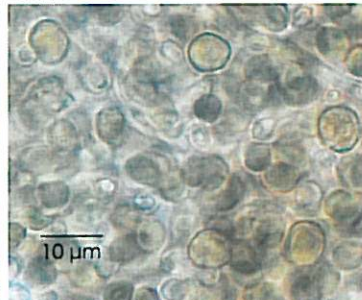
Obr. 55



Obr. 56



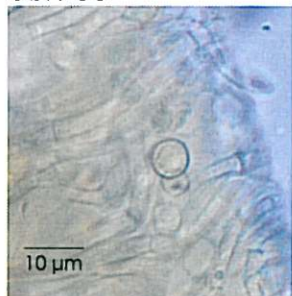
Obr. 57



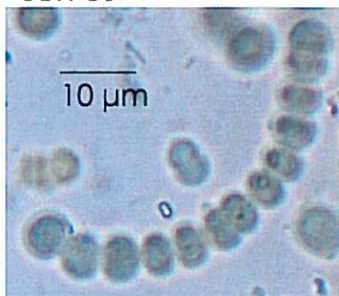


***C. fuscovirens*** (With.) Laundon – Cyanobiont není ve stélce tolik nahuštěn (obr. 58) jako u *C. flaccidum*, a jednotlivé buňky nejsou ani tak protáhlé. Jsou spíše kratší a širší (až 6  $\mu\text{m}$ ) (obr. 59). Heterocyty se vyskytují hojně (obr. 58, 60).

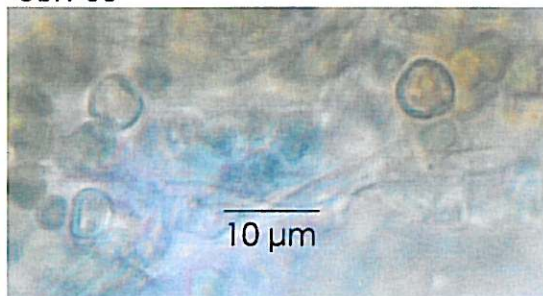
Obr. 58



Obr. 59

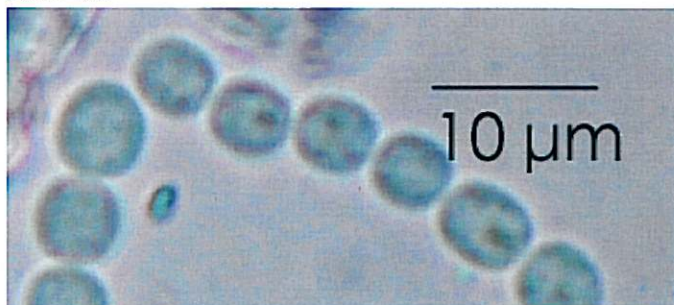


Obr. 60

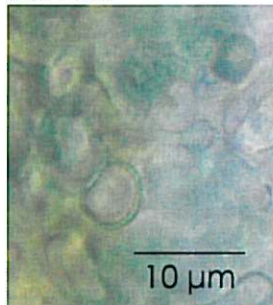


***C. cristatum*** (L.) Weber ex Wigg. – Buňky ve vláknech jsou téměř kulaté (maximálně 6  $\mu\text{m}$ ) (obr. 61). Heterocyty mají stejnou velikost jako vegetativní buňky – 6  $\mu\text{m}$  (obr. 62).

Obr. 61

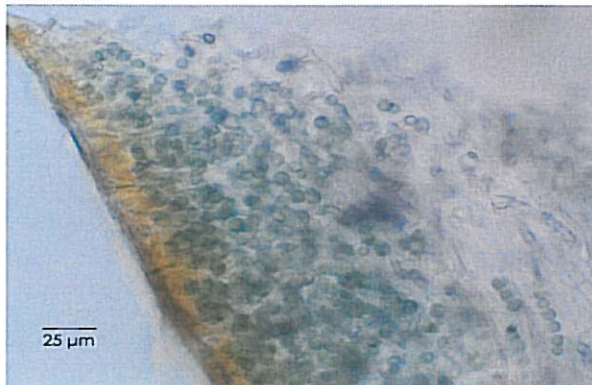


Obr. 62

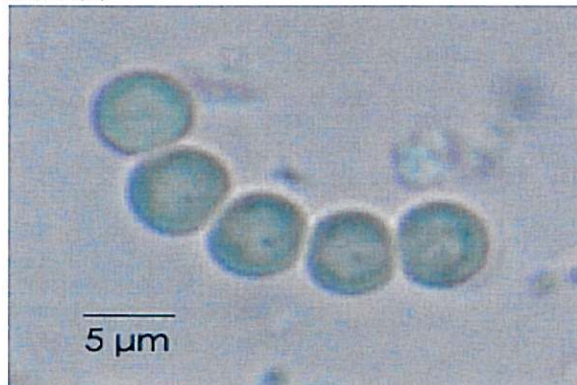


***C. tenax*** (Schwartz) Ach. em. Degel.– Ve stélce vytváří *Nostoc* sp. řetízky složené z 5 až 20 buněk o velikosti 5 x 5  $\mu\text{m}$  (obr. 63, 64). Heterocyty mají průměr 6 až 7  $\mu\text{m}$  (obr. 63)

Obr. 63

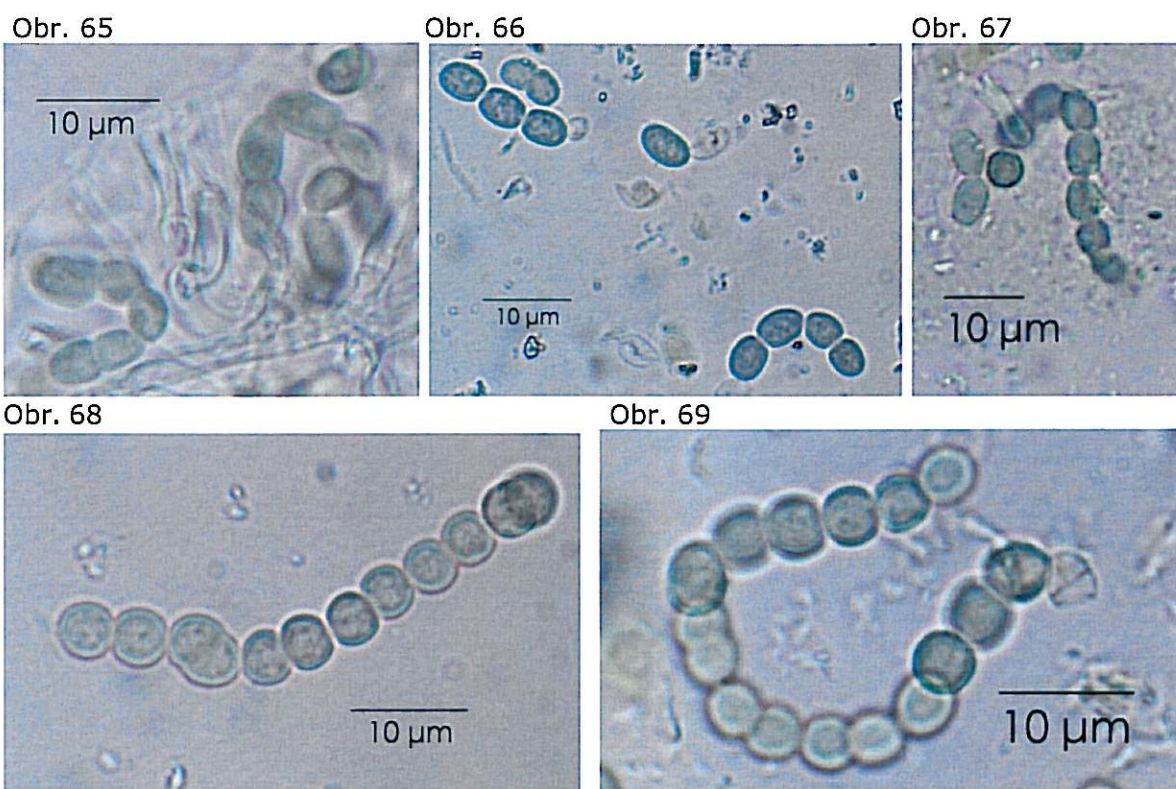


Obr. 64



#### **4.6 Leptogium spp.**

U příslušníků tohoto rodu je fotobiontem také *Nostoc* sp. (WIRTH 1995). Všechny druhy tvoří různě dlouhá vlákna. Přítomnost heterocytů nebyla zaznamenána, pouze se zřídka objevují preheterocyty ( $5 \times 5 \mu\text{m}$ ) (obr. 67). *L. gelatinosum* (With.) Laundon (obr. 65, 66, 67) vytváří shluky maximálně 6 až 9 protáhlých buněk o velikosti  $4,5 \times 6 \mu\text{m}$ . *L. lichenoides* (L.) Zahlbr. (obr. 68) už má vlákna z 9 až 11 buněk velkých  $5 \times 5 \mu\text{m}$ , zatímco u *L. saturninum* (Dickson) Nyl. (obr. 69) je většina vláken složena z více než patnácti buněk o velikosti  $5 \times 5 \mu\text{m}$ .

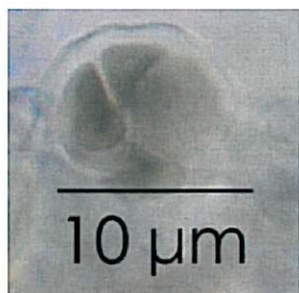


#### **4.7 Nephroma spp.**

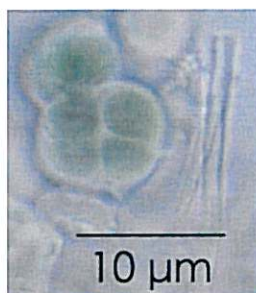
Ve veškerých testovaných druzích: *N. laevigatum* Ach. (obr. 70), *N. resupinatum* (L.) Ach. (obr. 71), *N. tangeriense* (Mahen & Gillet) Zahlbr. (obr. 72) a *N. parile* (Ach.) Ach. (obr. 73) je *Nostoc* sp. primárním fotobiontem (WIRTH 1995; MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000; LOHTANDER et al. 2003). Morfologicky se jedná o velmi podobné typy. *Nostoc* se zde nevyskytuje v typickém tvaru delších vláken s heterocyty. Buňky vytváří pouze sarcinoidní balíčky po dvou až čtyřech buňkách ( $3$  až  $5 \mu\text{m}$ ), které jsou obaleny slizovým obalem. Velmi zřídka vytváří heterocyty (obr. 72, 73).



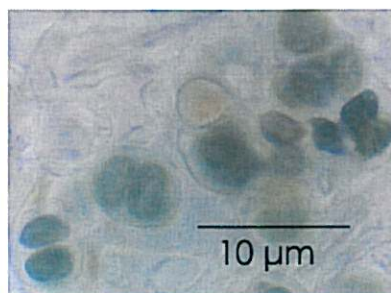
Obr. 70



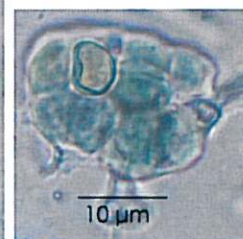
Obr. 71



Obr. 72



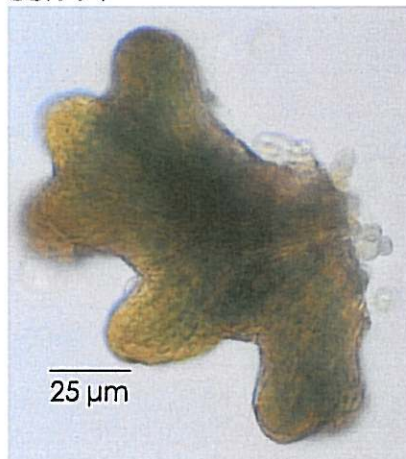
Obr. 73



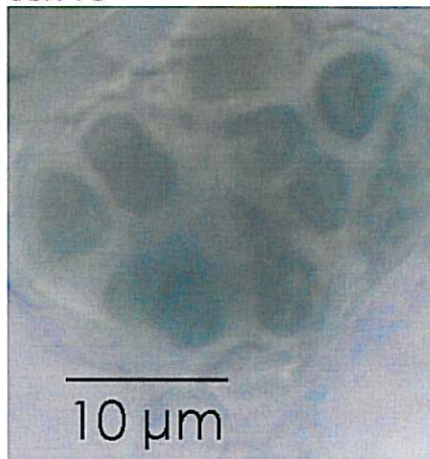
#### **4.8 Lobaria amplissima (Scop.) Forss.**

Cephalodia (obr. 74) tohoto lišejníku, někdy označovaná jako samostatný taxon *Dendriscoaulon umhausense* (Auarsw.) Degel., obsahují jako cyanobionta *Nostoc* sp.. Fotobiont vytváří ve stélce sarcinoidní balíčky ve slizové pochvě stejně jako rody *Peltigera* a *Nephroma* (obr. 75). Jednotlivé buňky mají nepravidelný tvar a velikost 5 μm. Vyskytují se heterocyty o velikosti až 7 μm (obr. 76).

Obr. 74



Obr. 75



Obr. 76



## 5. Diskuze

Pro lichenology nejsou úspěšné izolace a kultivace cyanobiontů rodu *Peltigera* nic převratného, neboť v minulosti již bylo na tomto rodu provedeno mnoho studií (BOISSIÉRE 1976; BERGMAN & HÄLLBOM 1981; BOISSIÉRE 1987; BOISSIÉRE *et al.* 1987; STÖCKER-WÖRGÖTTER & TÜRK 1994; PAULSRUD & LINDBLAD 1997; MIADLIKOWSKA & LUTZONI 2000; PAULSRUD *et al.* 2000; PAULSRUD *et al.* 2001). Nejkomplexnější rozbor rodu *Peltigera* zahrnující veškeré fylogenetické vztahy

jednotlivých druhů mykobiontů v porovnání s bipartitní či tripartitní strukturou stélky poskytuje článek MIADLIKOWSKA & LUTZONI (2000). Ostatní práce se zabývají vždy jen vybranými druhy.

Přesto má v mé bakalářské práci tato kultivace význam už jen proto, že díky snadné kultivaci cyanobiontů těchto lišejníků, jsem si mohla otestovat různé kultivační postupy a přesvědčit se o jejich (ne)úspěšnosti. Vypěstované kmeny *Nostoc* sp. (viz Tabulka 3) se mohou dále uplatnit při molekulárních studiích týkajících se geografické diverzity cyanobiontů.

Úspěšná izolace fotobionta ze stélky lišejníku *Thermutis velutina*, zatím nebyla publikována. Cyanobiont tohoto lišejníku byl identifikován jako zástupce rodu *Scytonema*. Vyizolovaných kmenů tohoto rodu je málo, proto najde tento kmen uplatnění při dalších molekulárních studiích, které by mohly objasnit fylogenetické vztahy uvnitř čeledi *Scytonemataceae*.

Neúspěch při kultivaci fotobionta z ostatních lišejníků nebyl nejspíš způsoben neschopností cyanobionta obnovit růst a množení po vyschnutí stélky lišejníku umístěného v herbáři, neboť jsou popisovány případy, ve kterých se podařilo vypěstovat kulturu fotobionta i po několika desetiletích umístění ve sbírce. Přesto bude mít určitě „čerstvost“ stélky na pravděpodobnost úspěšné kultivace částečný vliv. Také ve většině výše popsaných studií se vždy pracuje s čerstvým materiálem, který je sesbírán těsně před pokusem. Určitě však může mít vliv na schopnost růstu cyanobionta různé složení médií, především se to týká rodů jiných nežli *Nostoc* sp..

U dvou druhů testovaných lišejníků jsem našla jiné cyanobionty než jaké popisují literární zdroje, což může svědčit buď o schopnosti některých mykobiontů formovat symbiózu s různými fotobionty anebo o špatném zařazení cyanobionta autorem. Obvykle se nejedná o algology, takže určení cyanobiontů může být částečně zkreslené.

U lišejníku *Anema tumidulum*, by se měl podle literárních pramenů vyskytovat cyanobiont náležící k rodu *Gloeocapsa* (WIRTH 1995). Já jsem však ve stélce našla fotobionty dva. Dominantní je v lišejníku sinice *Cyanosarcina* cf., ale v některých částech stélky se objevuje také drobná zelená řasa pravděpodobně z čeledi *Radiococcaceae*. Nepozorovala jsem žádný případ, že by se oba fotobionti vyskytovali současně, vždy se každý objevoval samostatně v různých

částech stélky. Zajímavé je, že oba fotobionti, i když je jeden eukaryotický a druhý prokaryotický, měli podobné morfologické uspořádání v terádách.

Přestože je ve většině tripartitních stélek dominantní fykobiont a cyanobiont se objevuje pouze v cephalodiích, byly už popsány případy lišejníků, kdy se ve stélce objevuje cyanobiont společně s fykobiontem, vždy se ovšem chovají diskrétně a nikdy se nemísí. Příkladem může být lišejník *Euopsis granatina*, který obsahuje jako dominantní složku cyanobionta rodu *Gloeocapsa*, ale zároveň jsou ve stélce okrsky se zelenou řasou rodu *Trebouxia* (BÜDEL & HENSSEN 1987). Můžeme také zmínit rod *Peltigera*, v jehož rámci se vyskytují druhy se schopností vytvářet tzv. fotosymbiodém, kdy může mykobiont lichenizovat jako primárního fotobionta jak zelenou řasu tak sinici. Dalo by se konstatovat, že tyto druhy rodu *Peltigera* jsou sice vysoce specifické v rámci kmenů *Nostoc* sp., se kterými vstupují do symbiózy, ale zároveň jsou také schopny formovat stélku s eukaryotickým organizmem – zelenou řasou. Z toho vyplývá, že vysoká specifita se týká pouze kmenů *Nostoc* sp., ale o specifitě v rámci eukaryot se zatím nedá nic říci.

To že nebyl publikován žádný případ pozorování dvou fotobiontů u druhu *Anema tumidulum*, může být buď způsobeno tím, že byla testována ta část stélky, ve které se nacházel pouze cyanobiont, anebo může tento lišejník vytvářet různé typy stélky jak bipartitní tak tripartitní.

Několik literárních zdrojů uvádí jako fotobionta lišejníku rodu *Placynthium* sinici *Dichothrix* (GEITLER 1934), či blíže nespecifikované zástupce čeledi *Rivulariaceae/ Scytonemataceae* (WIRTH 1995), anebo zástupce rodu *Calothrix*, který byl identifikován přímo u druhu *Placynthium nigrum* (LANGE *et al.* 1993). Já jsem však ve stélce našla cyanobionta s úplně jinou morfologií – sinici rodu *Gloeocapsa*. Tento výsledek může být zapříčiněn nízkou specifitou mykobionta, který je schopen vytvářet stélku s různými cyanobionty.

Pokud však mají někteří mykobionti schopnost vstupovat do symbiózy s úplně odlišnými fotobionty, potom vyvstává otázka zda jsou schopni zachovávat stejnou podobu stélky a především zda má stélka stejné chemické složení. Na chemické identifikaci je totiž mnohdy klasifikace lišejníků založena. Tím pádem nemusí být systematické zařazení až tak jednoznačné a pro nezkušeného lichenologa obtížné. U lišejníků majících jako fotobionta sinici *Nostoc* sp. (rody: *Collema*, *Peltigera* a *Nephroma*) byl však naopak prokázán vysoký stupeň

specifity v rámci kmenů *Nostoc* sp. (viz 1.3), z čehož by se dalo usuzovat, že vyšší diverzita cyanobiontů, by se spíše mohla týkat lišejníků majících ve stélce jiné rody sinic nežli *Nostoc* sp..

Z problémů týkajících se diverzity fotobiontů jasně vyplývá, že nejlepším řešením by bylo, kdyby každý lichenolog při zařazování lišejníku do svého herbáře kladl důraz také na to, jakého fotobionta stélka obsahuje. Název lišejníku by dle své definice, že popisuje pouze mykobionta, neměl o symbiotickém vztahu nic vypovídat, a proto by u každé položky měl být uveden zvlášť popis fotobionta.

## 6. Závěr

- 1.** V úvodu jsou stručně shrnuty výsledky prací týkající se lišejníků s cyanobionty.
- 2.** Podařilo se mi shromáždit 23 druhů lišejníků, na kterých jsem mohla sledovat podobu fotobionta ve stélce.
- 3.** Všechny cyanobionty se podařilo víceméně identifikovat a taxonomicky zařadit alespoň do čeledi. U dvou druhů byly zjištěny nesrovnalosti s literárními údaji, které se týkají identifikace fotobiontů. Jedná se o druhy *Placynthium nigrum* a *Anema tumidulum*.
- 4.** Z celkového počtu 23 druhů lišejníků se u šesti „pipetovací metodou“ (viz metodika) podařilo vykultivovat jejich cyanobionty. Jedná se o fotobionty 5 druhů rodu *Peltigera*: *P. canina*, *P. hymenia*, *P. horizontalis*, *P. membranacea* a *P. praetextata* a lišejníku *Thermutis velutina* (viz Tabulka 3).



## 7. Seznam citované literatury

- ADAMS, D. G. (2000)** Symbiotic interaction. In: Whitton, B. A., Potts, M. eds. The ecology of cyanobacteria. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 523-561.
- AHMADJIAN, V. (1962)** Lichens. In R. A. Lewin (ed.), Physiology and biochemistry of algae. New York: Academic Press, 817-822.
- AHMADJIAN, V. (1967)** A Guide to the Algae Occuring as Lichen Symbionts: Isolation, Culture, Cultural Physiology and Identification. Phycologia 6: 128-160.
- AHMADJIAN, V. (1993)** The lichen photobiont - What can it tell us about lichen systematics? Bryologist 96: 310-313.
- BERGMAN, B., JOHANSSON, C. & SÖDERBÄCK, E. (1992)** Tansley Review no. 42; The *Nostoc-Gunnnera* symbiosis. New Phytol. 122: 379-400.
- BERGMAN, B. & HÄLLBOM, L. (1981)** *Nostoc* of *Peltigera canina* when lichenized and isolated. Can. J. Bot. 60: 2092-2098.
- BOISSIÈRE, M. C. (1976)** Cytologie du *Peltigera canina* (L.) Wild. en microscopie électronique. II. Le *Nostoc* libre et lichénisé; étude comparative. Rev. Cytol. Biol. Veg. 39: 139-199.
- BOISSIÈRE, M. C. (1987)** Ultrastructural evidence for polyglucosidic reserves in *Nostoc* cells in *Peltigera* and *Collema* and the effect of thallus hydration. Bibl. Lichenol. 25: 109-116.
- BOISSIÈRE, J.-C., BOISSIÈRE, M.-C., CHAMPION-ARNAUD, P., LALLEMANT, R. & WAGNER, J. (1987)** Le cycle des *Nostoc* des genres *Peltigera* et *Collema* en cultures *in vitro* et dans le thalle lichénique. Can. J. Bot. 65: 1468-1477.
- BÜDEL, B. & HENSSEN, A. (1983)** *Chroococcidiopsis* (Cyanophyceae), a phycobiont in the lichen family *Lichinaceae*. Phycologia 22: 367-375.
- BÜDEL, B. & HENSSEN, A. (1987)** *Trebouxia aggregata* und *Gloeocapsa sangiunea*, Phycobionten in *Euopsis granatina* (Lichinaceae). Pl. Syst. Evol. 158: 235-241.
- BORNET, É. (1873)** Recherches sur les gonidies des lichens. Ann. Sc. Nat., Bot., ser. 5, 17: 45-110.
- COSTA, J.-L., PAULSRUD, P., LINDBLAD, P. (1999)** Cyanobiont diversity within coralloid roots of selected cycad species. FEMS Microbiol. Ecol. 28: 85-91.
- DEGELIUS, G. (1954)** The lichen genus *Collema* in Europe. Symb. Bot. Upsal. 13: 1-499.

- ENDERLIN, C. S. & MEEKS, J. C. (1983)** Pure culture and reconstitution of the *Anthoceros-Nostoc* symbiotic association. *Planta* 158: 157-165.
- GEITLER, L. (1934)** Beiträge zur Kenntnis der Flechtensymbiose IV-V. *Arch. Protistenk.* 82: 51-85.
- GEITLER, L. (1937)** Beiträge zur Kenntnis der Flechtensymbiose IV. *Ibid.* 88: 161-179.
- GOWARD, T. (1999)** The Lichens of British Columbia – Illustrated Keys. Part-2-Fruticose species, Lichen photobionts: Algae and Cyanobacteria 22-26. (<http://www.for.gov.bc.ca/hfd/pubs/docs/Srs/Srs09/09Part02.pdf>)
- GREUTER, W. (ed.) (1988)** International Code of Botanical Nomenclature. Königstein: Koeltz.
- HAWKSWORTH, D. L. (1994)** Coevolution of fungi with algae and cyanobacteria in lichen symbiosis. In: Pirozynsky, K. A. / Hawksworth, D. L. (eds.): *Coevolution of Fungi with Plants and Animals*. Academic Press, London, San Diego, 125-148.
- HAWKSWORTH, D. L., KIRK, P. M., SOTTON, B. C. & PEGLER, D. N. (1995)** Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Wallingford: CAB International, Cambridge University Press.
- HENSSEN, A. (1963)** Eine Revision der Flechtenfamilien *Lichinaceae* und *Ephebeaceae*. *Symb. Bot. Upsal.* 18(1): 123.
- HENSSEN, A. (1964)** Was ist *Pyrenothrix nigra*? *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 77: 317-322.
- HENSSEN, A. (1981)** *Hyphomorpha* als Phycobiont in Lichens. *Pl. Syst. Evol.* 137: 139-143.
- CHAPMAN, M. J. & MARGULIS, L. (1998)** Morphogenesis by symbiogenesis. *Internati. Microbiol.* 1: 319-326.
- JAAG, O. (1945)** Untersuchungen über die Vegetation und Biologie der Algen des nackten Gesteins in den Alpen, im Jura und im swiezerischen Mittelland. *Ibid.* Band 9, Heft 3.
- JAMES, P. W. & HENSSEN, A. (1976)** The morphological and taxonomic significance of cephalodia. In *Lichenology, Progress and Problems* (D. H. Brown, D. L. Hawksworth & R. H. Bailey, eds.): 27-77. London: Academic Press.
- JØRGENSEN, P. M. (1998)** What shall we do with the blue-green counterparts? *Lichenologist* 30(4-5): 351-356.
- JØRGENSEN, P. M. (2003)** A new species of *Arctomia* from Sichuan Province in China. *Lichenologist* 35(4): 287-289.
- KARDISH, N., KESSEL M. & GALUN, M. (1989)** Characterization of symbiotic and cultured *Nostoc* of the lichen *Nephroma laevigatum* Ach. *Symbiosis* 7: 257-266.

- LAMB, I. M. (1951)** On the morphology, phylogeny and the taxonomy of the lichen genus *Stereocaulon*. Can. J. Bot. 29: 522-584.
- LANGE, O. L., BÜDEL, B., MEYER, A. & KILIAN, E. (1993)** Further evidence that activation of net photosynthesis by dry cyanobacterial lichens requires liquid water. Lichenologist 25(2): 175-189.
- LOHTANDER, K., OKSANEN, I. & RIKKINEN J. (2003)** Genetic diversity of green algal and cyanobacterial photobionts in *Nephroma (Peltigerales)*. Lichenologist 35(4): 325-339.
- MEEKS, J. C. (1998)** Symbiosis between nitrogen-fixing cyanobacteria and plants. Bioscience 48: 266-276.
- MIADLIKOWSKA, J. & LUTZONI, F. (2000)** Phylogenetic revision of the genus *Peltigera* (lichen-forming ascomycota) based on morphological, chemical and large subunit nuclear ribosomal DNA data. Int. J. Plant. Sci. 161(6): 925-958.
- OKSANEN, I., LOHTANDER, K., PAULSRUD, P. & RIKKINEN, J. (2002)** A molecular approach to cyanobacterial diversity in a rock-pool community involving gelatinous lichens and free-living *Nostoc* colonies. Ann. Bot. Fennici 39: 93-99.
- PAULSRUD, P. & LINDBLAD, P. (1998)** Sequence Variation of the tRNA<sup>Leu</sup>(UAA) Intron as a Marker for Genetic Diversity and Specificity of Symbiotic Cyanobacteria in Some Lichens. Appl. Environ. Microb. 64: 310-315.
- PAULSRUD, P., RIKKINEN, J. & LINDBLAD, P. (1998)** Cyanobiont specificity in some *Nostoc*-containing lichens and in a *Peltigera aphthosa* photosymbiodeme. New. Phytol. 139: 517-524.
- PAULSRUD, P., RIKKINEN, J., LINDBLAD, P. (2000)** Spatial patterns of photobiont diversity in some *Nostoc*-containing lichens. New Phytol. 146: 291-299
- PAULSRUD, P., RIKKINEN, J. & LINDBLAD, P. (2001)** Field investigations on cyanobacterial specificity in *Peltigera aphthosa*. New Phytol. 152: 117-123.
- RAI, A. N. (1990)** Cyanobacterial-fungal symbioses: the cyanolichens. In: Rai, A. N., ed. Handbook of symbiotic cyanobacteria. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc., 9-41.
- RAI, A. N. & BERGMAN, B. (2000)** Cyanolichens. Biol. Environ. Proceeding of the Royal Irish Academy. No.1: 19-23.
- RAI, A. N., SÖDERBÄCK, E., BERGMAN, B. (2000)** Transley review no.115; Cyanobactreium-plant symbioses. New Phytol. 147: 449-481.
- RAVEN, A. J. (2002)** The evolution of cyanobacterial symbioses. Biol. Environ. Proceeding of the Royal Irish Academy. Vol. 102B, No. 1: 3-6.



- RIPPKA, R., DERUELLES, J., WATERBURY, J. B., HERDMAN, M. & STAINER R. Y. (1979)** Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. 111: 1-61.
- SANTESSON, R. (1952)** Follicolous lichens I. Symb. Bot. Upsal. 12: 590.
- SCHIMAN, H. (1957)** Beiträge zur Lebengeschichte homoeomerer und heteromerer Cyanophyceen-Flechten. Österr. Bot. Z. 104: 409-453.
- STANIER, R.Y., KUNISAWA, R., MANDEL, M & COHEN-BAZIRE, G.(1971)** Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order *Chroococcales*). Bacteriol. Rev. 35: 171-205.
- STÖCKER-WÖRGÖTTER, E. & TÜRK, R. (1994)** Artificial resynthesis of the photosymbiodeme *Peltigera leucophlebia* under laboratory conditions. Cryptogam. Bot. 4: 300-308.
- SUMMERFIELD, T. C., GALLOWAY, D. J. & EATON-RYE, J. J. (2002)** Species of cyanolichens from *Pseudocyphellaria* with indistinguishable ITS sequences have different photobionts. New Phytol. 155: 121-129.
- SWINSCOW, T. D. V. (1965)** The marine species of *Arthopyrenia* in the British Isles. Lichenologist 3: 55-64.
- VĚZDA, A. & LIŠKA, J. (1999)** Katalog lišejníků České republiky. Institute of Botany, Academy of Science of the Czech Republic, Průhonice.
- WIRTH, V. (1995)** Die Flechten Baden-Württenbergs, Teil-1., 2., Eugen Ulmer, Stuttgart.  
<http://www.botany.org/plantimages/Lichens.php>