

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Jiří Malíček

**Epifytické druhy skupiny *Lecanora subfusca*
v České republice**

Epiphytic species of the *Lecanora subfusca* group in the Czech Republic

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce:
RNDr. Zdeněk Palice, Ph.D.

Praha 2012

Prohlášení:

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

V Praze 25. 8. 2012

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Za ochotné zapůjčení materiálu děkuji kurátorům sbírek BRNM, BRNU, GZU, HOMP, L, OLM, PRA a W, za poskytnutí vlastních sběrů či další pomoc s prací F. Boudovi, I. M. Brodovi, I. Černajové, J. P. Haldovi, C. M. van Herkovi, J. Kocourkové, H. Mayrhoferovi, A. Müllerovi, W. Obermayerovi, Z. Palicemu, O. Peksovi, M. Powellovi, D. Svobodovi, L. Syrovátkové a J. Vondrákovi. J. Steinové děkuji za objasnění a pomoc s řadou problému při molekulárních a chromatografických metodách, M. Kolaříkovi za cenné rady při tvorbě fylogenetických stromů, M. Weiserovi za ochotnou pomoc se statistickým vyhodnocením dat, P. Hrouzkovi za možnost provedení HPLC analýz, P. Martincovi za pomoc při tvorbě map rozšíření, J. Hadincovi a J. Liškovi za luštění problematických sched. Zvláštní poděkování patří Z. Palicemu za vedení a podporu během práce a mé rodině a přátelům za trpělivost.

ABSTRAKT

Během revize epifytických zástupců skupiny *Lecanora subfusca* v České republice bylo zaznamenáno celkem devět taxonů. *L. cinereofusca* a *L. exspersa* jsou uváděny vůbec poprvé. Výskyt *L. circumborealis* byl naopak na našem území vyloučen. Druhy *L. cinereofusca* a *L. horiza* lze považovat za vyhynulé. Nejběžnějším druhem je *L. pulicaris*. Taxony *L. rugosella* a *L. subrugosa* považují pouze za extrémní formy od *L. chlarotera* a *L. argentata*. Tyto morfotypy jsou podmíněny ekologicky: substrátem (úživná borka) a stanovištěm (vliv eutrofizace). V případě *L. subrugosa* tuto domněnku potvrdila také molekulární data (sekvence ITS rDNA). Podrobný průzkum sekundárních metabolitů pomocí tenkovrstevné chromatografie odhalil řadu nových látek ze skupiny terpenoidů, z nichž prakticky všechny mají taxonomický význam. Během studia změn v rozšíření jednotlivých druhů byl zaznamenán ústup druhů *L. allophana* a *L. chlarotera* ve srovnání s minulostí. Naopak *L. pulicaris* je nyní zřejmě hojnější. Hlavními důvody jsou znečištění ovzduší a acidifikace substrátů vlivem kyselých dešťů. Výrazné okyselení borky dřevin bylo prokázáno na příkladu *L. pulicaris*. Tento lišejník dříve rostl převážně na dřevinách s kyselou borkou. Vlivem acidifikace se však přesunul na stromy, které mají na normálních podmínkách mírně kyselou až subneutrální borku.

Klíčová slova: acidifikace substrátů, biodiverzita, chemotaxonomie, ekologie, extrémní formy, ITS, nové floristické údaje, pH borky, rozšíření, terpenoidy, TLC

ABSTRACT

During the revision of epiphytic species of the *Lecanora subfusca* group in the Czech Republic, nine taxa have been recorded. *L. cinereofusca* and *L. exspersa* are reported for the first time from the country. *L. circumborealis* has been excluded from the list of Czech lichens. *L. cinereofusca* and *L. horiza* could be considered as extinct. *L. rugosella* and *L. subrugosa* are regarded as extreme morphological forms from *L. chlarotera* and *L. argentata*. These morphotypes correlate with ecological conditions: substrate (nutrient enriched bark) and habitat (eutrophication effect). In case of *L. subrugosa*, this speculation was confirmed by molecular data (ITS rDNA sequences). Several new secondary metabolites have been discovered during the detailed research of chemical lichen compounds. These substances belonging to terpenoids are taxonomically important and very helpful for distinguishing single species. The abundance of *L. allophana* and *L. chlarotera* has decreased during last decades. Contrarily, *L. pulicaris* expanded slightly. The main reasons of changes in distribution are air pollution and acidification of substrates as the impact of acid rains. The rate of substrate acidification has been shown on example of *L. pulicaris*. In the past, this lichen predominated on acid-barked porophytes. Nowadays, it grows mainly on trees with slightly acid and subneutral bark.

Key words: bark pH, biodiversity, chemotaxonomy, distribution, ecology, extreme morphological forms, ITS, new floristic records, terpenoids, substrates acidification, TLC

OBSAH

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. Úvod | 6 |
| 1.1. Vymezení studované skupiny | 7 |
| 1.2. Historie výzkumu..... | 7 |
| 1.3. Morfologie a anatomie stélky | 9 |
| 1.4. Morfologie apothecií..... | 10 |
| 1.5. Anatomie apothecií | 11 |
| 1.6. Pyknidy a konidie | 15 |
| 1.7. Sekundární metabolity | 15 |
| 1.8. Taxony publikované z ČR | 16 |
| 2. Materiál a metodika | 16 |
| 2.1. Materiál | 16 |
| 2.2. Morfologické a anatomické studie, bodové reakce | 17 |
| 2.3. Chemické analýzy | 18 |
| 2.4. Molekulární analýzy | 18 |
| 2.5. Statistické vyhodnocení | 20 |
| 2.6. Mapy rozšíření | 22 |
| 3. Výsledky | 22 |
| 3.1. Problematika určování druhů | 22 |
| 3.2. Teorie extrémních forem | 23 |
| 3.3. TLC analýzy | 24 |
| 3.4. HPLC analýzy..... | 32 |
| 3.5. Abundance jednotlivých druhů a celková prozkoumanost území | 33 |
| 3.6. Srovnání ekologických a substrátových preferencí | 35 |
| 3.7. Navrhované kategorie Červeného seznamu..... | 39 |
| 3.8. Fylogeneze a molekulární analýzy | 39 |
| 3.9. Charakteristika jednotlivých taxonů, jejich ekologie a rozšíření..... | 41 |
| 3.10. Stručná charakteristika dalších střeoevropských taxonů | 58 |
| 3.11. Klíč k určování zástupců skupiny <i>Lecanora subfusca</i> v ČR | 61 |
| 4. Diskuze | 62 |
| 4.1. Srovnání diverzity s okolními státy | 62 |
| 4.2. Teorie extrémních forem | 63 |
| 4.3. Chemotaxonomie | 63 |
| 4.4. Rozšíření, ekologie a změny substrátových preferencí | 64 |
| 4.5. Fylogeneze | 66 |
| 5. Závěr | 66 |
| 6. Literatura | 67 |
| 7. Přílohy | |
| 7.1. Seznam revidovaných položek | I |
| 7.2. Ukázky TLC desek s vyznačenými látkami | XXVI |
| 7.3. Ukázka HPLC chromatogramů..... | XXVIII |
| 7.4. Fotografie vybraných zástupců..... | XXIX |
| 7.5. Ostatní..... | XXXV |

1. ÚVOD

Lišejníky všeobecně patří k relativně málo prozkoumaným skupinám organismů. Hlavními důvody jsou jejich zpravidla malá velikost a nízký počet vědců, kteří se výzkumem lišejníků zabývají. Česká republika je velmi dobrým příkladem státu, kde nikdy nebyl počet lichenologů vysoký. To je zásadní rozdíl např. oproti Velké Británii, kde se lichenologií zabývají snad stovky amatérů a poměrně velký počet profesionálů. Zvláště v druhé polovině 20. století působilo na našem území jen několik lichenologů. Kvůli nedostatku aktuálních terénních dat došlo víceméně ke ztrátě přehledu o výskytu mnoha, ne-li většiny, lišejníků v ČR. K tomu přispěly také kyselé deště, které zcela zásadním způsobem změnilo složení lichenoflóry na většině území státu. Nastala tak doba, kdy v úvahách o rozšíření a četnosti zvláště epifytických druhů již nebylo možné vycházet z historických údajů. Až ke konci minulého století se terénní výzkum české lichenoflóry pomalu začíná obnovovat. Hlavními oblastmi floristického bádání jsou především Šumava, Orlické hory a Brdy. V současné době máme k dispozici množství údajů především z mnoha míst v Čechách. Morava zatím zůstává spíše v pozadí zájmů. Na rozdíl od cévnatých rostlin či mechorostů je proto terénní floristický průzkum České republiky stále velmi zajímavým a potřebným vědeckým záměrem. Rozhodně to neznamená, že o rozšíření cévnatých rostlin a mechorostů víme téměř vše. Zdůrazňuji tím především propastný rozdíl mezi množstvím floristických dat od výše zmíněných skupin v porovnání s lišejníky.

Dalším velkým rozdílem mezi lišejníky a cévnatými rostlinami či mechorosty je doposud nevyřešená taxonomie mnoha skupin druhů či dokonce celých rodů. To je všeobecně velká komplikace nejen při floristickém průzkumu, ale při jakékoli ekologické studii, kde je základní jednotkou druh. Lišejníky pravděpodobně nepatří mezi organismy s dominancí kryptických druhů, které bez molekulárních metod není téměř možné rozlišovat, jak to často bývá např. u řas v širokém slova smyslu či mikroskopických hub. Proto i práce založené na klasických taxonomických přístupech a omezené pouze na určitou oblast (např. jediného státu) mohou mít velký vědecký přínos. K všeobecně obtížným a velice málo probádaným skupinám patří právě také skupina nazývaná *Lecanora subfusca*. Ačkoliv zástupci této skupiny jsou v ČR poměrně běžní a rostou na většině území, jejich rozlišování vždy působilo lichenologům značné potíže. Důvodů můžeme nalézt hned několik. Jednotlivé druhy jsou si vzájemně velice podobné, bývají dosti variabilní, při jejich určování je zpravidla nutné využívat mikroskop, který by měl navíc být vybaven polarizovaným světlem kvůli sledování velikosti krystalů a granulek v plodnicích, taxonomie některých druhů není spolehlivě vyřešena a názory lichenologů se liší, určovací klíče se nezdá zakládají na nespolehlivých (popř. i chybných) znacích a pro území střední Evropy zcela chybí aktuální souhrnné zpracování této skupiny. Povědomí o rozšíření, ekologii i hojnosti zástupců

studované skupiny rostoucích v ČR bylo proto velice nízké a navíc velmi často založené na nesprávně určeném materiálu.

Jako cíle této práce jsem si stanovil (1) prověřit celkovou diverzitu epifytických zástupců skupiny *Lecanora subfusca* v ČR, (2) podrobně prozkoumat jejich ekologii, rozšíření, abundanci a změny v rozšíření, (3) detailně zmapovat sekundární metabolity detekovatelné pomocí tenkovrstevné chromatografie a objasnit jejich taxonomický význam a (4) stanovit znaky, na jejichž základě lze jednotlivé druhy vzájemně odlišovat. V této studii se snažím využívat komplexní přístup k dané problematice. Kombinuji tudíž poznatky přímo z terénu, morfologické, anatomické a chemické znaky, znalosti o ekologii, historické i recentní údaje a částečně i molekulární data.

1.1. Vymezení studované skupiny

Skupinu *Lecanora subfusca* charakterizují (i) apothecia s červenohnědými disky, (ii) přítomnost krystalů šťavelanu vápenatého v okraji apothecií a (iii) přítomnost atranorinu. Mezi další charakteristiky patří elipsoidní až široce elipsoidní spóry v průměru $10\text{--}20 \times 6\text{--}9 \mu\text{m}$ (Brodo 1984). V této práci je skupina pojata v úzkém slova smyslu. Řada autorů zahrnuje do *Lecanora subfusca* agg. také skupinu *L. pallida* (Magnusson 1932, Poelt 1952, Ibáñez & Burgaz 1998, Edwards et al. 2009). Ta se vyznačuje absencí kůry apothecií (s výjimkou taxonu *L. carpineae*), silně ojíněnými disky, drobnými krystaly v amphithecii a zahrnuje také druhy s C⁺ žlutou reakcí apothecia způsobenou obsahem xanthonů (Kofler 1956, Imshaug & Brodo 1966).

1.2. Historie výzkumu

Jméno skupiny pochází z taxonu popsáným roku 1753 C. Linném – *Lichen subfuscus* L. V roce 1810 byl tento lišejník zařazen Achariem do rodu *Lecanora*, kdy se poprvé objevuje kombinace *Lecanora subfusca* (L.) Ach. Acharius popisuje celkem 8 v ariet, z nichž 7 je dnes chápáno na druhové úrovni (Brodo & Vítikainen 1984). Revizí taxonu *Lecanora subfusca* se podrobně zabýval Stizenberger (1868), který publikoval 6 v ariet a 23 forem tohoto druhu. Zabýval se též tropickými taxony, které chybí v práci Acharia. V taxonomické studiu misničků pokračuje Hue (1903), který na základě morfologie rozlišuje pouze 3 v ariet (var. *allophana*, *glabrata* a *chlarona*).

S novým pojetím skupiny přichází Magnusson (1932). Podrobně se zabývá anatomii skupiny a používá úzké pojetí druhů. Popisuje několik nových druhů, které jsou uznávány i v současné době. Jeho práce v zásadě odpovídá novodobému taxonomickému pojetí. Několik studií se objevuje v padesátých letech. V jižním Německu se taxonomií a ekologií skupiny zabývá Poelt (1952). Popisuje dva nové druhy, z nichž *L. laevis* je dnes chápána jako synonymum k *L. horiza* (Brodo

1984). Misničky ve Francii studoval Clauzade (1953). Jeho nepříliš vydařenou práci následuje Kofler (1956), která poprvé zavádí do studia misniček polarizované světlo. Detailně studovala krystaly a granulky v apotheciích a zdůraznila jejich taxonomický význam. Rozlišuje zde skupiny *L. pallida* a *L. subfusca* s. str. Krátký příspěvek k morfologii ukrajinských druhů publikovala Makarevich (1971). Identitou některých taxonů se zabýval také Motyka (1977), ovšem jeho typifikace nebyla přijata (Brodo & Vitikainen 1984).

Novodobou etapu průzkumu skupiny započal I. M. Brodo. Spolu s Vitikainem (Brodo & Vitikainen 1984) typifikovali 22 jmen misniček *L. subfusca* agg. převážně z Achariova herbáře v Helsinkách. Brodo (1984) v témže roce publikuje svojí velice obsáhlou monografii severoamerických druhů, kterou překonává všechny doposud vydané práce. Podrobně se zabývá taxonomií, chemií, ekologií a rozšířením jednotlivých taxonů, popisuje druhy nové a shrnuje známé poznatky o dané problematice. Jeho studie je založena na revizi přibližně 2900 položek.

Další rozsáhlé monografie skupiny *L. subfusca* z určitých oblastí publikovali Miyawaki (1988) o japonských druzích, Lumbsch (1994) o australsko-asijských taxonech a Guderley (1999) o jiho- a středoamerických misničkách. Přehled druhů rostoucích v Indii provedl Upreti (1997). Revizi skupiny v Estonsku se zabývala Jüriado (1998). Velmi přínosná je práce o španělských druzích (Ibáñez & Burgaz 1998). Taxony *L. cinereofusca* (jako *L. degelii*) a *L. insignis* v Alpách a Apalačích se zabývali Schauer & Brodo (1966). V roce 1999 popisují holandští autoři ze západní Evropy dvě nové misničky z této skupiny: nitrofilní sorediózní druh *L. barkmaniana* (Aptroot & van Herk 1999, jako *L. barkmaneana*) a *L. sinuosa* z příbuzenstva *L. pulicaris* (van Herk & Aptroot 1999). Podrobnou charakteristiku druhů rostoucích na pěnišnicích v Alpách podává Hinteregger et al. (1989) a Hinteregger (1994). Taxony s polysporickými vřečky studovali Guderley & Lumbsch (1999). Z recentních prací se detailní informace o zástupcích skupiny objevují v sonorské (Ryan et al. 2004) a britské lišejníkové flóře (Edwards et al. 2009). Skupina *Lecanora subfusca* je zahrnuta také v klíčích lišejníků vztahujících se k území Evropy (Poelt & Vězda 1981, Clauzade & Roux 1985, Wirth 1995).

Studiem sekundárních metabolitů se vůbec poprvé více zabýval Brodo (1984), který poměrně podrobně zmapoval a taxonomicky zhodnotil výskyt těchto látek u severoamerických druhů. Mimo jiné poukazuje na rozdíly mezi chemií severoamerických a evropských taxonů. Na příkladu dvou saxikolních zástupců skupiny *Lecanora subfusca* bylo rovněž poukázáno na variabilitu obsahových látek široce rozšířených taxonů v závislosti na rozšíření, nikoliv však na morfologii (Lumbsch et al. 1994). Na chemii evropských misniček se ovšem žádná práce podrobněji nezaměřila. Cenná chemická data méně známých taxonů *L. exspersa* a *L. salicicola* ale přináší Hinteregger (1994). Tønsberg (1992) je jediným autorem zmiňujícím neznámé terpenoidy vyskytující se u *L. allophana*

v Evropě. Stručná chemická data k britským taxonům nalezneme v práci Edwards et al. (2009). Sekundárními metabolity se podrobně zabývali Elix & Lumbsch (1999), kteří analyzovali téměř tři desítky druhů ze studované skupiny. Nicméně se vesměs zaměřili na exotické druhy nevyskytující se ve střední Evropě. Lumbsch (1994) staví taxonomii australsko-asijských druhů převážně na tzv. chemosyndromech. Jím uváděné látky se však ve většině případů liší od střeoevropských sběrů. Elix et al. (1994) popsali některé nové metabolity lišejníků mimo jiné právě ze skupiny *L. subfusca*. Lumbsch a Feige prováděli TLC a HPLC analýzy vybraných druhů „lekanoroidních“ lišejníků vydaných v exsikátech a v sérii tří článků (Lumbsch & Feige 1992, 1994 a 1996) publikovali chemická data z některých zástupců této skupiny.

V rámci rodu *Lecanora* jsou taxonomické práce s důrazem na fylogenezi určité skupiny velmi ojedinelé. V podstatě existují pouze tři publikace, kde jsou fylogenetické analýzy v rámci rodu *Lecanora* primárním výstupem článku. Jedná se o skupiny *Lecanora rupicola* (Grube et al. 2004), *L. varia* v Severní Americe (Pérez-Ortega et al. 2010) a vybrané zástupce skupiny *L. dispersa* (Sliwa et al. 2012). V těchto studiích bylo využito i několik ITS sekvencí ze zástupců skupiny *L. subfusca*. Fylogenetické stromy zahrnující další molekulární data ze studované skupiny nalezneme ve třech dalších recentních pracích nezabývajících se výlučně rodem *Lecanora* (Kelly et al. 2011, Rodrigues et al. 2011, Schull et al. 2011). V práci Rodrigues et al. (2011) vychází skupina *Lecanora subfusca* dokonce jako polyfyletická (odděleny jsou druhy s malými a velkými krystaly v amphitheciu). Kvůli zahrnutí velmi malého počtu druhů a využití velice variabilní ITS však nelze tomuto faktu přiřadit větší hodnotu.

Existuje množství dalších prací, které se zabývají taxonomií skupiny *L. subfusca* (např. Brodo et al. 1994, Lumbsch 1995), avšak tyto studie přímo nesouvisí s problematikou střeoevropských (či evropských) epifytických druhů. Z tohoto důvodu není jejich detailnější přehled uváděn.

1.3. Morfologie a anatomie stélky

Stélka je vždy dobře vyvinuta u všech zástupců. Zpravidla je silnější, vzácně pouze tenká (často např. u *L. pulicaris*). Vyznačuje se šedobílou (vzácněji žlutobílou) barvou, kterou způsobuje přítomnost atranorinu. Povrch bývá hladký, rozpraskaný, hrubý až bradavičnatý. Prothallus většinou není patrný. Hojně bývá přítomný pouze v kontaktních zónách s dalšími druhy lišejníků. Zde má zpravidla černou barvu.

Svrchní kůra není zpravidla dobře odlišena. Guderley (1999) popisuje vrchní část stélky pouze jako 12 až 50 µm silnou vrstvu obsahující drobné krystaly rozpustné v KOH, kde svrchní vrstva postupně přechází v řasovou vrstvu (Guderley 1999). Ta obsahuje řasy rodu *Trebouxia* s. lat.

(Gärtner 1985) a její tloušťka se pohybuje mezi 45 až 145 μm . Na řasovou vrstvu postupně navazuje dřev, jejíž hyfy se v principu neliší od hyf v části s fotobiontem. Mohou se zde vyskytovat shluky buněk řas a velké krystaly šťavelanu vápenatého (Guderley 1999).

U některých taxonů dochází na povrchu stélky k produkci sorálů (z českých zástupců *L. allophana* f. *sorediata*, *L. exspersa*, *L. impudens*). Sorály mají vždy světlejší barvu než stélka. Bývají polokulovité a ohraničené (*L. allophana*), ploché až mírně prohlubňovité, někdy i vzájemně splývající (*L. impudens*). Zvláště u *L. exspersa* na tenkých větvičkách mohou sorédie souvisle pokrývat většinu povrchu stélky. Tvar sorálů velmi často závisí na konkrétních ekologických podmínkách, proto nemusí vždy fungovat jako spolehlivý rozlišovací znak. Sorédie bývají granulovité až moučnaté (Brodo 1984). Jejich rozměry se pohybují mezi 15 až 38 μm (Guderley 1999). Rozlišování jednotlivých taxonů výhradně na základě přítomnosti sorédií je sporná záležitost (Mattsson & Lumbsch 1989). U druhů ze skupiny *L. subfusca* se zpravidla tento znak používá v kombinaci s dalšími znaky (cf. Guderley 1999). Isidie a blastidie nejsou u zástupců skupiny známy.

1.4. Morfologie apothecií

S výjimkou některých převážně sorediálních druhů jsou plodnice na stélce hojně přítomné. Apothecia jsou lekanorovitěho typu (tzn. s přítomností stélkového okraje). Jejich velikost se pohybuje mezi 0,5 až 2,0 mm. Nejčastěji jsou přisedlá a k podkladu přiléhají většinou plochy. Vzácněji se vyznačují zúženou bází (*L. allophana*). *L. cinereofusca* je charakteristická v mládí zanořenými apothecií. Disky mají většinou červenohnědou barvu. Mohou být také světle hnědé až růžovohnědé (např. u *L. chlarotera*), oranžovohnědé, hnědočervené až černé (*L. pulicaris*). Brodo (1984) zmiňuje také odstíny růžovožluté, červenooranžové a žlutohnědé. Nápadně načervenalými disky bývá typická dobře vyvinutá *L. cinereofusca*. Barva plodnic může být u některých druhů extrémně variabilní (*L. pulicaris*, *L. chlarotera*). Výsledný odstín ovlivňuje také typ epihymenia, respektive přítomnost epihymeniálních granulek. Dle Miyakawih (1988) určuje výslednou barvu disků také míra oslunění. To je zvláště nápadné např. u jihoevropských a vysokohorských populací druhu *L. chlarotera*, který má na slunci exponovaných lokalitách tmavě hnědé disky. U střeoevropských druhů jsou disky zpravidla neojiněné. Slabě ojíněné mohou být u *L. chlarotera*, *L. exspersa* či *L. allophana*. Pruina má charakter krystalů a granulek (Brodo 1984).

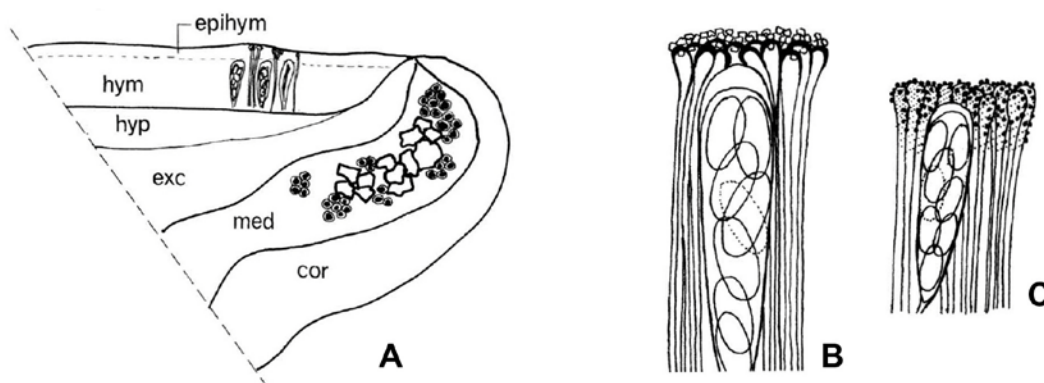
Stélkový okraj má stejnou barvu jako stélka a bývá důležitým taxonomickým znakem. Zpravidla je středně silný až silný, u některých druhů tenký (zpravidla u *L. pulicaris* a *L. glabrata*) až mizející (*L. salicicola*). Velmi silný a vyvýšený okraj je charakteristický pro taxon *L. sinuosa*. Hladký okraj plodnic má např. *L. pulicaris*, *L. glabrata*, *L. horiza* a zpravidla *L. allophana*. Mírně vroubkovaný

okraj je typický pro *L. argentata* a *L. chlarotera*. Silně vroubkované až bradavičnaté excipulum má *L. cinereofusca* a extrémní formy od některých výše zmíněných druhů.

1.5. Anatomie apothecií

Hymenium

Výška výtrusorodé vrstvy se u českých druhů zpravidla pohybuje mezi 50 až 80 μm v závislosti na velikosti apothecia. Kvůli značné variabilitě v rámci tohoto rozmezí není využívána jako taxonomický znak. K stejnému závěru dochází např. Brodo (1984). Hymenium je bezbarvé a po přidání Lugolova roztoku (jodové činidlo značené „I“ nebo „J“) se zbarvuje modře (Miyawaki 1988, Lumbsch 1994, Guderley 1999). Ojedinele byly pozorovány roztroušené olejové kapénky, na jejichž občasný výskyt poukazuje Guderley (1999). Šířka parafýz se pohybuje od 1,3 do 2,2 μm , jsou mírně přehrádkované a řídkce větvené. U některých druhů (s *pulicaris*- či *chlarotera*-typem epihymenia) se některé parafýzy na vrcholu mírně rozšiřují (až na 4,2 μm), zatímco u taxonů s *glabrata*-typem epihymenia toto nebylo pozorováno (Brodo 1984).



Obr. 1. A) Anatomická stavba apothecia: epihym – epihymenium, hym – hymenium, hyp – hypotheceum, exc – excipulum, med – dřeň, cor – kůra; B) *chlarotera*-typ epihymenia; C) *pulicaris*-typ epihymenia (převzato z práce Brodo 1984).

Epihymenium

Charakter vrchní části hymenia je zásadním taxonomickým znakem pro rozlišování druhů a skupin druhů. Brodo (1984) a Miyawaki (1988) rozlišují celkem čtyři typy epihymenia (přestože se jejich charakteristiky v detailech liší). V rámci studovaných taxonů lze rozpoznat pouze tři typy (viz Tab. 1.). Pigmentaci epihymenia způsobuje jednak pigment obsažený ve stěnách parafýz (např. u *L. pulicaris*), dále želatinózní materiál v horní třetině až čtvrtině epihymenia (např. u *L. allophana*), ale také hnědá až žlutá barva granulek (Brodo 1984). Aplikací KOH lze epihymenium odbarvit, pouze u *glabrata*-typu pigment většinou vytrvává. U černě zbarveného epihymenia (formy *L.*

pulicaris, nebo typicky u *L. circumborealis* a *L. meridionalis*) se pigment při aplikaci HNO_3 zbarvuje dočervena.

| typ epihymenia | pigment | granulky | výskyt |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>chlarotera</i> | většinou chybí nebo červenohnědý (hnědou barvu způsobují granulky) | <i>chlarotera</i> -typ | <i>L. chlarotera</i> , <i>L. cinereofusca</i> , <i>L. exspersa</i> |
| <i>pulicaris</i> | červenohnědý, u tmavých plodnic tmavě hnědý až vzácně s olivovým odstínem | <i>pulicaris</i> -typ | <i>L. pulicaris</i> |
| <i>glabrata</i> | zřetelně oranžový až červenooranžový | chybí | <i>L. allophana</i> , <i>L. argentata</i> , <i>L. glabrata</i> , <i>L. horiza</i> , <i>L. impudens</i> |

Tab. 1. Přehled typů epihymenií, jejich vlastností a rozšíření u českých druhů.

Důležitým znakem je typ přítomných granulek, které svítí v polarizovaném světle a jsou rozpustné v hydroxidu draselném (K). V zásadě lze rozlišit dva typy: „*chlarotera*“ a „*pulicaris*“. Granulky se liší ve velikosti, rozpustnosti v HNO_3 a umístění v epihymeniu (viz Tab. 2.). Granulky *chlarotera*-typu tvoří látka označovaná jako *chlarotera*-unknown (viz kapitola 3.3.6.). Správné určení typu granulek často bývá dosti problematické a běžně vede k chybné determinaci druhu. Velikost a rozmístění mohou být u hůře vyvinutých exemplářů nebo na silných a nepravidelných řezech zavádějící, proto je nutné prověřit rozpustnost granulek v kyselině dusičné. Zde je třeba dbát na dostatečnou koncentraci kyseliny (50 %) a delší čas (až několik minut), který je nutný k rozpuštění těchto krystalických částic. U některých položek *L. allophana* nebo i dalších druhů s *glabrata*-typem epihymenia byla zjištěna přítomnost drobných olejových kapének, které mohou připomínat granulky. Nesvítí však v polarizovaném světle. Určování typu epihymenia bez využití polarizovaného světla nelze doporučit. Snadno může dojít k záměně granulek za olejové kapénky nebo špatné odhadnutí jejich velikosti a rozmístění. Zvláště problematický bývá *pulicaris*-typ. Celkem spolehlivě lze rozpoznat pouze *glabrata*-typ, který je v ideálním případě jasně oranžový až červenooranžový a bez dalších částic.

| typ granulek | velikost | rozmístění | rozpustnost v HNO_3 |
|-------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <i>chlarotera</i> | hrubé, 1–2,5 (4,0) μm | vrcholky parafyz, při větším množství tvoří souvislou vrstvu v epihymeniu | ano, ale pomalu |
| <i>pulicaris</i> | drobné, 0,5–1,0 μm | vrchní vrstva hymenia, někdy pronikají i do střední části | ne |

Tab. 2. Přehled typů epihymeniálních granulek a jejich vlastností.

Hypothecium

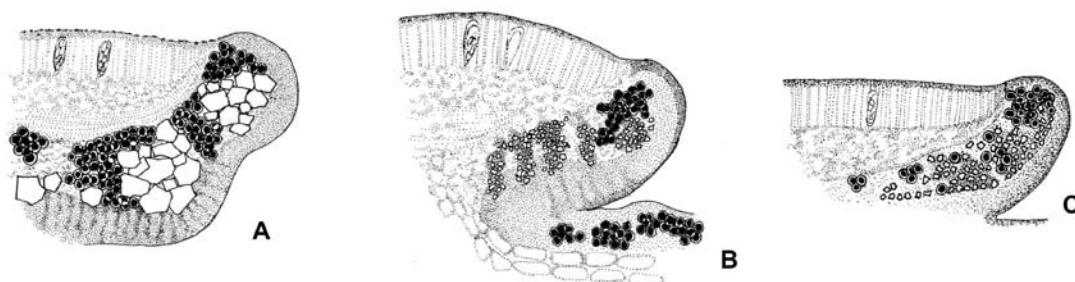
Hypothecium je u střeoevropských druhů anatomicky obtížně rozlišováno, proto mu nebývá přikládán taxonomický důraz. Je bezbarvé. U některých severoamerických druhů může být i významně vyvinuté (Brodo 1984). Mimo Evropu rostou také zástupci skupiny s tmavým hypotheciem (Lumbsch et al. 1996).

Amphithecium

Jako amphithecium označujeme spodní část stélkového okraje plodnic. V amphitheciu patří u rodu *Lecanora* k důležitým znakům rozmístění a početnost řas i přítomnost a typ krystalů. U skupiny *Lecanora subfusca* zřejmě nemá první zmíněný znak valný význam. Taxonomie druhů je zásadním způsobem postavena především na amphitheciálních krystalech (Brodo 1984). Jedná se o krystaly šřavelanu vápenatého, které zářivě svítí v polarizovaném světle a jsou rozpustné v kyselině sírové. Důležitými vlastnostmi krystalů jsou jejich velikost a rozpustnost v KOH (Brodo 1984). Již Magnusson (1932) rozlišil dva typy v KOH nerozpustných amphitheciálních krystalů: (a) drobné krystaly *allophana*-typu vyplňující amphitheciální dřev a pronikající též do kůry a (b) velké nahloučené krystaly *pulicaris*-typu (v originálu *chlarona-subrugosa*) uložené především v okrajích amphithecia. Drobné krystaly dosahují do 10 µm v průměru, velké více než 10 µm (Miyawaki 1988). V této práci je využito členění na tři typy amphithecia stejně jako v práci Brodo (1984). Bližší přehled je uveden v tabulce č. 3.

| typ amphithecia | charakter krystalů | výskyt |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>pulicaris</i> | velké, tvoří nápadné shluky při okraji amphithecia, vzácně chybí (u hůře vyvinutých plodnic) | <i>L. argentata</i> , <i>L. chlarofera</i> , <i>L. cinereofusca</i> , <i>L. pulicaris</i> |
| <i>campestris</i> | malé, zcela nebo částečně vyplňující dřev amphithecia, nevstupují do kůry, zpravidla velmi početné | <i>L. horiza</i> |
| <i>allophana</i> | malé, přítomné v dřevu i kůře amphithecia, zpravidla velmi početné | <i>L. allophana</i> , <i>L. glabrata</i> , <i>L. impudens</i> |

Tab. 3. Typy amphithecia vyskytující se u českých zástupců.



Obr. 2. Typy amphithecia vyskytující se u českých zástupců skupiny *L. subfusca*: A – *pulicaris*-typ, B – *allophana*-typ a C – *campestris*-typ (převzato z práce Brodo 1984).

Určení typu amphithecia bývá s využitím polarizovaného světla většinou snadné. Bez polarizace lze na tenkém řezu dobře rozlišit shluky velkých krystalů. Malé krystaly bývají někdy jen obtížně pozorovatelné, zvláště pokud je silně vyvinuta řasová vrstva, která tyto částice překrývá. Problematické určení amphitheciálního typu může být také v případech, kdy velké krystaly degradují a rozpadají se na středně velké a v menší míře i na malé krystaly. To bylo pozorováno u přestárých plodnic. U hůře vyvinutých položek nebo u exemplářů z extrémních stanovišť mohou

velké krystaly zcela chybět. To je častější pouze u druhu *L. pulicaris*. V případě *L. cinereofusca* je absence nebo řídký výskyt amphitheciálních krystalů relativně běžný. Komplikované bývá vzájemné rozlišení *allophana*- a *campestris*-typu. Zde je nutné pozorovat tenký řez plodnicí nejlépe v KOH.

Kůra

Kůra je dalším důležitým taxonomickým znakem u některých druhů. Většina taxonů má dobře definovanou želatinózní kůru s velmi drobnými granulami nerozpustnými v HNO₃ a rozpustnými v KOH. Tloušťka kůry bývá víceméně rovnoměrně k bázi se rozšiřující, kde dosahuje maximálně dvojnásobné tloušťky. U některých druhů (např. *L. circumborealis*, *L. horiza*) může kůra na bázi dosahovat až čtyřnásobku tloušťky při okraji apothecia. Brodo (1984) rozlišuje tři typy amphitheciální kůry (viz Tab. 4.). Rozlišení *allophana*- a *campestris* typu je stejně jako v případě amphithecia komplikované a vyžaduje značnou zkušenost a dobře vyvinutý materiál.

| typ kůry | vlastnosti kůry |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>cinereofusca</i> | nevýrazná, neželatinózní, 0-15 (20) μm silná |
| <i>campestris</i> | želatinózní, výrazně oddělená od dřene, alespoň 20 μm silná při bázi |
| <i>allophana</i> | želatinózní, nevýrazně oddělená od dřene, často zesílená při bázi, obsahuje v KOH nerozpustné krystaly |

Tab. 4. Typy kůry apothecií a její vlastnosti dle práce Brodo (1984).

Vřečka a výtrusy

Vřečka mají kulovitý až kulovitě-cylindrický tvar. U všech zástupců skupiny jsou v podstatě stejná (Guderley 1999). Dle Hafellnera (1984) patří k typu *Lecanora* s. str. Středoevropské epifytické druhy mají 8 spór ve vřečku, pouze vzácný taxon *L. praesistens* je charakteristický 16-sporickými vřečky.

Výtrusy u *Lecanora subfusca* agg. jsou jednobuněčné, bezbarvé a eliptické. Kvůli olejovým kapkám se mohou ovšem jevit jako dvoubuněčné, avšak septum vždy chybí. Přestože se v rámci některých populací objevuje značná variabilita ve velikosti spór, patří jejich velikost i tvar k důležitým charakteristikám. Velikost výtrusů se nejčastěji pohybuje v rozmezí 10–16 × 6–10 μm. U *L. allophana* může dosahovat délka spór až 22 μm. Naopak špatně vyvinuté spóry malých rozměrů zpravidla nalézáme u sorediózních druhů *L. barkmaniana*, *L. exspersa* a *L. impudens*. Výtrusy mají u většiny druhů tenkou stěnu – 0,7 až 1,0 μm (Brodo 1984). Silnostěnné spóry (až 1,5 μm) jsou charakteristické pro severskou *L. circumborealis* a některé extrémně vyvinuté formy dalších druhů (cf. Brodo 1984, Wirth 1995).

1.6. Pyknidy a konidie

Pyknidy byly u studovaného materiálu pozorovány jen velmi ojediněle. Pokud se na dané položce vyskytovaly, zpravidla byly hojné s dobře vyvinutými konidii. Dle Brodoa (1984) byly pyknidy pozorovány u většiny zástupců skupiny. Zpravidla jsou zanořené v silnějších částech stélky a na povrchu se jeví pouze jako tmavé ústí pyknidy neboli ostiolum.

Konidie mají nitkovitý tvar a bývají slabě až výrazně zakřivené (Brodo 1984). Brodo (1984) uvádí jejich rozměry okolo $16\text{--}22 \times 1 \mu\text{m}$, Guderley (1999) potom $14\text{--}30 \times 0,5\text{--}1 \mu\text{m}$. Dle obou těchto prací nemají konidie v rámci skupiny taxonomický význam. Rozdíly v délce konidií byly pozorovány u japonských druhů (Miyawaki 1988). U jedné detailně prostudované položky druhu *L. pulicaris* (PRA/ŠB 1315) měla stěna pyknid hnědou až modročernou barvu (K+ olivově, místy černě) a konidie byly zakřivené o rozměrech $13\text{--}23 \times 1 \mu\text{m}$.

1.7. Sekundární metabolity

V současné době počet lišejníkových sekundárních metabolitů se známou strukturou přesahuje číslo 800 (Huneck 1999). Skutečné množství může však být i několikanásobně vyšší. Naprostá většina těchto látek je navíc specifická pouze pro lišejníky, a tudíž není známa z jiných organismů. Zpravidla se jedná o produkty mykobionta nerozpustné ve vodě a rozpustné v organických rozpouštědlech (Elix & Stocker-Wörgötter 2008). Pro lišejníky mají různý význam. Nejčastěji se jedná o antibiotické či antiherbivorní látky, inhibitory růstu rostlin, inhibitory enzymatické aktivity, mohou také chránit lišejník před UV zářením, ovlivňovat permeabilitu membrán, pomáhat získávat důležité minerály ze substrátu nebo vznikají jako stresové metabolity (Huneck 1999). Celkově se ale jedná o velmi málo probádanou oblast vědy, kde většina důležitých objevů teprve čeká na své odhalení.

Výjimečnost lišejníkových látek ovšem tkví v jejich obrovském taxonomickém významu a tudíž v rutinním využívání metod jejich detekce. To je velký rozdíl oproti cévnatým rostlinám, mechorostům, houbám či řasám, kde se sekundární metabolity využívají pro determinaci taxonů jen ojediněle u vybraných skupin. V lišejnících se vyskytují v různých podobách a formách. Většina z nich obaluje povrch houbových vláken. Můžeme je však nalézt také jako granulky, krystaly, kapénky či pigmenty v generativních a vzácněji i ve vegetativních částech stélky. Přítomnost různých látek zpravidla dobře charakterizuje taxony lišejníků a misničků nevyjímaje na různých úrovních. Metody sloužící k detekci lišejníkových látek jsou zvláště užitečné u skupin druhů, které za běžných podmínek netvoří plodnice a badatel tak nemá k dispozici dostatek znaků na jednoznačnou identifikaci sběru. Příkladem mohou být rody *Bryoria*, *Cetrelia*, *Cladonia*, *Lepraria*

a *Usnea*. Určování lišejníků na základě sekundárních metabolitů je záležitost především 2. poloviny 20. století a samozřejmě současnosti. Pro zajímavost – vůbec prvním nepřímým důkazem přítomnosti látek v lišejnících byly stélkové reakce využité již Nylanderem (1866).

Většina zástupců skupiny *L. subfusca* bývá bohatě plodná, proto je chemie těchto lišejníků často opomíjena a hlavní důraz je kladen na morfologické a anatomické znaky. V případě střeoevropských a vlastně i evropských taxonů nebyly sekundární metabolity s několika výjimkami (viz kapitola Historie výzkumu) podrobně studovány, tudíž s výjimkou sorediálních druhů a taxonů s nápadnými stélkovými reakcemi nebývají používány k determinaci materiálu. U misniček zaznamenaných na území ČR se udává vyjma několika neznámých a velmi ojediněle se vyskytujících celkem 18 sekundárních metabolitů (Brodo 1984, Tønsberg 1992, Hinteregger 1994, Lumbsch & Feige 1994, Elix et al. 1994). Podrobnější popis sekundárních metabolitů, jejich taxonomický význam a výskyt u jednotlivých druhů jsou popsány ve výsledcích.

1.8. Taxony publikované z ČR

(dle práce Liška & Palice (2010) včetně kategorií ohrožení)

| | |
|------------------------------------------------|-----------------------|
| <i>Lecanora allophana</i> Nyl. s. str. | EN (ohrožený) |
| <i>Lecanora argentata</i> (Ach.) Malme | NT (téměř ohrožený) |
| <i>Lecanora chlarotera</i> Nyl. | LC (neohrožený) |
| <i>Lecanora circumborealis</i> Brodo et Vítik. | EN (ohrožený) |
| <i>Lecanora glabrata</i> (Ach.) Malme | DD (nedostatek údajů) |
| <i>Lecanora horiza</i> (Ach.) Linds. | DD (nedostatek údajů) |
| <i>Lecanora impudens</i> Degel. | VU (zranitelný) |
| <i>Lecanora pulicaris</i> (Pers.) Ach. | LC (neohrožený) |
| <i>Lecanora rugosella</i> Zahlbr. | DD (nedostatek údajů) |
| <i>Lecanora subrugosa</i> Nyl. | DD (nedostatek údajů) |

2. MATERIÁL A METODIKA

2.1. Materiál

Vzhledem k obtížnosti určování vybrané skupiny jsou veškerá data založena pouze na revidovaných položkách. Ke studiu byly využity herbáře BRNM, BRNU, CBFS, GZU, HOMP, L, OLM, PL, PRA, PRC, PRM, W a soukromé herbáře F. Boudy (FB), J. P. Haldy (JPH), C. M. van

Herka (Herk), J. Kocourkové (JK), A. Müllera (AM), Z. Paliceho (ZP), O. Peksy (OP), M. Powella (MP), D. Svobody (DS) a L. Syrovátkové (LS). Vlastní sběry jsou uloženy v herbáři autora (JM). Z důvodu seznámení s morfológickou, anatomickou a chemickou variabilitou byly během studia hojně využívány také zahraniční položky (včetně dvou typových). Díky tomu byla prostudována většina evropských zástupců této skupiny.

V seznamu lokalit v příloze jsou uvedeny veškeré revidované sběry. Názvy lokalit jsou záměrně uváděny v původním znění na schedě. Každá lokalita je označena hvězdičkou (*). V případě některých starších či sporných názvů je v hranaté závorce uveden současný název lokality. Zmíněn je pouze rok sběru. V kulaté závorce za lokalitou uvádím číslo položky se zkratkou herbáře. Pokud daný herbář nemá evidenční čísla položek, dané sběry jsem čísloval následovně: „zkratka herbáře“/LS“pořadové číslo revize“ (např. PRC/LS06). Vzhledem k převažujícímu používání angličtiny v popisu lokalit jsou zde oblasti sběrů (státy, oblasti ČR) uvedené také anglicky. V členění České republiky jsou Čechy rozděleny na střední, severní, východní, jižní a západní. Morava se dělí pouze na severní, východní, jižní a západní. Slezsko je zahrnuto do severní Moravy. Umístění lokalit do těchto oblastí není zcela striktní, avšak snaží se následovat správní celky (kraje, okresy). Exsikáty jsou uvedeny zvlášť u každého taxonu.

2.2. Morfológické a anatomické studie, bodové reakce

Většina pozorování a měření byla prováděna na světelném mikroskopu Olympus CX-24. Toto zařízení bylo doplněno ručně vyrobeným polarizačním setem o sestavě dvou filtrů, z nichž jeden byl zabudován do okuláru a druhý byl pokládán na zdroj světla. Naprostá většina položek byla mikroskopována ve vodním preparátu, v případě rozlišování *allophana*- a *campestris*-typu amphithecia a kůry byl přidáván hydroxid draselný (K). U některých vzorků byla do preparátu přidávána asi 50% kyselina dusičná (N) kvůli pozorování rozpustnosti krystalků a barevné reakci epihymenia. K mikroskopické detekci pannarinu posloužil čerstvě namíchaný lihový nebo vodní roztok parafenyldiaminu (Pd). Makroskopické ověření atranorinu probíhalo aplikací 10% roztoku hydroxidu draselného (K) na okraj apothecia. Bodová reakce k zjištění přítomnosti kyseliny fumarprotocetrarové byla provedena pomocí parafenyldiaminu (Pd) na okraj několika zpravidla mladších apothecií, kde je reakce lépe patrná. Bližší informace k těmto základním technikám lze najít např. v pracích Brodo (1984), Wirth (1995) a Smith et al. (2009). V úvodní teoretické části zabývající se morfológií a anatomií jsou jako příklady uváděny také další středoevropské druhy, které v ČR nebyly nalezeny, avšak slouží zde jako názorný příklad popisovaného znaku.

2.3. Chemické analýzy

K chemickým analýzám byla rutinně využívána tenkovrstevná chromatografie (TLC) následující metodiku Culberson (1972) a Orange et al. (2001) s drobnými úpravami. Látky byly nanášeny vždy na sérii tří skleněných desek a ponořeny do solventů A, B' a C. Desky byly využity oboustranně, tudíž čelo vzlinajících roztoků dosahovalo 85 až 100 mm od počátku. V některých případech byly látky na desku nanášeny pouze z jedné strany. Jako standard byla použita dutohlávka *Cladonia symphycarpia* obsahující atranorin a kyselinu norstiktovou. Sekundární metabolity byly detekovány na čerstvých i starých vzorcích. Rozdíly mezi různým stářím materiálu nebyly pozorovány. Analýzy byly prováděny na pracovišti Katedry botaniky PřF UK a na lichenologickém pracovišti Karl-Franzens-Universität Graz. Hodnoty retenčních faktorů a další vlastnosti látek v tabulce jsou založeny na vlastních měřeních. Ke každé látce byl vypočítán průměrný retenční čas z více desek (zpravidla alespoň okolo 10 měření ke každé z látek). Pouze u některých ojediněle se vyskytujících metabolitů typu kyseliny plakodiolové či 4-0-dechlorgangaleoidinu je výsledný čas založen na menším počtu dat (cca 5 měření). U *expersa*-unknown chybí z důvodu nedostatečného množství materiálu pro srovnání dva retenční faktory. Pro každou průměrnou hodnotu byla navíc udělena korekce dle polohy atranorinu, která byla vypočítána na základě cca 100 měření. Jednotlivé retenční časy na TLC deskách jsou velice variabilní. Hodnoty většinou kolísají plus minus 10 jednotek (neboli %) u většiny látek, a to včetně standardů. Výsledný retenční čas ovlivňuje řada faktorů, např. aktuální tlak a teplota, stáří namíchaných solventů, vlhkost ve vyvíjecích nádobách a zřejmě také množství nanášené látky a výrobci chromatografických desek. V některých případech se dokonce nápadně liší poloha určité látky vůči atranorinu. Také výsledná barva látky na denním světle může být mírně variabilní v závislosti na koncentraci daného metabolitu ve vzorku a způsobu aplikace kyseliny a následném zahřívání. V mnohých případech je zavádějící také mastný charakter látky, který ve vysokých koncentracích mívá alespoň částečně velká část sekundárních metabolitů. Takové případy jsem se snažil alespoň z části odfiltrovat.

Kapalinová chromatografie byla prováděna pouze na deseti vybraných vzorcích a následovala metodiku Feige et al. (1993). Drobná část lišejníku byla extrahována v 0,5 ml acetonu. Z důvodu připojení hmotnostního spektrometru nebyly použity standardy, které zvláště v případě kyseliny benzoové zánáší snímač tohoto přístroje. Analýzy byly provedeny na pracovišti Mikrobiologického ústavu AV ČR v Třeboni.

2.4. Molekulární analýzy

DNA bylo získáváno ze vzorků jeden až čtyři roky starých. Vždy byl odebrán kousek stélky s více plodnicemi (3 až 10 apothecií). Zvláštní důraz byl kladen na odebrání vzorku nenapadeného lichenikolními houbami. Izolace byla provedena pomocí kitu Nucleo Spin Plant II (Macherey

Nagel) dle přiloženého protokolu. Pro rekonstrukci fylogeneze byl použit gen ITS rDNA. Vzorky na PCR reakci (20 µl) obsahovaly 14 µl vody, 4 µl MyTaq pufru, 0,4 µl primerů ITS 1F (Gardes & Bruns 1993) i ITS 4 (White et al. 1990), 0,2 µl Mytaq polymerázy a 1 µl templátové DNA. Amplifikace byla provedena v termocykleru Mastercycler Gradient (Eppendorf) s následujícími parametry: počáteční denaturace 1 min při 95 °C (1×); 30 s při 95 °C, 1 min při 54 °C a 1 min při 72 °C (vše 35×) a závěrečná elongace 15 min při 72 °C. Optimalizace PCR zahrnovala také teplotní gradient annealingu v rozmezí 52 a ž 58 °C s přidavkem hořčíku u některých vzorků. Žádné významné zlepšení oproti výše zmíněnému postupu však nebylo pozorováno. Délka, kvalita a kvantita produktů byla zkontrolována na 0,8 % agarózovém gelu s ethidium bromidem. Čištění vzorků pro závěrečnou sekvenci jsem provedl pomocí kitu GenElute PCR Clean-Up Kit (Sigma) dle přiloženého návodu. Veškeré práce probíhaly v molekulární laboratoři katedry botaniky PřF UK Praha.

| taxon | číslo z GenBanku (resp. původ položky) |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------|
| <i>Lecanora allophana</i> 1 | AF070031 |
| <i>Lecanora allophana</i> 2 | AF159939 |
| <i>Lecanora allophana</i> 3 | AF070014 |
| <i>Lecanora argentata</i> 1 | CZ_Novohradské hory (JM 1963) |
| <i>Lecanora argentata</i> 2 | CZ_jižní Čechy (FB) |
| <i>Lecanora argentata</i> 3 | CZ_Šumava (JM 1012) |
| <i>Lecanora argentata</i> f. <i>subrugosa</i> 1 | AY398711 |
| <i>Lecanora argentata</i> f. <i>subrugosa</i> 2 | CZ_Šumava (JM 2764) |
| <i>Lecanora argentata</i> f. <i>subrugosa</i> 3 | CZ_Chřiby (JM 2571) |
| <i>Lecanora campestris</i> | AF159930 |
| <i>Lecanora cenisia</i> 1 | EU558541 |
| <i>Lecanora cenisia</i> 2 | EU558540 |
| <i>Lecanora epibryon</i> | AY541251 |
| <i>Lecanora horiza</i> | AY541252 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 1 | FR799203 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 2 | FR799206 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 3 | FR799201 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 4 | FR799205 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 5 | FR799202 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> 6 | FR799204 |
| <i>Lecanora chlarotera</i> f. <i>rugosella</i> | AY398712 |
| <i>Lecanora pulicaris</i> | AF101274 |
| <i>Lecanora rupicola</i> | DQ451666 |

Tab. 5. Sekvence ITS rDNA včetně přístupových čísel z databáze GenBank použité ve fylogenetické analýze.

Pro rekonstrukci fylogeneze bylo použito 23 sekvencí – 5 vlastních, 16 získaných z databáze GenBank a jeden outgroup. K zakořenění stromu byl využit taxon *Lecanora rupicola*, který je dle několika fylogenetických prací (Arup & Grube 2000, Grube et al. 2004, Rodrigues et al. 2011)

blízce příbuzný studované skupině. Sekvence z databáze GenBank zahrnují veškeré dostupné epifytické i saxikolní zástupce skupiny *Lecanora subfusca* vyskytující se na území střední Evropy s výjimkou *L. hybocarpa*, jejíž sekvence (DQ782849) ve skutečnosti náleží s největší pravděpodobností lichenikolní houbě z řádu Hypocreales. Nově získané sekvence byly zkontrolovány v programu SeqAssem (verze 09/2004). Základní alignment byl vytvořen v programu Mega 5.10 pomocí algoritmu Muscle a následně upraven v programu Gblocks verze 0.91b (Talavera & Castresana 2007) s nastavením nejméně stringetních podmínek. Z celkového počtu 642 pozic bylo pro tvorbu fylogenetického stromu využito 488 pozic (76 %). V programu Mega 5.10 byl vybrán dvouparametrový Kimura model („K2+I“) s předpokladem, že jisté části sekvencí jsou evolučně nevariabilní (Kimura 1980). Výsledný strom byl vytvořen též v programu Mega 5.10 pomocí metody „Maximum Likelihood“ (Tamura et al. 2011) s 550 replikacemi. Pro srovnání byl vytvořen také strom pomocí metody „Minimum Evolution“ (Rzhetsky & Nei 1992) s 550 replikacemi a využitím dvouparametrického Kimurova modelu, který se s použitým stromem shodoval ve všech pozicích, avšak měl nižší bootstrapové podpory.

2.5. Statistické vyhodnocení

Analýzy byly prováděny v programu R 2.9.2. pomocí aplikace R Commander. K hodnocení preference nadmořských výšek a pH borky byla použita pouze údaje od druhů *L. argentata*, *L. chlarotera* a *L. pulicaris*. U ostatních taxonů nebyl dostatek dat. Pouze v grafu na obr. 10 je navíc orientačně znázorněn také druh *L. allophana*. Pro grafické znázornění rozdílů mezi jednotlivými druhy jsem využil krabicové a bodové grafy. Normalita dat (resp. reziduí) byla ověřena pomocí Shapiro-Wilkova testu (Shapiro & Wilk 1965). Kvůli porušení normality dat jsem použil neparametrický Wilcoxonův test. K vlastnímu testování preferencí nadmořských výšek a pH borky byl využit negativní binomický lineární model (Haldane 1945) s interakcí, který nejlépe odpovídá charakteru dat. Pro test preference nadmořské výšky byl vypočten disperzní parametr testu $\theta = 7,7517$, pro preference pH substrátu $\theta = 676$. Interakce mezi nadmořskou výškou a pH substrátu byla dále prověřována pomocí modelu lineární regrese.

Pro srovnání preferencí pH borky dřevin byly využity průměrné hodnoty získané z několika literárních zdrojů, které se týkají kůry neovlivněné vnějšími faktory měnicími její vlastnosti, jako např. kyselá deště, eutrofizace, apod. Tento postup sice není zcela ideální, avšak varianta měření pH borky u každého zkoumaného vzorku nepřipadala v úvahu, protože by došlo k poškození herbářových položek. Navíc není jisté, zda-li se pH kůry u starých sběrů nemohlo během

| dřevina | rozmezí pH | literatura | průměr | kategorie |
|-------------------------------|---------------------|------------------------|-------------|--------------|
| <i>Acer platanoides</i> | 5,4-5,6 | Bibinger 1967 | 5,75 | subneutrální |
| | 4,9-7,0 (7,5) | Wirth 1995 | | |
| <i>Acer pseudoplatanus</i> | 6,1-6,9 | Barkman 1958 | 6,1 | subneutrální |
| | 4,3-7,5 | Müller 1981 | | |
| | 4,9-7,0 (7,5) | Wirth 1995 | | |
| <i>Aesculus hippocastanum</i> | (4,6) 6,0-6,1 (6,6) | Barkman 1958 | 6 | subneutrální |
| <i>Alnus</i> sp. | 4,1-4,8 | Wirth 1995 | 4,5 | kyselé |
| | 4,2-5,0 | Barkman 1958 | | |
| <i>Betula pendula</i> | 3,0-6,9 | Müller 1981 | 4,3 | kyselé |
| | 3,4-4,0 | Wirth 1995 | | |
| <i>Carpinus betulus</i> | 4,6 | Barkman 1958 | 4,6 | kyselé |
| <i>Crataegus</i> sp. | 3,8 | Barkman 1958 | 3,8 | velmi kyselé |
| <i>Fagus sylvatica</i> | 4,6-5,8 | Müller 1981 | 5,3 | mírně kyselé |
| | 5,1-5,8 | Barkman 1958 | | |
| | 4,9-5,6 | Wirth 1995 | | |
| <i>Fraxinus excelsior</i> | 5,2-5,8 (6,8) | Barkman 1958 | 5,3 | mírně kyselé |
| | 5,1 | Bates & Brown 1981 | | |
| | 4,9-5,6 | Wirth 1995 | | |
| <i>Larix decidua</i> | 3,0-3,2 | Müller 1981 | 3,1 | velmi kyselé |
| <i>Malus domestica</i> | 4,9-5,3 | Müller 1981 | 5,2 | mírně kyselé |
| | 4,9-5,6 | Wirth 1995 | | |
| <i>Picea abies</i> | 2,8-3,3 (4,2) | Müller 1981 | 3,65 | velmi kyselé |
| | 3,8-4,5 | Barkman 1958 | | |
| | 3,4-4,0 | Wirth 1995 | | |
| <i>Pinus sylvestris</i> | 2,9-3,6 | Müller 1981 | 3,4 | velmi kyselé |
| | 3,4-3,8 (4,3) | Barkman 1958 | | |
| | 3 | Marmor & Randlane 2007 | | |
| | 3,4-4,0 | Wirth 1995 | | |
| <i>Populus</i> sp. | 4,9-7,0 (7,5) | Wirth 1995 | 6,4 | subneutrální |
| | 6,9-7,3 | Barkman 1958 | | |
| | 5,0-7,3 | Barkman 1958 | | |
| <i>Populus tremula</i> | 3,9-7,9 | Barkman 1958 | 5,9 | subneutrální |
| <i>Prunus avium</i> | 3,7-4,5 | Müller 1981 | 4,1 | kyselé |
| <i>Prunus padus</i> | 4,9-5,1 | Barkman 1958 | 5 | mírně kyselé |
| <i>Pyrus communis</i> | 4,3 | Müller 1981 | 4,55 | kyselé |
| | 4,8 | Barkman 1958 | | |
| <i>Quercus</i> sp. | 4,1-4,8 | Wirth 1995 | 4,5 | kyselé |
| | 4,7 | Bates & Brown 1981 | | |
| | 3,7-5,0 | Barkman 1958 | | |
| <i>Robinia pseudacacia</i> | 4,8-5,0 | Bibinger 1967 | 4,9 | mírně kyselé |
| <i>Sambucus nigra</i> | 5,3-7,0 | Barkman 1958 | 6,25 | subneutrální |
| | 5,7-7,0 | Wirth 1995 | | |
| <i>Sorbus aucuparia</i> | 4,6-5,2 | Barkman 1958 | 4,9 | mírně kyselé |
| <i>Tilia</i> sp. | 4,8-6,2 | Barkman 1958 | 5,1 | mírně kyselé |
| | 4,0-5,0 | Marmor & Randlane 2007 | | |
| | 4,9-5,6 | Wirth 1995 | | |
| <i>Ulmus glabra</i> | (4,1) 5,4-9,5 | Müller 1981 | 6,7 | subneutrální |

Tab. 6. Přehled dřevin a jejich pH borky dle uvedených literárních zdrojů.*

* Citace práce Müller (1981) se nepodařila blíže dohledat. Jedná se o hodnoty převzaté ze souhrnné výukové tabulky z lichenologického pracoviště v Grazu.

skladování změnit např. vlivem způsobu péče o herbář. Nevýhodou použité metodiky je opomenutí významného vlivu mnoha faktorů na konečné pH borky. Konkrétně se jedná především o acidifikaci substrátu kyselými dešti (např. Johnsen & Søchting 1973), změnou pH vlivem dopravy (Marmor & Randlane 2007, Frahm & Erler 2009), způsobu využití krajiny (Hauck et al. 2012) a s tím spojenou eutrofizací prostředí (van Herk 2001), kde klíčovou roli hraje také plošný spad dusíku (van Herk et al. 2003), změny vlastností borky a dostupnosti živin při různém stáří stromu i na různých místech kmene, zdravotní stav stromu (Fritz et al. 2009) atd. Gauslaa (1985) dokonce zjistil významné rozdíly v pH borky stromů stejného druhu v rámci jediného lesního porostu. Vyhodnocení preferencí různého pH kůry dřevin jsem provedl pouze u tří druhů, kde jsem měl k dispozici dostatek položek. Odchytky způsobené místní změnou pH borky by proto měly být v takto rozsáhlém datovém souboru ve výsledku nevýznamné. Historické a recentní sběry dělím v tomto případě rokem 1970, kdy v ČR vrcholily kyselé deště, a tudíž probíhala nejintenzivnější acidifikace substrátů.

2.6. Mapy rozšíření

Mapy rozšíření jednotlivých druhů byly vytvořeny v programu ArcGIS. Současné lokality po roce 1990 včetně jsou vyznačeny černým kolečkem, historické lokality do r. 1990 bílým trojúhelníčkem. Rok 1990 byl jako hraniční zvolen především z následujících tří důvodů: (1) jedná se o období po odeznění rozsáhlých kyselých dešťů, které v ČR vrcholily na přelomu 70. a 80. let a měly obrovský dopad na změny v rozšíření většiny epifytických lišejníků; (2) po roce 1990 se víceméně stabilizuje systém obhospodařování krajiny, který je poněkud odlišný nežli v předchozích dobách socialismu a (3) je vysoká pravděpodobnost, že lišejník zaznamenaný na lokalitě po roce 1990 tam roste i nyní, tudíž lze lokalitu považovat za stále recentní.

3. VÝSLEDKY

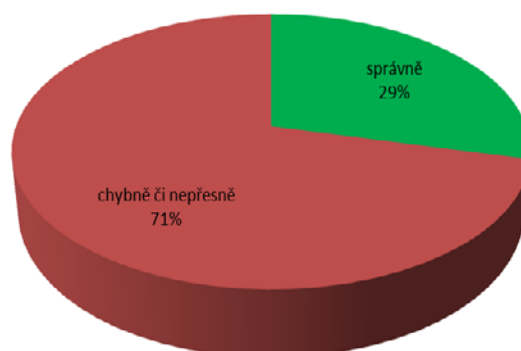
3.1. Problematika určování druhů

Skupina *Lecanora subfusca* je všeobecně považována za komplikovanou a určování jednotlivých taxonů činí většině lichenologů potíže. Bez využití polarizovaného světla a chemických znaků je determinace některých druhů náročná i pro specialistu. Asi největší komplikací u studované skupiny je značná morfologická a v menší míře i chemická variabilita v podstatě všech druhů. Pozorování některých znaků také vyžaduje určitou zkušenost. Navíc je většina určovacích klíčů založena na nevhodných znacích. V některých se dokonce tradují mylné skutečnosti. Opakovanou chybou je úplné opomíjení poměrně častého chemotypu *L. pulicaris* bez kyseliny

fumarprotocetrarové (Hinteregger 1994: 167, Wirth 1995: 462, I báñez & Burgaz 1998: 46, Edwards et al. 2009: 470), zcela nepodložené je rozlišování druhů dle barvy stélky (Edwards et al. 2009: 470) a disků (Poelt & Vězda 1981: 186, Hinteregger 1994: 167, Ryan et al. 2004: 186). Další nesrovnalostí je chybně popsaná barva epihymenia (Poelt & Vězda 1981: 185). Velmi nelogicky jsou v určovacím klíči rodu *Lecanora* (Ryan et al. 2004: 186) zařazeny druhy *L. allophana* a *L. horiza*. Na *L. allophana* zde chybně odkazují znaky „přítomnost v KOH rozpouštějících se epihymeniálních granulek a obsah kyseliny usnové nebo isousnové“. Na téže straně je *L. horiza* řazena k taxonům s kladnou reakcí s parafenyldiaminem, zatímco u druhů bez Pd reakce chybí. Kvůli přítomnosti atranorinu se sice může stélka zbarvovat Pd⁺ světle žlutě, nicméně zařazení tohoto znaku jakožto hlavního v určovacím klíči není přijatelné, zvláště když podobná *L. allophana* taktéž obsahující atranorin je přiřčena k druhům bez Pd reakce. Za zavádějící také považuji rozlišování celých skupin druhů na základě charakteru kůry (Poelt & Vězda 1981: 185), jejíž vlastnosti a tloušťka mohou být proměnlivé a často jen obtížně pozorovatelné. K určování zástupců skupiny lze doporučit monografii severoamerických druhů (Brodo 1984), která je velmi dobře použitelná i ve středoevropských podmínkách.

Při revizi českých herbářů bylo 71 % položek určeno chybně nebo pouze v širokém pojetí (jako skupina či rod). Z tohoto důvodu nelze využít prakticky žádné literární údaje o výskytu *L. subfusca* agg. v ČR. Několik desítek sběrů se nepodařilo s jistotou determinovat, tudíž nejsou zařazeny v této studii. V naprosté většině případů se jednalo o špatně a netypicky vyvinuté exempláře nebo jinak degradované položky (roztoči, plíseň).

Správnost determinace revidovaných položek



3.2. Teorie extrémních forem

Jak zmiňuje předchozí kapitola, velkým problémem v taxonomii skupiny *L. subfusca* je značná variabilita jednotlivých druhů, a to zvláště v morfologických znacích plodnic. Převážně na základě odlišné morfologie apothecií byl od *L. argentata* odlišen taxon *L. subrugosa* a od *L. chlarotera* taxon *L. rugosella*. Toto pojetí alespoň v jednom případě akceptuje řada prací (např. Poelt & Vězda 1981, Wirth 1995, Thomson 1997, Juriado 1998, Diederich & Sérusiaux 2000, Ryan et al. 2004, Santesson et al. 2004, Liška & Palice 2010, Roux 2012) včetně monografu severoamerických druhů I. M. Brodoa (Brodo 1984). Není vyloučeno, že na území Severní Ameriky se skutečně jedná o odlišné a dobře vymezené taxony. V případě *L. subrugosa* tomu odpovídají i chemické znaky (cf. Brodo 1984, Ryan et al. 2004).

Na území střední Evropy jednoznačně považují taxony *L. subrugosa* a *L. rugosella* za extrémní formy od výše zmíněných sesterských druhů a uvádím je proto v synonymice. Opakovaně jsem v terénu pozoroval ekologicky podmíněnou tvorbu těchto morfotypů a zpravidla se na lokalitě vyskytovaly v doprovodu normálních forem s častými přechodnými typy. Mimo již zmíněné *L. argentata* a *L. chlarotera* byly extrémní formy pozorovány také u druhů *L. glabrata* a *L. pulicaris*. Tento případ je relativně častý – byl zaznamenán u mnoha desítek revidovaných položek, nejčastěji pak u druhu *L. argentata*. Zmíněné morfologické odchylky jsou podmíněny zvýšeným množstvím dostupných živin na stanovišti. Genetické příčiny zřejmě nehrajou žádnou roli. Vyskytují se na dřevinách se subneutrální borkou, na odumírajících stromech či tlející odlupující se kůře a na prašných či jinak eutrofizovaných místech (zvláště podél silnic a v blízkosti polí). Extrémní formy se vyznačují souborem následujících znaků:

- a) stélka silná, hrubá a bradavičnatá
- b) apothecia nápadně velká, zpravidla 1–2 (3) mm v průměru
- c) báze apothecií zúžená
- d) okraj silný, hrubý, nápadně vroubkovaný až bradavičnatý, většinou zprohýbaný
- e) spóry mírně větší než u normálních forem, zpravidla silnostěnné (více než 1 μm), v některých případech spóry nejsou vyvinuty

3.3. TLC analýzy

Dle zjištěných výsledků z tenkovrstevné chromatografie (TLC) mohou být chemické znaky velmi nápomocné při určování jednotlivých taxonů, v některých případech je jejich využití dokonce nezbytné. Většina z nich je omezena na jediný druh nebo skupinu druhů. U českých zástupců skupiny *L. subfusca* bylo zjištěno celkem 18 sekundárních metabolitů (počítáme-li okruhy neznámých terpenoidů jako jeden). Následujících pět látek nezmiňuje žádná literatura a s největší pravděpodobností jsou zcela nové: *allophana*-unknown 3, *campestris*-unknown 2, *chlarotera*-unknown a *glabrata*-unknowns 1 & 2. Blíže charakterizován je komplex látek označovaných jako *grantii*-unknowns, kde byly v nižších koncentracích zaznamenány další čtyři neznámé terpenoidy (neuváděné Brodoem 1984) z tohoto komplexu. U *L. chlarotera* je poprvé zaznamenán 4-0-dechlorgangaleoidin. Na TLC deskách se objevuje navíc řada dalších látek, které nejsou pro chemotaxonomii významné. Typicky se jedná o terpenoidy z borky dřevin nebo o fotosyntetické pigmenty. Zvláště v případě terpenoidů z kůry není vždy jednoznačné jejich odlišení od lišejníkových metabolitů, proto se doporučuje testovat zvlášť také kůru (Tønsberg 1992). Na terpenoidy bývá zvláště bohatá borka jedlí, ořešáků, olší a pěnišníků. Nezřídka se objevují další látky neznámého původu, které jsou zpravidla pouze kontaminanty, ale může se jednat také o vzácně se vyskytující deriváty hlavních látek. Jejich rozpoznání v mnohých případech vyžaduje

značnou zkušenost s TLC metodami. Na následujících třech stranách je uveden přehled látek vyskytujících se u *L. subfusca* agg.

Vyšší mastné kyseliny

kyselina roccellová: Hojně přítomná mastná kyselina u druhů s velkými krystaly v amphitheciu. Často se vyskytuje pouze v malém množství a je proto těžké ji identifikovat. Z českých taxonů se vyskytuje u *L. pulicaris*, *L. argentata*, *L. chlarotera*, *L. expersa* a *L. cinereofusca* (ačkoli u jediného českého sběru *L. cinereofusca* nebyla nalezena).

expersa-unknown: Neznámá mastná kyselina vyskytující se u *L. expersa*. Dle Hintereggerové (1994) se častěji vyskytuje samostatně s atranorinem, ale některé položky obsahují navíc také kyselinu roccellovou. U českého sběru byly taktéž zaznamenány obě mastné kyseliny. Bez srovnávacího materiálu nemusí být rozlišení těchto látek vždy jednoznačné. Hintereggerová (1994) uvádí polohu *expersa-unknown* A4–5, B5 a C5–6. Dle mých pozorování se tato látka objevuje o něco výše (A5–6, B6, C5–6).

β-orcinol depsidy

atranorin: Je vždy přítomný u všech zástupců skupiny. U lišejníků se jedná o jednu z nejčastěji se vyskytujících látek vůbec. Produkce atranorinu patří ke znakům vymezujícím skupinu *Lecanora subfusca*. Kvůli této substanci reaguje stélka s K⁺ žlutě. Atranorin se koncentruje především v kůře a s největší pravděpodobností chrání lišejník před herbivory.

chloratranorin: Vyskytuje se pouze v přítomnosti atranorinu a s největší pravděpodobností je konstatně přítomný u všech druhů známých z ČR. Chloratranorin lze pomocí TLC odlišit od atranorinu jen v řídce využívaném systému H (Tønsberg 1992), v kterém jsem během této studie nepracoval. Orientační výsledky HPLC analýz však povrdily hojné zastoupení této látky u všech analyzovaných položek.

Orcinol depsidony

gangaleoidin: Látka přítomná u většiny položek druhu *L. argentata* a přibližně u poloviny sběrů *L. chlarotera*. Vyskytuje se také u některých dalších zástupců rodu *Lecanora* včetně saxikolních druhů, častěji pouze u skupiny *L. subfusca*. Je to látka blízké příbuzná norgangaleoidinu a 4-0-dechlorgangaleoidinu, s nimiž se zpravidla vyskytuje. Guderley (1999) uvádí jako součást chemosyndromu „gangaleoidin“ také látku leoidin. V evropských položkách tento metabolit zřejmě chybí nebo nebyl spolehlivě detekován.

norgangaleoidin („californin“): Látka vyskytující se jako doprovodná ke gangaleoidinu. Pravděpodobně je obsažena ve všech položkách s gangaleoidinem, avšak často jen v nízkých koncentracích, které nelze pomocí TLC zaznamenat. Zjištěna byla u 75 % vzorků obsahujících gangaleoidin, mnohdy však jen ve stopových množstvích. Norgangaleoidin lze od gangaleoidinu odlišit pouze v B⁺ roztoku nebo pomocí HPLC.

4-0-dechlorgangaleoidin: Akcesorická látka doprovázející gangaleoidin, která je známa z *L. argentata* a amerického taxonu *L. californica* (Elix et al. 1994, Lumbsch & Feige 1996). Během této studie byla zjištěna také ve stopovém množství u jedné položky *L. chlarotera* (JM 3096). Na TLC deskách se objevuje jen ojedinele jako světlá žlutavá skvrna ve vzorcích s vysokými koncentracemi gangaleoidinu i norgangaleoidinu. Pro detekci tohoto sekundárního metabolitu se pravděpodobně více hodí HPLC.

β-orcinol depsidony

kyselina fumarprotocetrarová: Stélkovými reakcemi lze tuto kyselinu dobře rozpoznat dle Pd⁺ červené reakce okraje apothecií, popř. i stélky. Vyskytuje se pouze u druhu *Lecanora pulicaris*, přibližně u 75 % stélek. U lišejníků je poměrně běžně se vyskytující látkou u různých rodů. Zvláště častá je např. u dutohlávek (*Cladonia*). HPLC analýzy a důkladné prověřování přítomnosti kys. fumarprotocetrarové nepotvrzují myšlenku Brodoa (1984), že je tato látka u *L. pulicaris* konstantní. Může se však vyskytovat v nízkých koncentracích a Pd reakce tak bývá jen slabě patrná. Absenci kys. fumarprotocetrarové u některých populacích poznamenávají také Lumbsch & Feige (1994).

kyselina protocetrarová: Tuto látku uvádějí u jedné německé položky *L. pulicaris* Lumbsch & Feige (1994). Během vlastních analýz nebyla zaznamenána.

kyselina confumarprotocetrarová: Látka ojedinele doprovázející kys. fumarprotocetrarovou. V rámci analyzovaných položek byla nalezena pouze dvakrát (JM 547, JM 662). Patrně zcela bez taxonomického významu. Z druhu *L. pulicaris* ji uvádějí pouze Lumbsch & Feige (1994) a Ryan et al. (2004).

pannarin: Látka charakterizující druh *L. cinereofusca*, kde se vyskytuje především v epihymeniu. Dále je známá také z druhu *L. insignis*. Objevuje se u řady dalších lišejníků, z příbuzných taxonů např. u *L. subaurea* a *L. dispersa*. Spolehlivě ji lze detekovat aplikací Pd, s kterým epihymenium reaguje oranžově až červeně za tvorby shluků krystalků viditelných ve světelném mikroskopu. Při TLC se překrývá s atranorinem. Odlišit ji lze v roztoku B⁺.

Látky z okruhu kyseliny usnové

kyselina plakodiolová: Vzácněji se u lišejníků vyskytující dibenzofuran metabolicky blízký kyselině usnové (Huneck & Yoshimura 1996). Běžně se vyskytující látka u *L. cinereofusca*. Není detekovatelný pomocí běžných reagentů (Brodo 1984), avšak dobře určitelný pomocí TLC. Zaznamenán u všech testovaných položek druhu *L. cinereofusca*.

Terpenoidy

allophana-unknowns: Soubor tří terpenoidů charakteristický pro evropské populace druhu *L. allophana*. Vzácně u tohoto taxonu chybí nebo se vyskytují pouze v nízké koncentraci. *Allophana-unknowns* 1 & 2 byly oba společně přítomné u většiny testovaných vzorků. *Allophana-unknown* 3 je doprovodný terpenoid, který bývá na TLC deskách patrný pouze jako nevýrazná skvrna, kterou v případě nižší koncentrace není možné rozpoznat. První dvě zmíněné látky jako jediný zaznamenal Tønsberg (1992) jakožto diagnostické substance u *L. allophana* f. *sorediata*. Třetí terpenoid je popsán poprvé zde. *Allophana-unknown* 3 není možné odlišit v solventu C. Zřejmě se zde překrývá s *allophana-unknown* 2.

campestris-unknowns: *Campestris-unknown* 1 je majoritní látkou charakteristickou pro saxikolní *L. campestris*. Jako doprovodná se může vyskytovat také u *L. horiza*. Převážně v jižní Evropě byl zjištěn chemotyp druhu *L. glabrata* a hlavní látkou *campestris-unknown* 1. U více položek je tento terpenoid doprovázen látkou *campestris-unknown* 2, která je zpravidla produkována jen v nižších koncentracích. V položkách s vyššími koncentracemi obou látek byl ojediněle zjištěn další doprovodný terpenoid, který je s největší pravděpodobností součástí okruhu terpenoidů *campestris-unknowns*.

chlarotera-unknown: Látka charakterizující druh *L. chlarotera*, která se pravděpodobně vyskytuje také u většiny (a možná i všech) taxonů s *chlarotera*-typem epihymenia. V lišejníku je tento metabolit přítomný zřejmě pouze v podobě hrubých hnědých epihymeniálních granulek v apotheciích. Poloha *chlarotera-unknown* na TLC deskách je poměrně variabilní. Vyskytuje se v okolí atranorinu, který zpravidla překrývá a zbarvuje růžově. Pouze v solventu B se většinou vyskytuje kousek nad atranorinem. Není jasné, zda-li *chlarotera-unknown* skutečně patří mezi terpenoidy. Dle vlastností na TLC deskách přichází v úvahu také okruh látek kyseliny usnové. Granulky látky *chlarotera-unknown* zřejmě chrání hymenium před herbivory (více v poznámce u druhu *L. chlarotera*).

glabrata-unknowns: Tyto dva doposud neznámé terpenoidy jsou unikátní pro středoevropské populace druhu *L. glabrata*. Pravděpodobně bude tento chemotyp běžněji rozšířený i v jiných

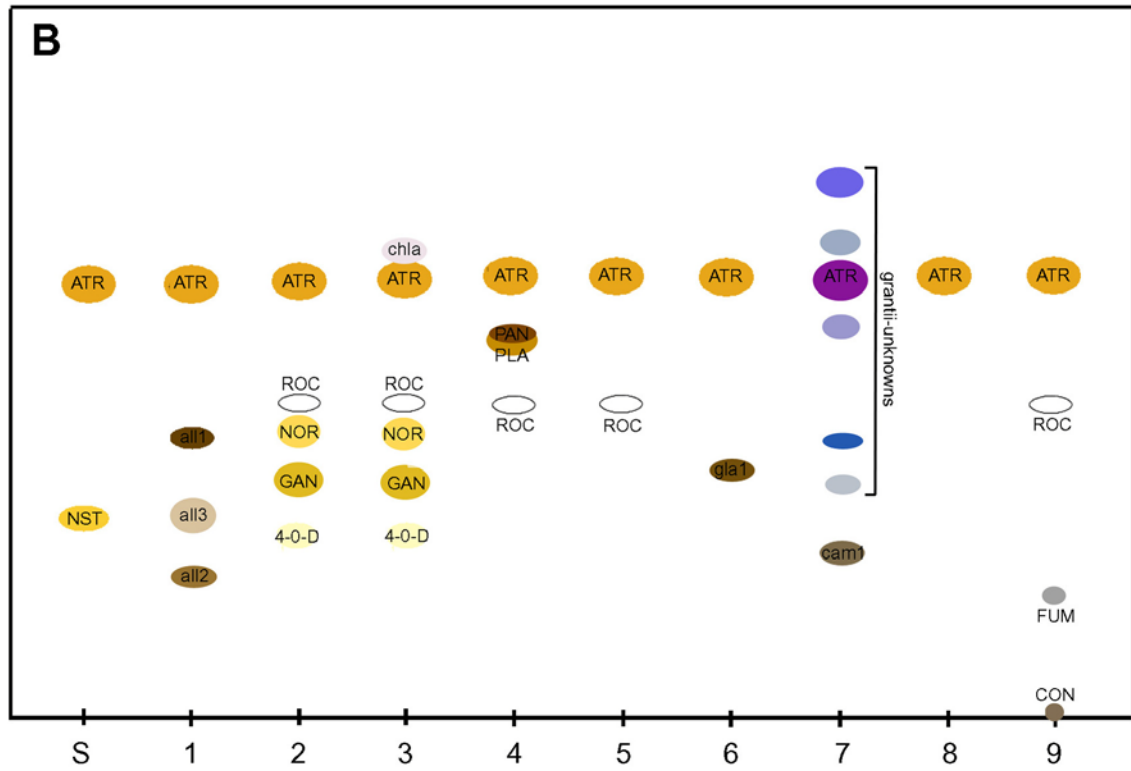
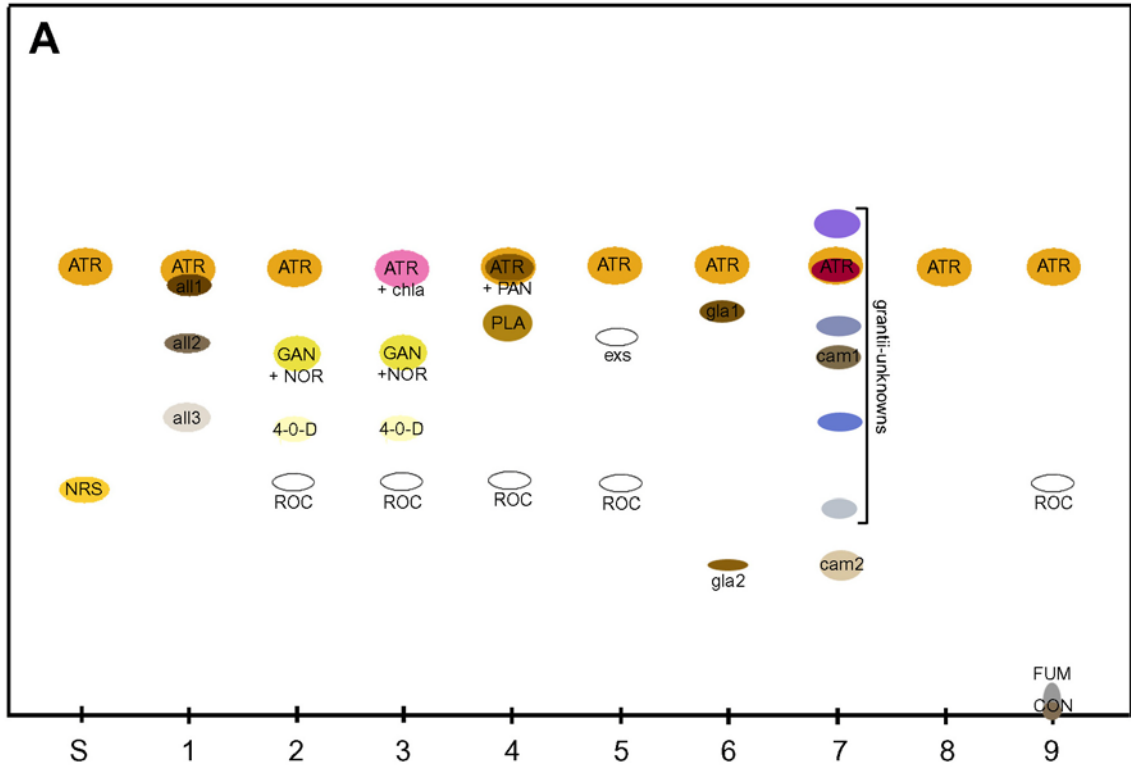
evropských či mimoevropských populacích. *Glabrata*-unknown 2 se často vyskytuje pouze v nižších koncentracích, proto může na TLC deskách nezřídka chybět nebo se objevovat pouze ve stopovém množství. V solventu B navíc není patrná, protože se nejspíše překrývá s *glabrata*-unknown 1.

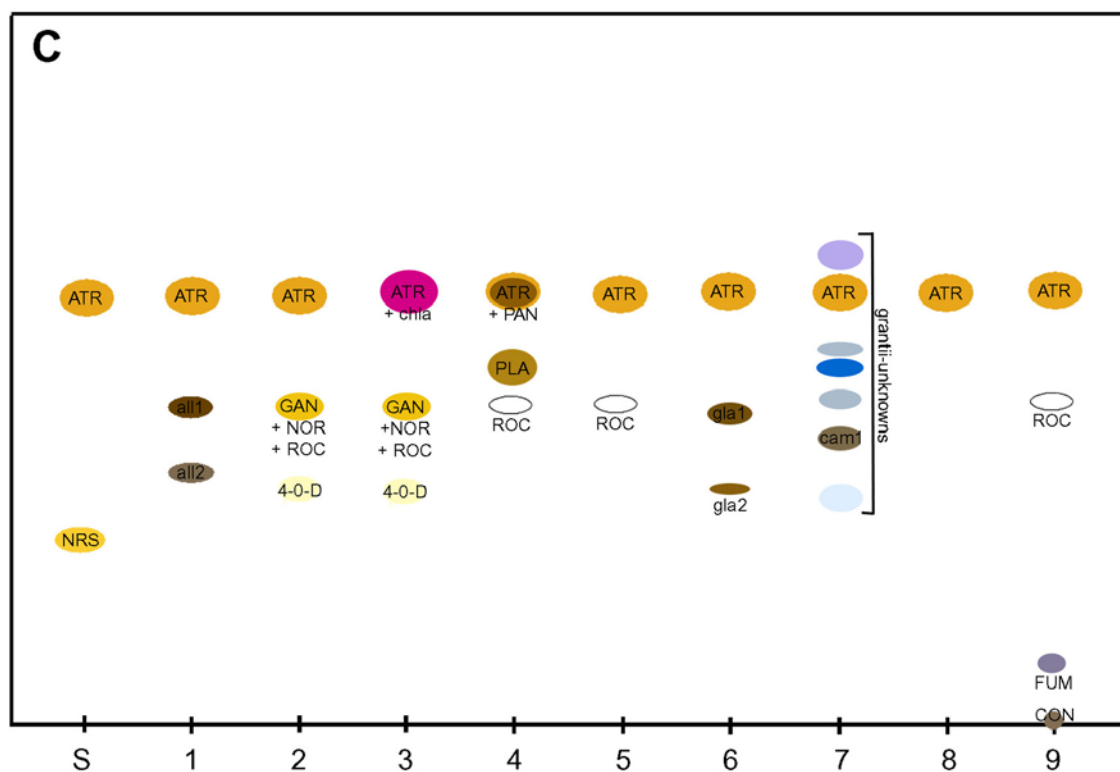
grantii-unknowns: Koplex asi šesti terpenoidů přítomných ve velkých koncentracích u severoamerického taxonu *L. grantii*. V Evropě jsou charakteristické pro druh *L. horiza*. V nízkých koncentracích se objevují také u blízce příbuzné *L. campestris*. Tyto terpenoidy jsou nezaměnitelné díky své modré barvě na TLC deskách. V případě překryvu s atranorinem jej zbarvují dorůžova. Během této studie se nedopadlo odlišit a charakterizovat jednotlivé látky z tohoto komplexu. Dva až tři terpenoidy se vyskytují ve větších množstvích jakožto majoritní, zbylé většinou nejsou na deskách patrné nebo se objevují pouze ve stopových množstvích. Zdá se, že výskyt hlavních terpenoidů není stálý, tzn. ne vždy jsou v položkách zastoupeny ty samé majoritní látky. K vyřešení této problematiky by byl zapotřebí bohatý materiál s vysokými koncentracemi *grantii*-unknowns, který je ve středoevropských herbářích všeobecně méně zastoupený. Brodo (1984) uvádí *grantii*-unknowns 1 & 2 jako charakteristické pro severoamerické populace druhů *L. allophana* a *L. grantii*. U evropských položek *L. allophana* nebyly tyto terpenoidy prozatím prokázány.

impudens-unknowns: Dle Tønserga (1992) diagnostická substance u *L. impudens*. U středoevropského materiálu *L. impudens* byl zjištěn pouze samotný atranorin.

| | atranorin | chloratranorin | roccelic acid | expersa-unknown | gangaleoidin | norgangaleoidin | 4-0-dechlorogangaleoidin | pannarin | fumarprotocetraric acid | confumarprotocetraric a. | placodilic acid | allophana-unknown 1 | allophana-unknown 2 | allophana-unknown 3 | campestris-unknown 1 | campestris-unknown 2 | chlorotera-unknown | glabrata-unknown 1 | glabrata-unknown 2 | grantii-unknowns | additional terpenoids | |
|-------------------------------|-----------|----------------|---------------|-----------------|--------------|-----------------|--------------------------|----------|-------------------------|--------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|-----------------------|----|
| <i>Lecanora allophana</i> | + | + | | | | | | | | | | + | + | ± | | | | | | | | tr |
| <i>Lecanora argentata</i> | + | + | r | | + | ± | tr | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Lecanora chlorotera</i> | + | + | ± | | ± | ± | tr | | | | | | | | | | + | | | | | |
| <i>Lecanora cinereo fusca</i> | + | + | r | | | | | + | | | + | | | | | | | | | | | |
| <i>Lecanora expersa</i> | + | + | ± | ± | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Lecanora glabrata</i> | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | + | ± | | tr |
| <i>Lecanora horiza</i> | + | + | | | | | | | | | | | | | tr | r | | | | | | + |
| <i>Lecanora impudens</i> | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Lecanora pulicaris</i> | + | + | ± | | | | | ± | r | | | | | | | | | | | | | |

Tab. 7. Přehled látek zjištěných u jednotlivých taxonů: výskyt u naprosté většiny položek značí „+“, častý výskyt „±“, vzácný výskyt „r“ a převážně stopové množství látky „tr“. Z ČR nejednoznačně potvrzený chemotyp od *L. glabrata* s terpenoidy *campestris*-unknowns byl záměrně vynechán.





Obr. 3-5. TLC chromatogramy v roztocích A, B' a C: 1 – *L. allophana*, 2 – *L. argentata*, 3 – *L. chlarotera*, 4 – *L. cinereofusca*, 5 – *L. exspersa*, 6 – *L. glabrata*, 7 – *L. horiza*, 8 – *L. impudens* a 9 – *L. pulicaris*; ATR – atranorin, NRS – kys. norstiktová, all1, 2 & 3 – *allophana*-unknowns 1, 2 & 3, GAN – gangaleoidin, NOR – norgangaleoidin, ROC – kys. roccellová, 4-0-D – 4-0-dechlorgangaleoidin, chla – *chlarotera*-unknown, PAN – pannarin, PLA – kys. placodialová, gla1 & 2 – *glabrata*-unknowns 1 & 2, cam1 & 2 – *campestris*-unknowns 1 & 2, FUM – kys. fumarprotocetraová, CON – kys. confumarprotocetrarová.

| látka | A | B | C | mastný charakter | UV před H ₂ SO ₄ | denní světlo | dlouhé UV po H ₂ SO ₄ | poznámky |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------------|----------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| confumarprotocetraric acid | 1 | 1 | 1 | + | modrá | šedohnědá | ± | |
| fumarprotocetraric acid | 3 | 18 | 9 | - | + | šedá až modrošedá | - | |
| <i>glabrata</i> -unknown 2 | 22 | - | 33 | ± | oranžová až červená | hnědá | narůžověle hnědá | |
| <i>campestris</i> -unknown 2 | 26 | - | ? | + | - | šedá | růžovohnědá nebo UV- | |
| norstictic acid | 32 | 27 | 27 | - | ± oranžová | žlutá (až oranžová) | - | standard |
| roccellic acid | 33 | 44 | 45 | + | - | bezbarvá | - | |
| 4-0-dechlorgangaleoidin | 40 | 25 | 33 | - | - | velmi světle žlutá | - | |
| <i>allophana</i> -unknown 3 | 42 | 28 | - | - | - | světle hnědá | ± | |
| <i>campestris</i> -unknown 1 | 51 | 23 | 40 | + | - | hnědožlutá až šedá | hnědožlutá až hnědá | |
| gangaleoidin | 51 | 33 | 45 | + | + | žlutá | svítivě žlutá | |
| norgangaleoidin | 51 | 40 | 45 | ± | + | žlutá | svítivě žlutá nebo UV- | |
| <i>allophana</i> -unknown 2 | 53 | 19 | 36 | + | - | (světle) hnědá | růžovohnědá | |
| <i>exspersa</i> -unknown | 53 | ? | ? | + | - | - | - | |
| placodiolic acid | 55 | 52 | 50 | - | + | hnědožlutá | tmavě hnědá až šedá | |
| <i>glabrata</i> -unknown 1 | 57 | 35 | 43 | ± | + | (tmavě) hnědá | hnědá | |
| <i>allophana</i> -unknown 1 | 61 | 39 | 45 | + | - | (tmavě) hnědá | růžovohnědá | |
| pannarin | 62 | 54 | 60 | - | šedobílá | hnědá | hnědá | |
| atranorin | 63 | 61 | 60 | r | tmavá | žlutá až oranžová | hnědá až hnědooranžová | standard |
| <i>chlarotera</i> -unknown | 63 | 65 | 60 | - | - | nevýrazně šedá | šedohnědá, někdy narůžovělá či žlutá | atranorin zbarvuje dorůžova |
| <i>grantii</i> -unknowns | - | - | - | ± | - | modrá | nevýrazně žlutá až hnědá; šedá někdy s modrým haló | komplex cca 6 terpenoidů v různých polohách |

Tab. 8. Přehled látek obsažených ve studovaných zástupcích skupiny *L. subfusca* a jejich vlastnosti na TLC deskách: retenční faktor v solventech A, B' a C; viditelnost v krátkém UV světle (+) nebo barva v dlouhém UV světle před aplikací kyseliny sírové, barva na denním světle po aplikaci kys. sírové a pečení desek a barva v dlouhém UV světle. Veškeré údaje jsou založeny na vlastních měřeních a pozorováních.

3.4. HPLC analýzy

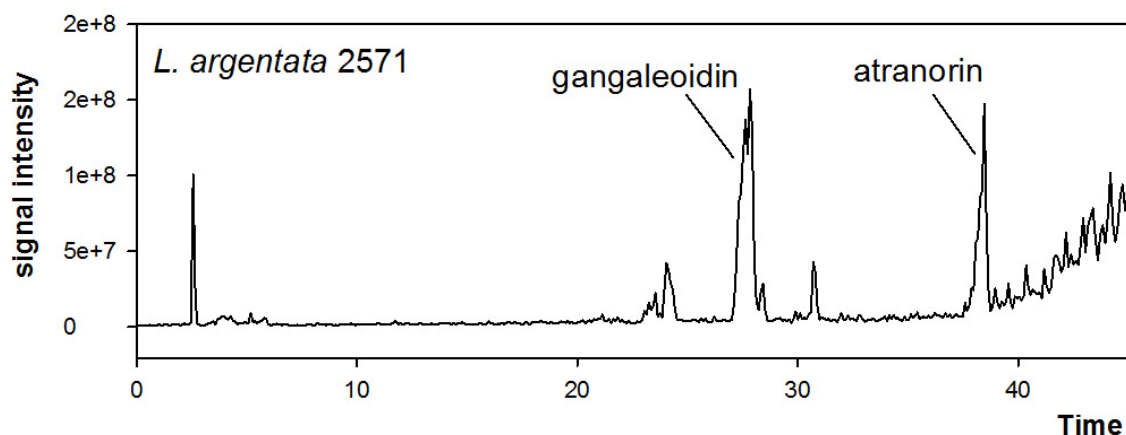
Využití kapalinové chromatografie přináší trochu jiný pohled na chemotaxonomii lišejníků. Je to metoda výrazně citlivější, která umožňuje detekci řady dalších látek, jež TLC nedokáže zaznamenat či rozlišit. Navíc HPLC zaznamenává také koncentrace jednotlivých metabolitů. Naopak dle standardní metodiky (Feige et al. 1993) není možné zjistit vyšší mastné kyseliny. HPLC analýzy měly v této práci orientačně prověřit, zda-li je tato metoda vhodná k podrobnějšímu chemotaxonomickému studiu vybrané skupiny lišejníků. Výsledky jsou proto velmi kusé a bez zavedených standardních postupů, analýzy většího počtu vzorků a větší zkušenosti s prací s kapalinovým chromatografem nejsou příliš vypovídající.

| látka | retenční faktor (Rf) | molekulární hmotnost |
|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| protocetraric acid | 14 | 374.29 |
| confumarprotocetraric acid | 15 | 474.36 |
| fumarprotocetraric acid | 17 | 472.35 |
| gangaleoidin | 21 | 413.20 |
| norgangaleoidin | 22 | 399.18 |
| 4-0-dechlorgangaleoidin | 23 (Elix et al. 1994) | 378.75 |
| placodiolic acid | 27 | 376.35 |
| pannarin | 37 | 362.75 |
| atranorin | 38 | 374.33 |
| chloratranorin | 42 | 408.78 |

Tab. 9. Retenční časy známých látek detekovatelných pomocí HPLC dle práce Feige et al. (1993). Molekulární hmotnosti jsou převzaty z práce Huneck & Yoshimura (1996). V případě 4-0-dechlorgangaleoidinu je v práci Guderley (1999) uveden retenční čas 15.

Pomocí HPLC bylo analyzováno celkem 10 vzorků (druhy *L. allophana*, *L. argentata*, *L. chlarotera*, *L. glabrata*, *L. pulicaris*). Tato metoda velmi dobře odhalila přítomnost chloratranorinu u všech testovaných položek. Chloratranorin se na TLC deskách překrývá s atranorinem, proto ho není možné ve standardně používaných roztocích odlišit. HPLC je také velmi vhodné k detekci látek z okruhu gangaleoidinu. V oblasti výskytu těchto metabolitů se u druhu *L. argentata* objevilo pět výraznějších peaků, z nichž dva odpovídají ještě dalším látkám, které nelze pomocí TLC odlišit. Nejvýraznější peak u druhu *L. glabrata* tvořila látka s molekulovou hmotností 622.5, která s největší pravděpodobností odpovídá některému z terpenoidů (snad *glabrata*-unknown 1, popř. se zde oba hlavní terpenoidy částečně překrývají). Také u dvou položek *L. allophana* se objevilo několik výraznějších peaků, které by měly odpovídat neznámým terpenoidům charakteristickým pro tento taxon. Zjištěné molekulární hmotnosti však byly poněkud odlišné, proto není jasné, který z peaků patří k jaké látce a zda-li se vůbec shodují látky v obou analyzovaných vzorcích. Látku *chlarotera*-unknown se z neznámého důvodu nepodařilo během analýz detekovat. U *L. pulicaris* se

objevila jakožto metabolit s nejvyšší koncentrací neznámá látka o molekulové hmotnosti taktéž 622.5, avšak v jiném čase než-li u *L. glabrata*. Identita této látky zůstává zcela nejasná.



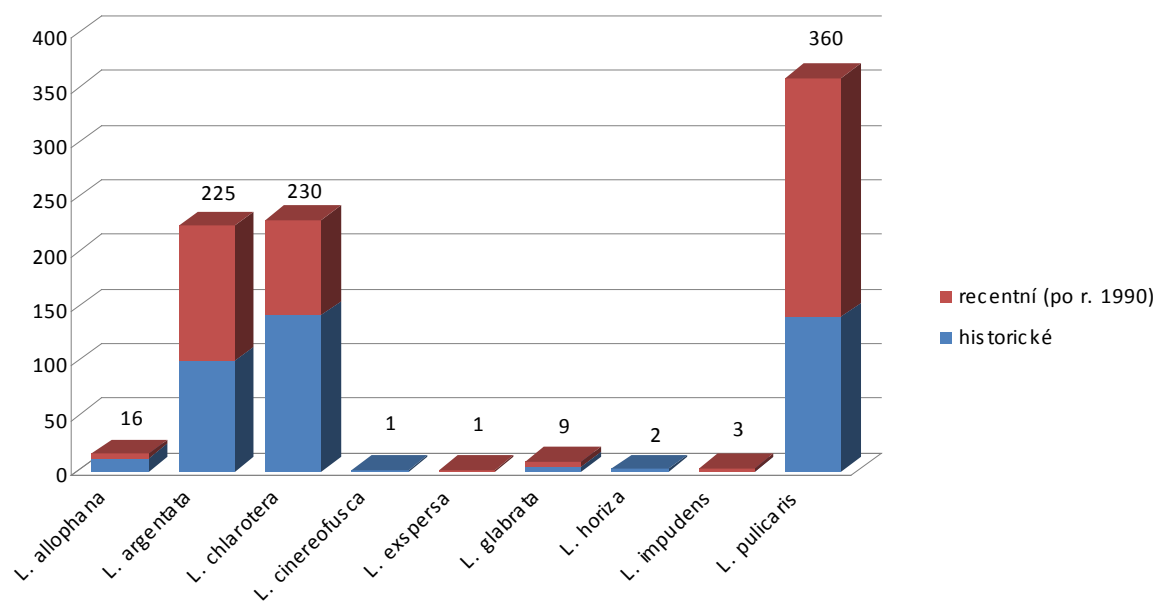
Obr. 6. Příklad výsledného chromatogramu z HPLC analýzy druhu *L. argentata*. Látky z příbuzenstva gangaleoidinu se objevují v retenčním čase 24 až 31. Chloratranorinu náleží některý z peaků kolem času 42. V čase 3 byl detekován peak patřící neznámé látce.

3.5. Abundance jednotlivých druhů a celková prozkoumanost území

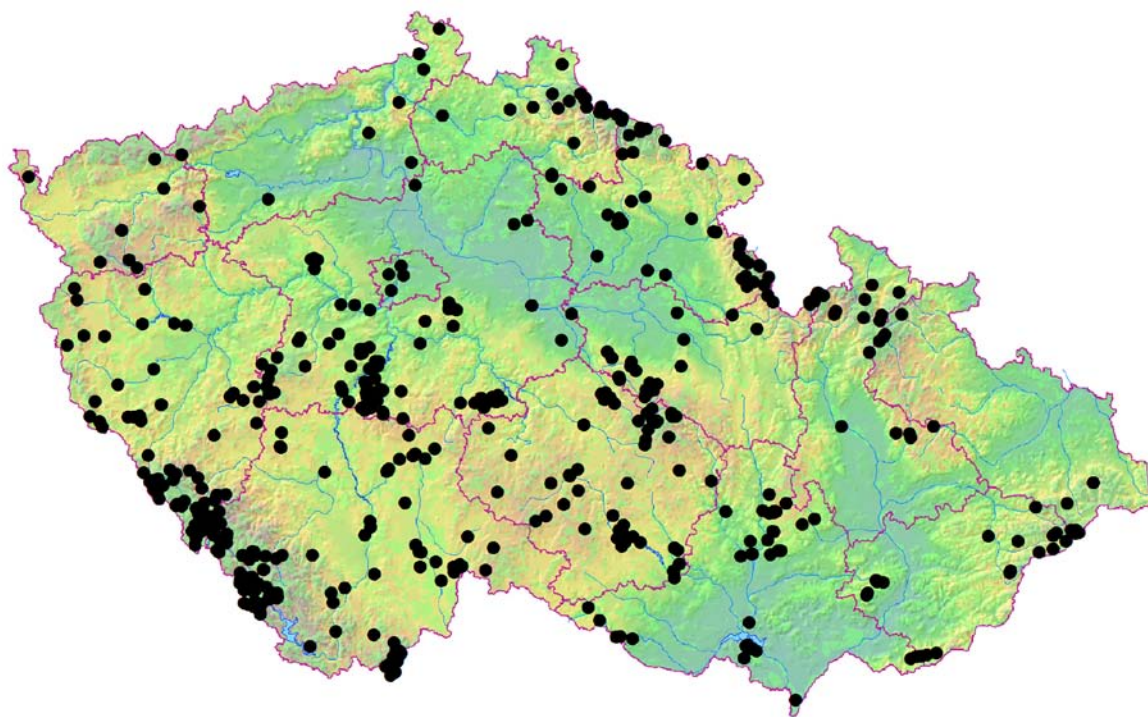
Jednoznačně nejhojnější druhem v České republice je *Lecanora pulicaris*. V minulosti však byla zřejmě o něco hojnější *L. chlarotera*, která během několika posledních desetiletí ustoupila kvůli acidifikaci substrátu a znečištění ovzduší. Zvláště v lesnatých oblastech podhorských a horských poloh je běžná *L. argentata*. Všechny ostatní druhy se řadí mezi vzácné či vyhynulé. Lokálně hojnější je zřejmě pouze *L. glabrata* v oblasti Moravském krasu. Ve srovnání s historickými daty je v současné době ještě vzácnějším a ohroženějším druhem *L. allophana*.

Vzhledem k nízkému počtu lichenologů bádajících v ČR není naše území rovnoměrně prozkoumáno. To se výrazně odráží také na mapce zahrnující všechny sběry epifytických zástupců skupiny *L. subfusca*. Nápadná je především koncentrace sběrů v okolí bydlišť nebo územích zájmu jednotlivých lichenologů. K nejlépe probádaným oblastem patří Šumava, Brdy, Sedlčansko, Krkonoše, severní část Českomoravské vysočiny a Orlické hory. Naopak minimum herbářových položek pochází především z nížinných oblastí Čech i Moravy, Krušných hor a Podkrušnohoří, Slavkovského lesa a Doupovských hor, Českého středohoří a Nízkého Jeseníku. V kontrastu se Šumavou téměř chybějí sběry z jejího podhůří. Všeobecně lze říci, že právě v nížinných oblastech jsou zástupci studované skupiny vzácní. Hlavními důvody jsou zřejmě nedostatek vhodných stanovišť a substrátů a nadměrné znečištění životního prostředí zvláště vlivem intenzivního zemědělství, dopravy a průmyslu. Vhodným příkladem může být okolí Prahy, kam směřují mnohé exkurze, a z botanického hlediska patří tato oblast k nejlépe prozkoumaným v ČR. Žádný ze

studovaných druhů se zde ale v současné době hojněji nevyskytuje a ani historických sběrů není mnoho.



Obr. 7. Počty revidovaných položek z území ČR pro jednotlivé taxony.



Obr. 8. Mapa všech revidovaných sběrů z ČR.

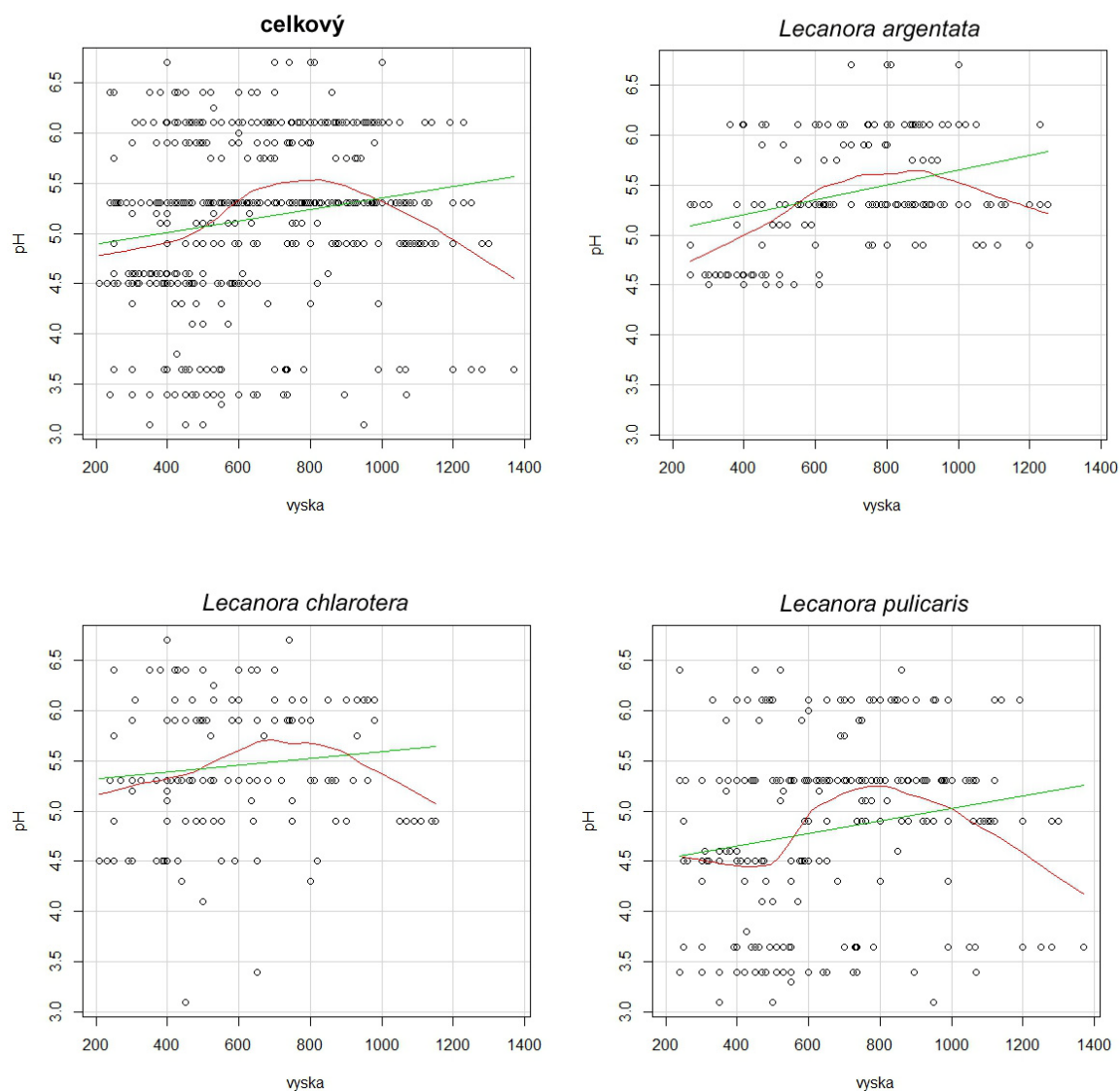
3.6. Srovnání ekologických a substrátových preferencí

Epifytiční zástupci skupiny *L. subfusca* se vyznačují relativně úzce specializovanou ekologií. Výjimkou je pouze *L. pulicaris*, která roste na široké škále substrátů a stanovišť. Tento druh je ale primárně acidofilní a na území ČR se ještě více rozšířil vlivem kyselých dešťů. Zmíněná expanze je podrobněji popsána dále v této kapitole. V následujících tabulkách jsou shrnuty ekologické preference jednotlivých druhů.

| druh | typ borky či dřeviny | typ krajiny |
|------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------|
| <i>L. allophana</i> | subneutrální borka, zvláště osiky | otevřená, extenzivně využívaná krajina |
| <i>L. argentata</i> | mírně kyselá hladká borka (buk, habr) | uzavřená lesní krajina, spíše vyšší polohy |
| <i>L. chlarotera</i> | mírně kyselá až subneutrální borka | otevřená krajina |
| <i>L. cinereofusca</i> | mírně kyselá borka (buk, klen, jedle) | vlhké pralesovité porosty |
| <i>L. exspersa</i> | tenké větvičky, popř. kmínky jeřábu | bezlesé vysokohorské polohy |
| <i>L. glabrata</i> | mírně kyselá hladká borka (buk, habr) | uzavřená lesní krajina |
| <i>L. horiza</i> | v ČR známa jen z dřeva | otevřená krajina, nižší polohy |
| <i>L. impudens</i> | mírně kyselá až subneutrální borka | spíše otevřená, extenzivně využívaná krajina |
| <i>L. pulicaris</i> | různé substráty, primárně kyselá borka | otevřená i lesní krajina |

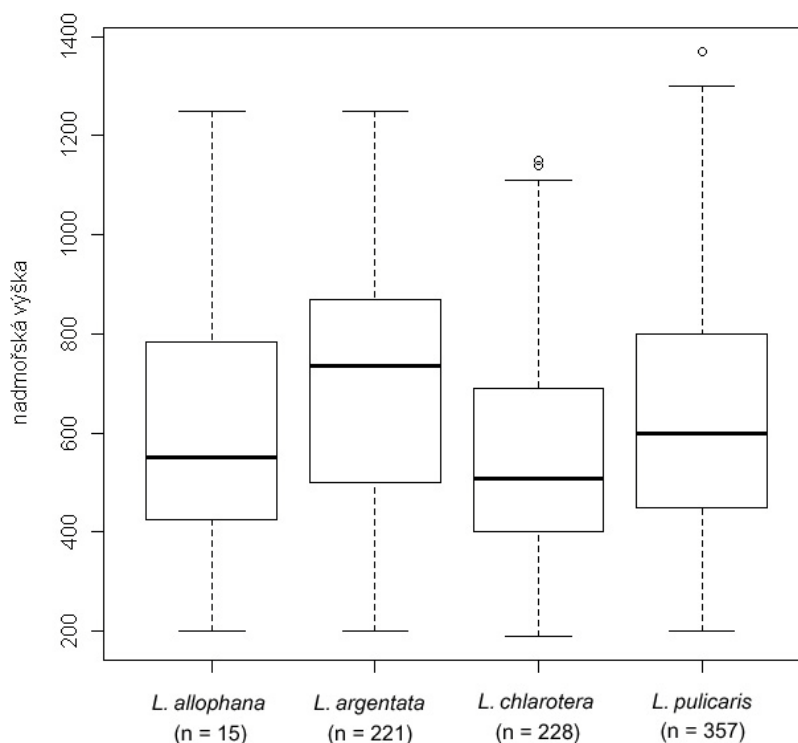
Tab. 10. Ekologické preference typu substrátu a krajiny jednotlivých taxonů známých z ČR.

Během testování preferencí nadmořské výšky a pH borky byla zjištěna prokazatelná závislost pH na výšce ($p < 0,0001$, $F = 19,65$). K tomu byl použit model lineární regrese. Model však vysvětluje pouze 2,91 % variability závislé proměnné (pH). Předpoklad stability rozptylů byl splněn, nebyla však splněna podmínka normálního rozdělení reziduí, proto je třeba výsledky testu brát s rezervou. Dle níže uvedených bodových grafů stoupá pH borky dřevin s nadmořskou výškou. Pouze u druhu *L. chlarotera* je tato závislost slabá. Předpoklad byl však zcela opačný, protože v nižších polohách převažují stromy s vyšším pH borky (např. jasan, topol, mléč, osika), zatímco ve vyšších nadmořských výškách dominují jehličnany (zvláště smrk) s velmi kyselou kůrou. Výsledek je možné jen obtížně logicky vysvětlit. Jako nejpravděpodobnější se zdá varianta nerovnoměrného sběru dat, kdy velká část údajů pochází z nadmořských výšek mezi 600 až 1000 m n. m., kde dominantními dřevinami jsou buky a kleny, které mají relativně vysoké pH borky. Nad 1000 m n. m. opět převažují sběry z kyselejších typů kůry (např. ze smrku).



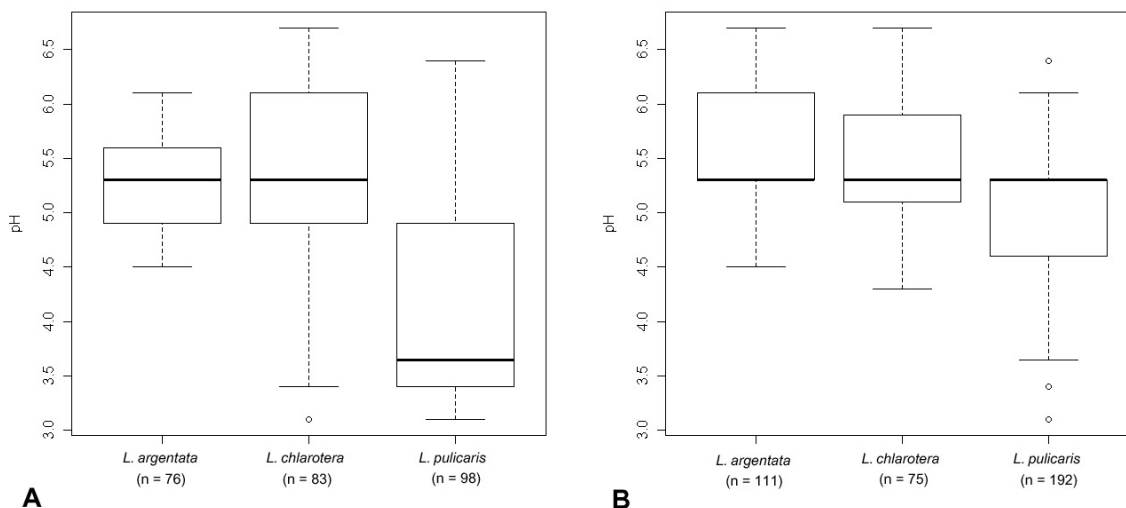
Obr. 9. Bodové grafy znázorňují kladnou závislost pH borky dřevin na nadmořské výšce. První graf zahrnuje data všech třech testovaných druhů.

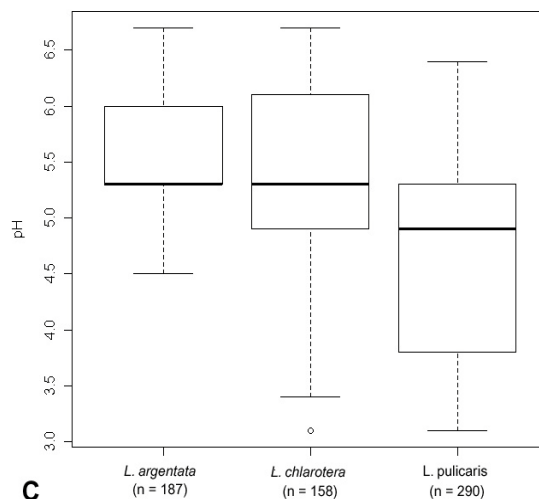
K testování preferencí nadmořských výšek i pH borky byl využit negativní binomický lineární model s interakcí (viz Metodika). Ačkoliv krabicový diagram znázorněný níže ukazuje *L. argentata* jakožto druh preferující vyšší nadmořské výšky, vezmeme-li v úvahu interakci s pH borky, výsledek je přesně opačný. *L. chlarotera* preferuje ve srovnání s *L. argentata* jen s těsnou průkazností ($p = 0,0429$) vyšší nadmořské výšky. Průkaznost u *L. pulicaris* je již výraznější ($p = 0,0061$). V případě *L. argentata* je hlavním důvodem převažujícího růstu ve vyšších nadmořských výškách opravdu vazba na substrát, a to zvláště na buky, které rostou nejčastěji v podhorských a horských polohách. *L. pulicaris* je jednoznačně dominantním zástupcem skupiny např. ve smrkovém pásmu a v nejvyšších polohách českých hor.



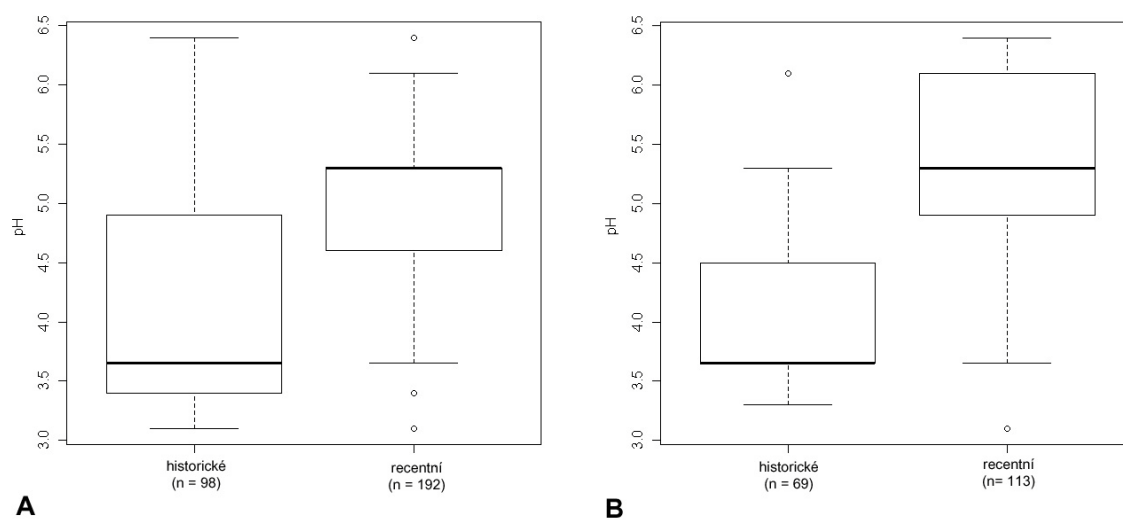
Obr. 10. Krabicový diagram znázorňující nadmořské výšky, v nichž byly sbírány jednotlivé druhy.

Co se týká preferencí pH borky, prokazatelný rozdíl byl nalezen pouze u druhu *L. pulicaris* ($p = 0,0093$), která dává přednost kyselější kůře. Celá situace je však poněkud komplikovanější. Během období kyselých dešťů s vyvrcholením na přelomu 70. a 80. let 20. století byla na většině území ČR okyselena borka dřevin. Toto okyselení zřejmě vytrvává až desítky let, tudíž až do současnosti. V případě *L. chlarotera* a *L. argentata* to způsobilo úbytek počtu lokalit a úplné vymizení v nejvíce postižených oblastech. U převážně kyselomilné *L. pulicaris* to však znamenalo možnost osídlení širšího spektra substrátů a dalšího šíření. Expanze *L. pulicaris* byla jen omezená a nelze ji srovnávat např. s masivní expanzí *L. conizaeoides* (viz např. Hawksworth & Rose 1976, Bates et al. 2001).





Obr. 11. Grafy znázorňující preference pH substrátu druhů *L. argentata*, *L. chlarotera* a *L. pulicaris*. A) historické sběry do roku 1970; B) recentní sběry po roce 1970 (včetně) a C) historické i současné sběry dohromady. Na prvním diagramu je velmi dobře patrná preference kyselější borky u *L. pulicaris* v období před plošnou acidifikací.



Obr. 12. Srovnání pH substrátů historických a recentních sběrů *L. pulicaris* A) na území celé ČR a B) v oblastech více zasažených acidifikací prostředím vlivem kyselých dešťů.

Statisticky je velmi významný rozdíl (Wilcoxonův test, $p < 0,0001$) v posunu frekvence výskytu *L. pulicaris* z dřevin s kyselou borkou na dřeviny s bazičtější kůrou. Sběry z neacidifikované borky z ČR před rokem 1970 pocházejí ve většině případů ze stromů s kyselou kůrou (střední hodnota = 3,65; průměr = 4,12), zatímco sběry po roce 1970 jsou z dřevin, které za normálních podmínek mají jen mírně kyselou borku (střední hodnota = 5,30; průměr = 5,20). Ještě výraznější rozdíly (taktéž $p < 0,0001$) byly nalezeny při srovnání historických a recentních sběrů pouze z oblastí silně zasažených acidifikací prostředí. Vynechány byly tudíž údaje ze západních a jižních Čech a z jižní

Moravy. Střední hodnoty byly shodné jako pro celou ČR. Průměr pH substrátu historických sběrů činil 4,09 a u recentních 5,34. Znamená to okyselení kůry v průměru o 1,25 stupňů pH, což je pro lišejníky jakožto velice citlivé organismy zcela zásadní posun.

3.7. Navrhované kategorie Červeného seznamu

S přihlédnutím k počtu lokalit, celkovému aktuálnímu rozšíření v ČR, citlivosti k znečištění ovzduší, celkovému úbytku lokalit a pravděpodobnosti přehlížení druhu navrhuji následující kategorie ohrožení (dle Liška & Palice 2010):

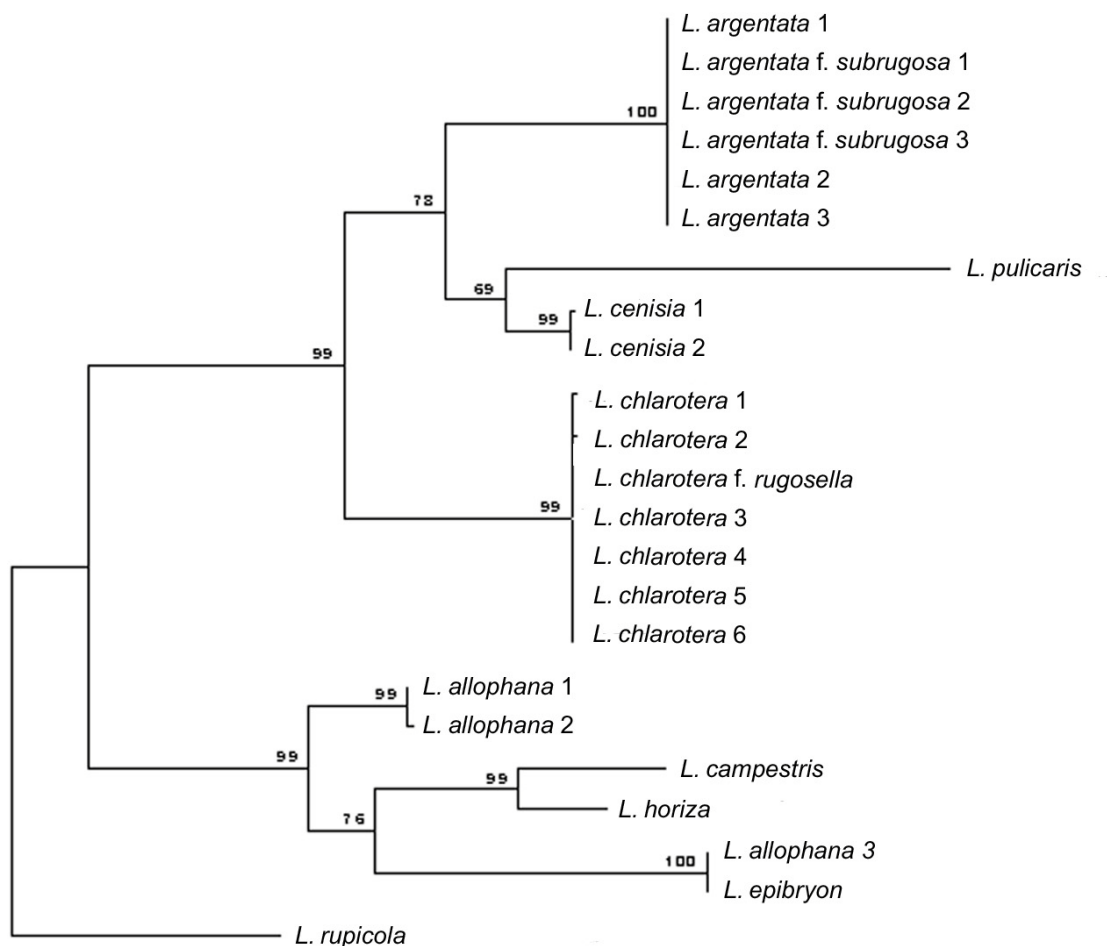
| | |
|-------------------------------|------------------------|
| <i>Lecanora allophana</i> | CR (kriticky ohrožený) |
| <i>Lecanora argentata</i> | NT (téměř ohrožený) |
| <i>Lecanora chlarotera</i> | LC (neohrožený) |
| <i>Lecanora cinereo fusca</i> | RE (vyhynulý) |
| <i>Lecanora exspersa</i> | CR (kriticky ohrožený) |
| <i>Lecanora glabrata</i> | EN (ohrožený) |
| <i>Lecanora horiza</i> | RE (vyhynulý) |
| <i>Lecanora impudens</i> | EN (ohrožený) |
| <i>Lecanora pulicaris</i> | LC (neohrožený) |

3.8. Fylogeneze a molekulární analýzy

Z dvanácti izolovaných vzorků se celkem v pěti případech podařilo získat sekvenci. Ostatní vzorky byly silně kontaminované a sekvence nečitelná. Paradoxně kvalitní sekvence pocházely ze starších vzorků (3–4 roky). Navíc se s jedinou výjimkou jednalo o vzorky s minimálním množstvím vloženého materiálu (několik apothecií). K izolaci byly záměrně vybrány pouze různé formy od variabilního taxonu *L. argentata*. Přednostně jsem izoloval extrémní formy někdy považované za samostatný taxon *L. subrugosa*. Z pěti získaných sekvencí byly dvě reprezentativní „*subrugosa*“ formy, další dvě charakteristické *L. argentata* a jeden přechodný typ. Během analýz byly v sekvencích ITS zjištěny rozdíly v rámci jediné substituce bez vazby na určitou formu. Společně se sekvencí z databáze GenBank označenou jako *L. subrugosa* (AY398711) tvoří monofyletickou skupinu. To potvrzuje domněnku několikrát zmíněnou již v předchozích kapitolách, že *L. subrugosa* je na území střední Evropy pouze extrémní formou od taxonu *L. argentata*. Podobná situace nastala také u taxonu *L. rugosella*, jehož sekvence z GenBanku spadá k druhu *L. chlarotera*.

Fylogenetické vztahy skupin s vysokou statistickou podporou (bootstrap \geq 99) odpovídají anatomickým a chemickým znakům. Jednoznačně jsou odděleny druhy s drobnými krystaly (např.

L. allophana) v amphithecii od druhů s velkými krystaly (např. *L. argentata*). U druhů s malými krystaly se ITS sekvence zdá být velmi variabilní. Taxon *L. allophana* se dle předběžných výsledků jeví jako polyfyletický. K rozřešení této problematiky je zapotřebí větší množství sekvencí ze spolehlivě určených položek.



Obr. 13. Orientační fylogenetický strom skupiny *L. subfusca* včetně dvou saxikolních zástupců dle sekvence ITS konstruovaný metodou „Maximum Likelihood“.

3.9. Charakteristika jednotlivých taxonů, jejich ekologie a rozšíření

Lecanora allophana (Ach.) Nyl.

lektotypus: „Suecia“, H-ACH no. 1143A (Brodo & Vitikainen 1984)

syn. *Lichen subfuscus* L., *L. subfusca* (f.) g. *allophana* Ach.

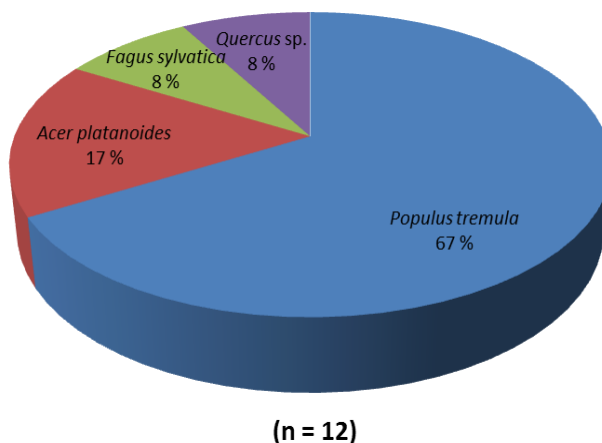
Stélka hladká až hrubá, někdy bradavičnatá; *apothecia* nápadně velká, 0,6–2,0 mm v průměru, jasně červenohnědá, někdy s rozptýlenou granulózni pruvinou u mladých plodnic, silně zúžená na bázi, vzácně přisedlá; okraj apothecií středně silný, obvykle zvlňný a hladký;

epihymenium glabrata-typu, jasně oranžové až červenooranžové; olejové kapénky vzácně přítomny; *amphithecium* *allophana*-typu, krystaly někdy roztroušené, popř. překryté řasovou vrstvou; kůra nezřetelně oddělená od dřene, 30–40 µm při okraji, 50–75 (90) µm při bázi; spóry největší z českých druhů, 14,0–20,0 (22,0) × 8,0–11,0 µm.

Forma *sorediata* (Schaer.) Vain. se vyznačuje převahou polokulovitých ohraničených sorálů, moučnatými sorediemi a nezdělanými apothecií.

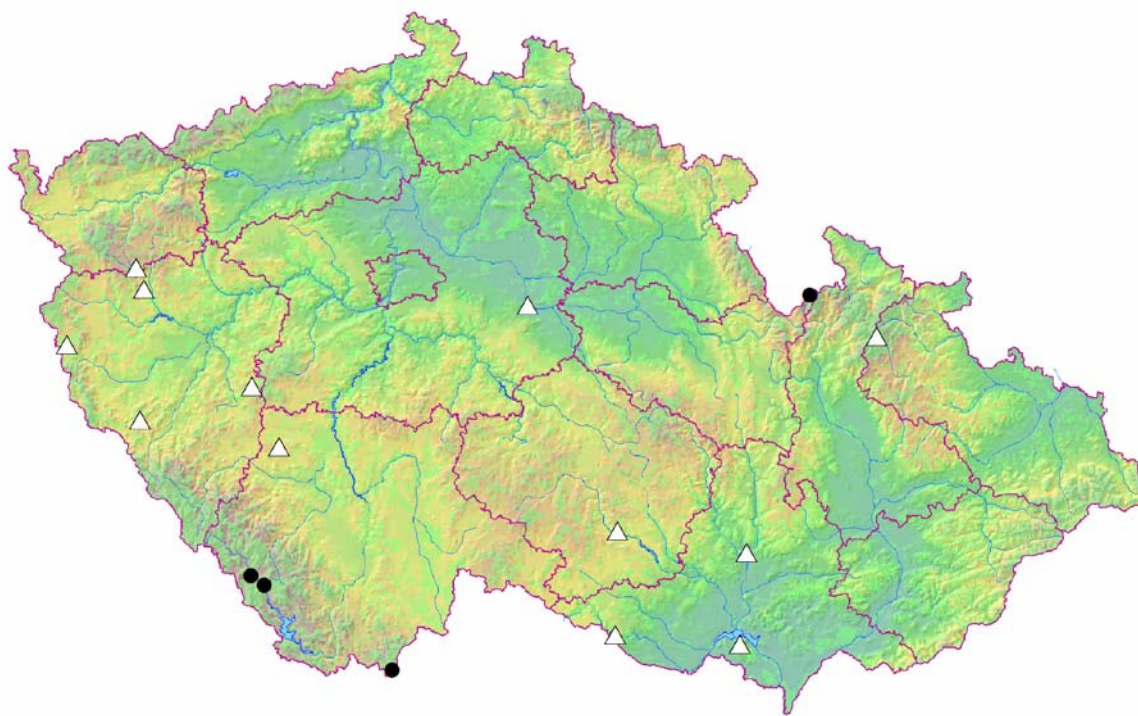
Chemie: Středoevropské položky tohoto druhu jsou charakteristické přítomností terpenoidů *allophana*-unknowns 1, 2 & 3. Ty se mohou vyskytovat často v nízkých koncentracích nebo v několika případech nebyly vůbec detekovány (položky JPH/4868, BRNM 3211/32, BRNM 3219/32, OLM 7071, ZP 380b). Zvláště *allophana*-unknown 3 je na TLC deskách zpravidla jen obtížně viditelný. U řady položek byly zjištěny stopy dalších neznámých terpenoidů, z nichž některé mohou pocházet z borky dřevin. Dle studie Brodo (1984) obsahují severoamerické položky tohoto druhu pouze stopová množství terpenoidů *grantii*-unknowns 1 & 2, které jsem v žádné testované položce nezaznamenal. Jedinou prací, která poukazuje na výskyt terpenoidů *allophana*-unknowns 1 & 2, je Tønsberg (1992). Celkem bylo pomocí TLC testováno 46 položek.

Ekologie: *L. allophana* upřednostňuje subneutrální borku stromů. V Čechách byla nejčastěji sbírána na osice, vzácněji na javoru mléči, dubu a buku. V okolních zemích roste často také na jasaněch a ořešácích. Sbírána byla také na lípách a klenech. Výskyt na buku není příliš typický. Většinou se jedná o mírně eutrofizované lokality nebo místa s hojným výskytem této misničky. Vyhledává otevřenou krajinu od nížin do horských poloh, kde roste nejčastěji ve



stromořadích a na solitérních stromech. Zjištěna byla také ve světlejších zachovalých lesních porostech. Je velmi citlivá k znečištění ovzduší a acidifikaci substrátu.

Rozšíření: V ČR byla zaznamenána celkem na 16 lokalitách, z nichž pouze ve čtyřech případech se jedná o recentní výskyt. Tento druh vymizel vlivem kyselých dešťů a následném okyselení borky dřevin. Dle historických sběrů zřejmě ani v minulosti nebýval na našem území hojný. To je rozdíl oproti některým okolním státům (Rakousko, Slovensko), kde *L. allophana* roste v zachovalejších oblastech relativně hojně i v současné době. V České republice byla recentně sbírána na Šumavě (Pěkná, Stožec), v Novohradských horách (Pohoří na Šumavě) a na Králickém Sněžníku. Tyto exempláře byly povětšinou ne zcela typicky vyvinuté evidentně vlivem znečištění ovzduší (zvláště položka z Králického Sněžníku). Sorediální forma byla zaznamenána pouze na jediné lokalitě (Pálava). Četné literární zdroje uvádějící výskyt tohoto druhu na našem území (Vězda & Liška 1999) se zakládají jednak na nesprávně určeném materiálu a častěji na používání jména *L. subfusca* (tj. synonymum k *L. allophana*) jako označení pro všechny zástupce této skupiny, které zmiňují již Brodo & Vitikainen (1984). Celkový areál druhu zahrnuje Severní Ameriku (Brodo 1984), Asii (Ryan et al. 2004) a Evropu. Vyskytuje se v boreálním a mírném pásu, vzácně proniká do subtropů. Zajímavostí je absence výskytu ve Velké Británii (Edwards et al. 2009), Portugalsku a Španělsku (Ibáñez & Burgaz 1998).



Obr. 14. Rozšíření *Lecanora allophana* v ČR (● – recentní lokality, △ – do roku 1990).

Poznámky: Tento druh je v rámci střední Evropy velmi charakteristický a dobře poznatelný. Problematické může být odlišení sterilní sorediální formy od druhu *L. impudens*, kde je nezbytné

využití chromatografie. Špatně vyvinuté plodné exempláře bez askospór mohou být zaměněny za *L. glabrata* nebo *L. horiza*. Zde se opět doporučuje potvrzení správného určení pomocí TLC. Dle Brodoa (ústní sdělení) bývá na území Severní Ameriky často nemožné rozlišit drobné stélky *L. allophana* od *L. glabrata* právě z důvodu stejných sekundárních metabolitů. Blízce příbuzným a velice podobným druhem je také vysokohorská *L. epibryon*, která roste na mechorostech a rostlinných zbytcích na vápniťm podkladu.

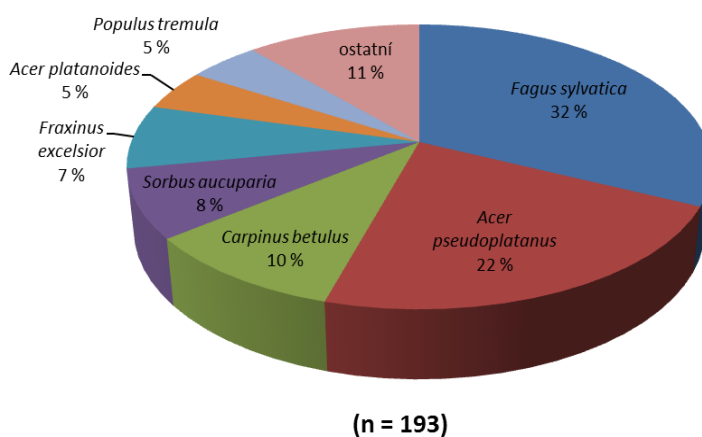
Lecanora argentata (Ach.) Degel. (1931)

lektotypus: „... cum priori [... in cortice arborum]“, H-ACH no. 1189A (Brodo & Vitikainen 1984) syn. *Lecanora subfuscata* H. Magn. (1932), *L. subrugosa* Nyl. (1875)

Stélka silná, hladká, často rozpraskaná, někdy až bradavičnatá; *apothecia* přisedlá, zpravidla hustě nahloučená na stélce, 0,5–1,0 (1,5) mm v průměru, disky červenohnědé až tmavě červenohnědé, okraj zpravidla slabě vroubkovaný, někdy silný a nápadně vroubkovaný nebo bradavičnatý; *epihymenium* glabrata-typu, jasně oranžové až hnědočervené; *amphithecium* pulicaris-typu s početnými velkými krystaly; *kůra* zřetelně vyvinutá, 15–20 µm při okraji a 25–35 µm při bázi; *spóry* 11–15 × 6,5–9 µm.

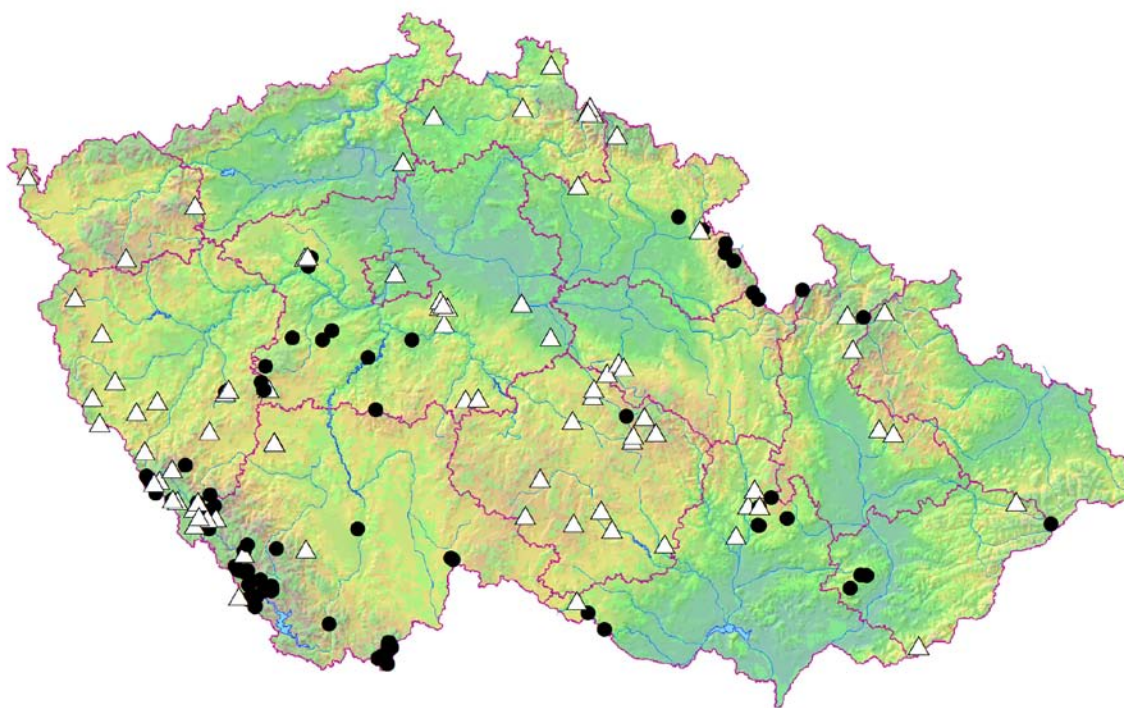
Chemie: V naprosté většině položek byl zjištěn gangaleodin, chyběl pouze u tří testovaných sběrů (JM 1107, OP 1291, PRC/LS 42). Gangaleodin je zpravidla doprovázen příbuznými látkami norgangaleodin (= californin) a 4-0-dechlorgangaleodin. Ty se ve stélce ale vyskytují v nižších koncentracích, proto zvláště 4-0-dechlorgangaleodin je na TLC deskách patrný jen u některých položek. Norgangaleodin byl nalezen u většiny položek, ale často jen ve stopových množstvích. U desetin testovaných vzorků byla zjištěna kyselina rocellová (zpravidla jen v nízkých koncentracích), která zatím byla nalezena pouze u severoamerických položek označovaných jako *L. subrugosa* (Brodo 1984). V pěti položkách byly zaznamenány stopy kyseliny norstiktové, což považují pouze za kontaminaci pravděpodobně druhem *Phlyctis argena*, s nímž je *L. argentata* často asociována. Celkem bylo pomocí TLC testováno 75 položek.

Ekologie: *L. argentata* je charakteristický druh hladké a mírně kyselé kůry buků a habrů, kde může



být jedním z dominantních lišejníků. Běžná je také na klenech. V oblastech bohatého výskytu nezřídka roste i na dalších druzích dřevin, např. na jasanu, jeřábu ptačím, lípách, osice, jilmu a jedli. Hojně se vyskytuje v lesnatých oblastech, v zemědělsky intenzivně obhospodařovaných územích chybí. Roste většinou v lesích, v otevřené krajině je vzácná. Těžištěm výskytu jsou podhorské a horské oblasti, v nižších polohách jen zřídka ve vlhkých údolích potoků a řek. Vyhýbá se srážkově chudým oblastem.

Rozšíření: V České republice se jedná o relativně hojný druh misničky. Běžně se vyskytuje v jižních a západních Čechách. Zvláště hojná je na Šumavě a v Novohradských horách. Téměř chybí v nížinných rovinatých oblastech jižní Moravy a Polabí. Kvůli kyselým dešťům vymizela v severní části Čech. Hojnější výskyt lze předpokládat i na Českomoravské vysočině a v Jeseníkách, které jsou jen málo lichenologicky probádané a chybí odsud dostatek sběrů. Podobné ekologické nároky jako v ČR byly pozorovány i v sousedních státech. *Lecanora argentata* má kosmopolitní rozšíření ve všech klimatických zónách (Lumbsch 1994, Guderley 1999). V Evropě ji můžeme považovat za charakteristický druh bukových lesů mírného pásu.



Obr. 15. Rozšíření *Lecanora argentata* v ČR (● – recentní lokality, △ – do roku 1990).

Poznámky: Poměrně dobře poznatelný a nepříliš variabilní taxon. Brodo (1984) odlišuje především na základě morfologických znaků (na bázi zúžená velká apothecia, velmi silný a vroubkovaný okraj, hrubě bradavičnatá až granulózní stélka a silnostěnné spóry) druh *L. subrugosa*. Lumbsch a Feige (1996) včetně některých regionálních monografií (Hráz & Burgaz 1998, Juriado 1998)

považují tento taxon pouze za extrémní morfotyp druhu *L. argentata*. Upozorňují, že chemicky odlišné severoamerické položky s kyselinou roccellovou a absencí gangaleoidinu mohou náležet jinému taxonu. Rovněž v této práci není taxon *L. subrugosa* odlišován a je považován pouze za extrémní formu *L. argentata* (více v kapitole 3.2).

Lecanora chlarotera Nyl. (1872)

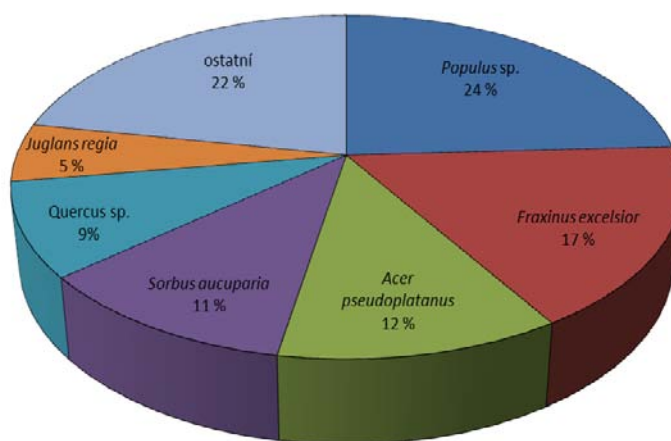
lektotypus: „In Germania prope Jenam, Steven 1797“, H-NYL no. 27347 (Brodo 1984)

syn. *L. rugosa* Nyl. (1872), *L. rugosella* Zahlbr. (1928), *L. crassula* H. Magn. (1932)

Stélka silná, hladká až mírně bradavičnatá; *apothecia* přisedlá, zpravidla nahloučená na stélce, 0,5–1,0 mm v průměru, disky světle hnědé, růžovohnědé, vzácně tmavě hnědé nebo červenohnědé, někdy slabě ojíňené; okraj relativně silný, hladký až vroubkovaný; *epihymenium*: chlarotera-typu, hnědé kvůli hojné přítomnosti hrubých granulek, někdy s červenohnědým pigmentem, granulky pomalu rozpustné v HNO₃; *amphithecium*: pulicaris-typu; *kůra* zřetelná, 18–22 µm na okraji, 25–40 µm při bázi; *spóry* 11,0–15,0 × 7,0–8,5 µm.

Chemie: Látka *chlarotera*-unknown přítomna u všech položek, avšak v případě nízkého počtu epihymeniálních granulek nemusí být na TLC deskách patrná. Kyselina roccellová byla zjištěna u cca 60 % položek, gangaleoidin s norgangaleoidinem detekovány u poloviny testovaného materiálu. U jedné položky bylo nalezeno stopové množství 4-0-dechlorgangaleoidinu. Ryan et al. (2004) uvádějí namísto kys. roccellové bez bližšího vysvětlení kyselinu nephrosteranovou. Celkem bylo pomocí TLC testováno 67 položek.

Ekologie: *L. chlarotera* výrazně preferuje mírně kyselou až subneutrální borku. V ČR se nejčastěji vyskytuje na jasaněch, javoru klenu, osikách, topolech, ořešácích, dubech a jeřábu ptačím. Vzácně byla sbírána např. na javoru mléči, lípách, olši, vrbách a dřevě. Roste v otevřené krajině, ve stromořadích, na solitérních stromech, okrajích lesů, v mladých světlých lesních porostech, vzácně i

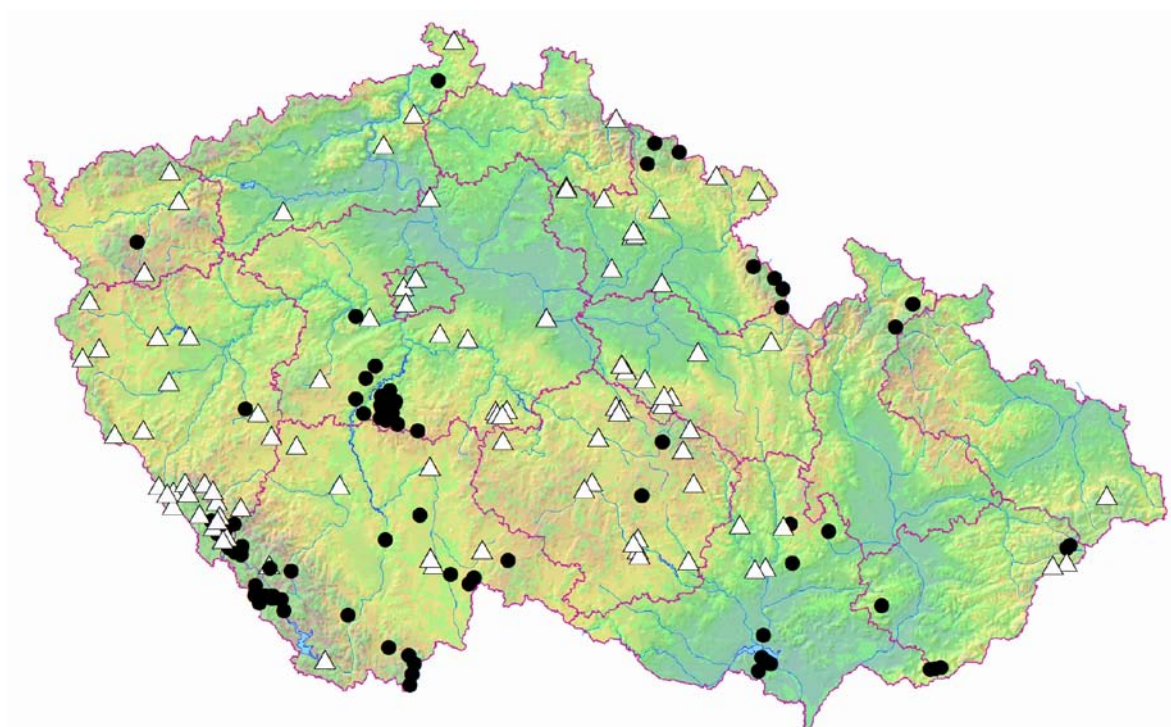


(n = 182)

v zahradách. V lesních porostech je velmi vzácná. Běžně se vyskytuje od nížin do podhorských poloh, v horách (nad 1000 m n. m.) je vzácná. Nevyhýbá se ani intenzivně využívané zemědělské

krajině. Běžně roste např. podél méně frekventovaných silnic. Z českých druhů tato misnička nejlépe snáší kontinentálně laděné klima a běžně se vyskytuje i v suchých a teplých oblastech.

Rozšíření: Na našem území patří k relativně běžným lišejníkům. V minulosti byla *L. chlarotera* zřejmě nejhojnějším zástupcem skupiny. Kvůli acidifikaci prostředí vlivem kyselých dešťů výrazně ustoupila především v severní polovině ČR, kde je nyní vzácná. V takto postižených oblastech je vázána pouze na stromy s bazičtější borkou (jasan, ořešák, topol, mléč). Kvůli citlivosti ke znečištění ovzduší chybí ve městech. Hojně se doposud vyskytuje v jižních Čechách a na jižní Moravě. Na jižní Moravě je dokonce nejhojnějším druhem z *Lecanora subfusca* agg. Roste zde nejčastěji na dubech. Ve středních Čechách patří k roztroušeně se vyskytujícím lišejníkům, které jsou v krajině vázány na příhodná stanoviště a substráty. Téměř kosmopolitně rozšířený taxon (Ryan et al. 2004, Edwards et al. 2009).



Obr. 16. Rozšíření *Lecanora chlarotera* v ČR (● – recentní lokality, △ – do roku 1990).

Poznámky: *L. chlarotera* je v rámci Evropy variabilní taxon, ačkoli české populace jsou relativně uniformní. Anatomicky i chemicky totožné jsou misničky rostoucí na větvičkách jalovců ve vysokohorských polohách balkánských pohoří, které se vyznačují tmavě pigmentovanými disky apothecií. Identitu těchto populací je nutné prověřit pomocí molekulárních metod. Podobnými a blízkce příbuznými taxony jsou v ČR nerostoucí *L. salicicola* a *L. meridionalis*. První zmíněný druh se liší především tenkým až mizejícím okrajem apothecia, zpravidla narůžovělými disky a úplnou absencí gangaleoidinu. *L. meridionalis* je mediteránní lišejník s tmavě hnědými až černými disky a

tmavě zeleným až olivovým epihymeniem s většinou jen řídké roztroušenými granulkami, který upřednostňuje kyselou borku (Brodo 1984, Ibáñez & Burgaz 1998). *L. chlarotera* je téměř totožná s druhem *L. praesistens*, který však obsahuje 16 spór ve vřecku. Problematickým taxonem je *L. rugosella*, kterou na území střední Evropy považují pouze za extrémní formu *L. chlarotera* (viz kapitola 3.2). Brodo (1984) však považuje *L. rugosella* za poměrně dobře vymezený taxon v rámci Severní Ameriky.

Hrubé granulky v *chlarotera*-typu epihymenia zřejmě chrání lišejník před herbivory. Mnohé sekundární metabolity včetně atranorinu odpuzují svou chutí či vlastnostmi herbivory (Giez et al. 1994, Pöykkö et al. 2005, Nimis & Skert 2006). Kvůli obsahu atranorinu a dalších látek ve stélce i okraji apothecií bývá zpravidla cílem plžů a roztočů hymenium, které u většiny druhů obsahuje pouze pigmenty či granulky. U *L. argentata* bývá hymenium nápadně často vyžráno (druh bez granulek v epihymeniu). Relativně běžně je tento jev pozorován též u *L. pulicaris* (jemné granulky v epihymeniu). U *L. chlarotera* se silnou vrstvou granulek koncentrovanou nad konečky parafýz byly plodnice s poškozeným hymeniem pozorovány jen ojediněle. Velmi pravděpodobně slouží tyto drobné krystaly jako antipredační mechanismus. Antiherbivorní efekt má také pruina složená z krystalků šťavelanu vápenatého (Nimis & Skert 2006), jejichž charakter je zřejmě obdobný jako u zmíněných granulek. Naopak *L. chlarotera* nápadně často trpí napadením lichenikolními houbami, zvláště druhy *Stigmidium congestum*, *Lichenocodium lecanorae* a *Vouauxiella lichenicola* (cf. Kocourková 2000).

Lecanora cinereofusca H. Magn. (1932)

lektotypus: „Maryland, Benfield, c.c.P., leg. C. C. Plitt 1907“, on *Magnolia glauca*, UPS (Brodo 1984)

syn. *L. subfusca* var. *tumescens* Vain. (1913), *L. degelii* Schauer & Brodo (1966)

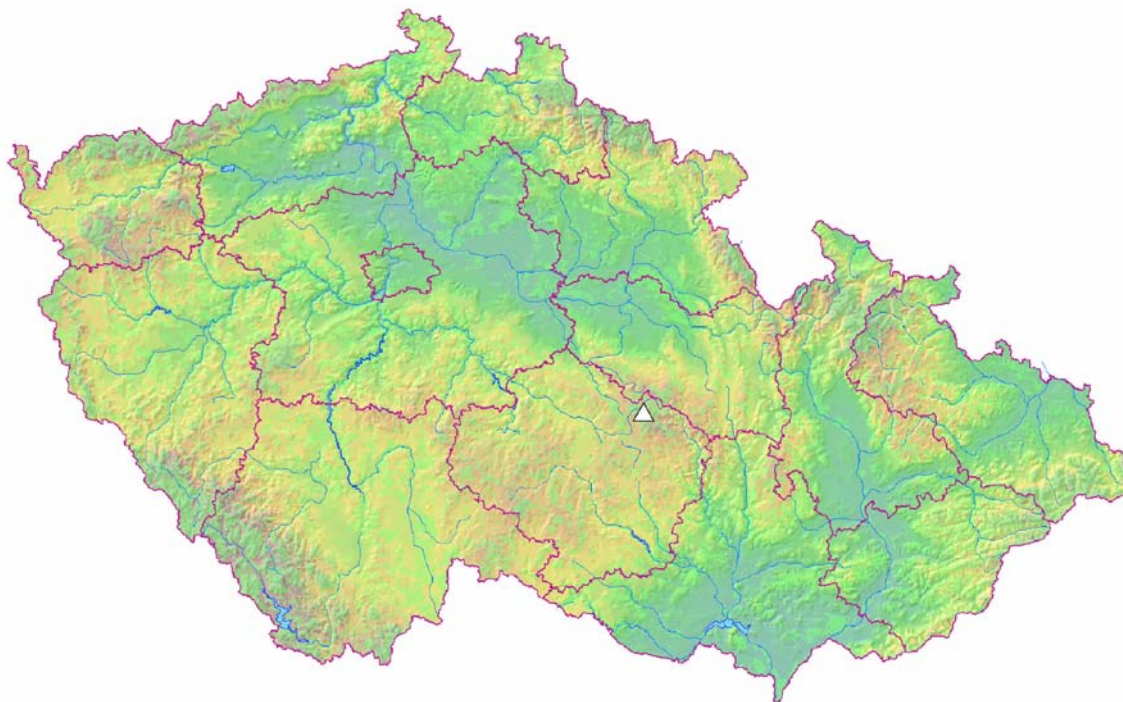
Stélka hladká až hrubá; *apothecia* v mládí zanořená ve stélce, později přisedlá, ve středoevropských podmínkách 0,6–1,5 mm v průměru (u české položky do 1,0 mm), disky červené až hnědočervené, okraj poměrně silný, nápadně vroubkovaný až nesouvislý; *epihymenium* *chlarotera*-typu, červenooranžové, Pd+ červeně s tvorbou shluků krystalů, granulky často jen řídké roztroušené; *amphithecium* *pulicaris*-typu, ale krystaly často jen řídké přítomné, popř. chybí; *kůra* víceméně želatinózní, nezřetelná, 12–20 µm silná, *spóry* o rozměrech 10,0–14,0 × 7,0–9,0 µm, tenkostěnné.

Chemie: Pro *L. cinereofusca* je charakteristický výskyt pannarinu, díky kterému epihymenium a někdy i okraj apothecií reagují s Pd+ červeně. Ve všech testovaných položkách byla vždy přítomná

kyselina plakodiolová. Brodo (1984) uvádí častý výskyt kyseliny roccellové, která byla detekována pouze ve stopovém množství u jedné italské položky (GZU 44-88). U dvou sběrů (včetně českého) byly nalezeny stopy terpenoidů, které zřejmě pocházejí z borky dřevin. Celkem bylo pomocí TLC testováno 7 položek.

Ekologie: Jediný český sběr pochází z borky buku. V Alpách byla tato misnička sbírána také na kleny, jedli, olši a vrbě (Schauer & Brodo 1966). Česká lokalita se nachází v zachovalém pralesovitém porostu typu květnaté bučiny v nadmořské výšce okolo 800 m. *L. cinereofusca* je druh vázaný na oceanické a s uboceanické klima. Výskyt v ČR je proto značně překvapivý. V Alpách roste ve srážkově bohatých přirozených horských lesích v nadmořské výšce mezi 700 až 1300 m (Schauer & Brodo 1966), popř. i v nižších polohách okolo 500 m.

Rozšíření: Z ČR pochází jediný historický sběr z roku 1904 z vrcholu pralesa na Žákově hoře ve Žďárských vrších (leg. F. Kovář). Navzdory intenzivnímu pátrání zde současný výskyt nebyl potvrzen a navíc je velmi nepravděpodobný. Lokalita byla silně postižena kyselými dešti a epifytická lichenoflóra je nyní výrazně ochuzena. Proto můžeme *L. cinereofusca* považovat na našem území za vyhynulý druh. Výskyt této misničky v minulosti je pravděpodobný např. v šumavských pralesích. Žádné další doklady však nebyly nalezeny. V Evropě se jedná o vzácný druh, který je uváděn z Alp, západního Skotska a Skandinávie (Edwards et al. 2009). Hojnější je při východním pobřeží Severní Ameriky, uváděn je také ze západního pobřeží S. Ameriky a z východní Asie (Brodo 1984). Nedávno byl objeven v pontické části Turecka (zde).



Obr. 17. Rozšíření *Lecanora cinereofusca* v ČR (Δ – sběr z roku 1904).

Poznámky: *L. cinereofusca* je dobře poznatelný druh, avšak hůře vyvinuté exempláře (viz sběr ze Žákovy hory) mohou být v terénu snadno přehlíženy. Velmi podobným taxonem je *L. insignis*, která se liší většími silnostěnnými spórami o rozměrech 16–21 × 8–12 μm, absencí kyseliny plakodiolové a vazbou na jehličnany (jedle, smrk).

Lecanora exspersa Nyl. (1875)

typus: Retezat Mts., Rumania, W (Palice et al. 2006)

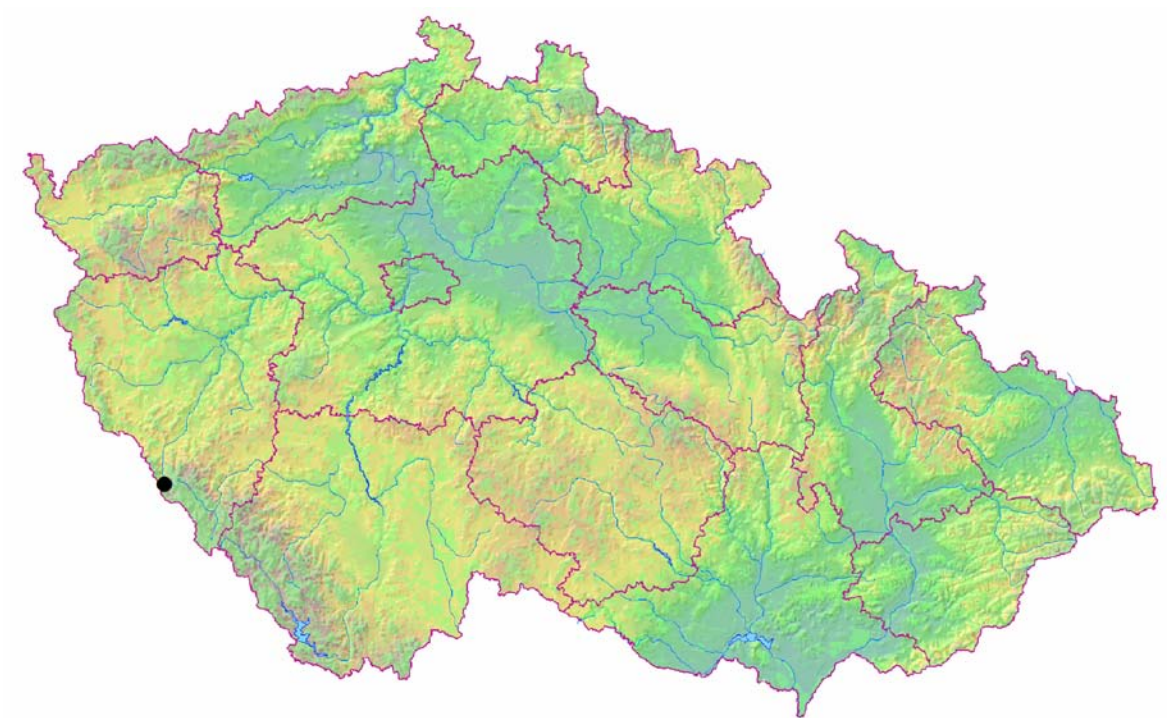
syn. *L. elisa* Nyl.

Stélka silná, často s hnědým odstínem, rozpraskaná až areolovitá, s tmavým prothallelem; *sorály* bílé až žlutavé, zpočátku vyduté až ploché, ohraničené, později vypouklé a postupně splývající; *apothecia* přítomna jen vzácně, často jen nedokonale vyvinuta, přisedlá, disky hnědé až hnědočerné, nezřídka lehce ojíňené, okraj víceméně zvlňný, někdy až přerušovaný či mizející; *epihymenium*: chlarotera-typu, červenohnědé až hnědé, granulky často jen ojediněle se vyskytující; *amphithecium*: dle Hintereggerové (1994) pulicaris-typu s komplexy velkých krystalů pouze u dobře vyvinutého excipula, jinak krystaly zpravidla chybí nebo pozorovány roztroušené shluky malých krystalů; *kůra* dobře ohraničená, 20–30 μm silná; *spóry* zpravidla nejsou vyvinuty, jinak drobné 7,0–11,0 × 4,0–6,0 μm.

Chemie: Tato misnička je charakteristická přítomností atranorinu a mastných kyselin. Zjištěny byly kyselina roccellová a d alší neznámá kyselina, která je v této práci označovaná jako exspersa-unknown. Dle Hintereggerové (1994) je na TLC deskách v pozici A4–5, B5, C5–6. Obě látky se často vyskytují ve stélce společně, popř. bývá zjištěna pouze kys. roccellová. U české položky byly nalezeny obě mastné kyseliny, avšak druhá zmíněná v mírně odlišné pozici (A6, B6–7, C6). Celkem bylo pomocí TLC testováno 7 položek.

Ekologie: V ČR byla *L. exspersa* sbírána na borce jeřábu ptačího v nadmořské výšce přibližně 1150 m. Jedná se o charakteristický druh větviček pěnišníku *Rhododendron ferrugineum* v subalpínském a alpínském pásmu (Hinteregger 1994). Roste také na dřevě a větvičkách či kůře jehličnanů.

Rozšíření: Český sběr pochází z karu Černého jezera na Šumavě (leg. Z. Palice 1995). Běžněji se tento druh vyskytuje v Alpách, uváděn je také z Finska (Santesson et al. 2004), Černé hory (Vězda 2000), Rumunska (Nylander 1875) a bavorské části Šumavy (Printzen et al. 2002). Sběr ze Slovenska z Muráňské planiny (Palice et al. 2006) ve skutečnosti náleží druhu *L. pulicaris*, který měl degradovaný povrch stélky připomínající sorály. Zřejmě se jedná o vzácnější druh vázaný na horské polohy.



Obr. 18. Rozšíření *Lecanora exspersa* v ČR (● – recentní lokalita z roku 1995).

Poznámky: *L. exspersa* je málo známý a přehlížený taxon s relativně vyhraněnou ekologií. Bez prověření položek tenkovrstevnou chromatografií může být snadno zaměněn za jiné sorediózní lišejníky rodů *Lecanora* či *Ochrolechia*. Chemicky je velmi podobný převážně oceanické misničce *L. farinaria*. Rozlišování sterilních položek může být velmi obtížné a je nezbytné pečlivě prověřit mastné kyseliny ve stélce, charakter sorálů i stélky a vzít v úvahu i ekologii obou druhů. Znalosti o rozšíření těchto druhů mohou proto být zkreslené právě kvůli jejich snadné záměně. Šumavská položka *L. exspersa* z jeřábu byla velmi dobře vyvinutá, s nápadnými plochými až polokulovitými sorály, které místy vzájemně splývaly.

Lecanora glabrata (Ach.) Malme (1912)

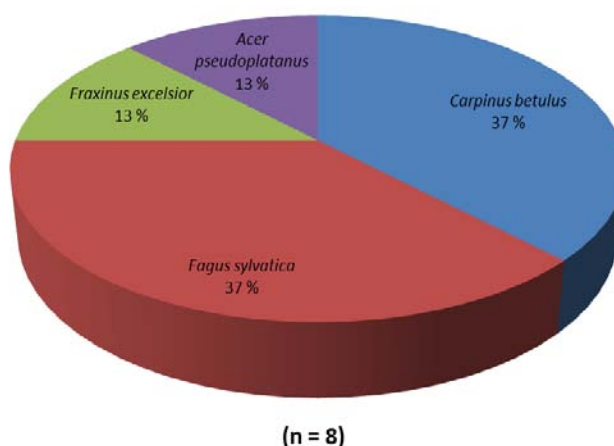
lektotypus: „Helvetia [Schleicher no.] 49a“, H-ACH no. 1192 (Brodo & Vitikainen 1984)

syn. *Lecanora subfusca* var. *rufa* Ach., *L. subfuscata* f. *glabrata* (Ach.) Poelt

Stélka tenká až středně silná, zpravidla hladká; *apothecia* přisedlá, u typických položek nápadně drobná, 0,4–0,8 mm v průměru, později vypouklá, disky červenohnědé až tmavě červenohnědé, okraj hladký, tenký, někdy téměř mizející; *epihymenium* glabrata-typu, oranžové až červenooranžové; *amphithecium*: allophana-typu, malé krystaly hojně přítomné; *kůra* nezřetelně oddělená od dřevě; *spóry* 11,0–14,0 (15,0) × 6,0–8,0 μm.

Chemie: Charakteristické jsou terpenoidy *glabrata*-unknown 1 & 2. S výjimkou tří moravských položek (JM 568, AV 7192b, AV 16964) byly zjištěny u všech vzorků z ČR. *Glabrata*-unknown 2 se často vyskytuje jen v nízké koncentraci, proto nebyla detekována u necelé poloviny sběrů. Zřejmě i ve výše zmíněných případech nebyla *glabrata*-unknown 1 patrná na TLC deskách právě z důvodu nízké koncentrace či malého množství analyzovaného vzorku. V řadě položek byly nalezeny ještě další neznámé terpenoidy, které zřejmě nemají větší taxonomický význam. *Lecanora glabrata* je chemicky variabilní taxon. U některých položek z Albánie, Itálie, Makedonie, Portugalska a zvláště Slovinska byl zjištěn jako hlavní sekundární metabolit terpenoid *campestris*-unknown 1, který byl v některých případech doprovázen *campestris*-unknown 2 či stopami jiných neznámých terpenoidů. Tento chemotyp se vyskytoval také u dvou českých položek: od Broumova (OLM 6994) a ze Žákovy hory (OLM 7061). Tyto sběry však neměly typicky vyvinuté některé znaky druhu *L. glabrata*, proto jsou zde zmíněny pouze jako *L. cf. glabrata*. Pro srovnání Brodo (1984) uvádí u této misničky stopy terpenoidu *grantii*-unknown, který v evropském materiálu nebyl zaznamenán. Ibáñez & Burgaz (1998) zmiňují přítomnost pouze samotného atranorinu. Celkem bylo pomocí TLC testováno 63 položek.

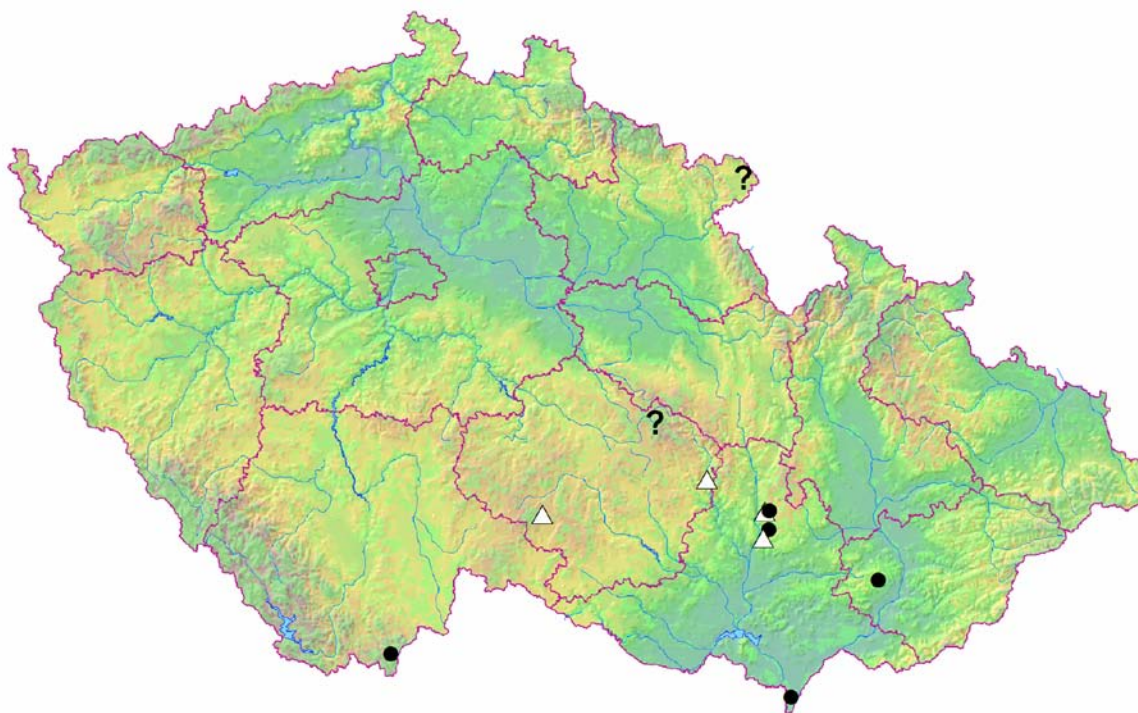
Ekologie: *L. glabrata* má velmi podobnou ekologii jako *L. argentata*, s kterou se zpravidla vyskytuje na stejných lokalitách. Upřednostňuje hladkou borku buků a habrů. Dále byla zjištěna také na klenech a jasaněch. Je to typický druh přirozených listnatých lesů, zvláště bučin. Preferuje vlhká stanoviště. V ČR pochází většina údajů z nižších poloh. V okolních státech se běžně vyskytuje v horských oblastech.



Vzhledem k omezenému množství údajů nelze jednoznačně říci, zda-li druh výrazně ustoupil během druhé poloviny 20. století. Pravděpodobně ale vymizel z některých lokalit kvůli kyselým dešťům.

Rozšíření: V České republice se jedná o vzácný druh známý pouze z devíti lokalit. Většina údajů pochází z jižní Moravy, ojediněle byl zaznamenán na Českomoravské vysočině (Třešť) a v Novohradských horách (okolí Žofínského pralesa). Poměrně hojně se vyskytuje v hlubokých údolích Moravského krasu. Vězda & Liška (1999) uvádějí *L. glabrata* celkem z 15 literárních pramenů. Většina těchto údajů je však založena na špatné determinaci. V Rakousku je tento druh podstatně hojnější než v ČR, podobná situace je i v některých oblastech Slovenska. V západní

Evropě se zřejmě jedná o vzácný druh (cf. Iľáz & Burgaz 1998, Edwards et al. 2009). Mimo Evropu se vyskytuje ještě při východním pobřeží Severní Ameriky (Brodo 1984).



Obr. 19. Rozšíření *Lecanora glabrata* v ČR (● – recentní lokality, △ – do roku 1990, ? – nejisté údaje).

Poznámky: Velmi podobným druhem je *L. horiza*, která se liší především chemií, charakterem amphithecia a ekologií. Některé extrémní formy z úživné borky lze zaměnit za *L. allophana*, která se odlišuje opět chemicky a většími spórami. Od ekologicky podobné *L. argentata* lze v terénu tento druh rozpoznat díky menším a často vypouklým plodnicím s nápadně tenkým a hladkým okrajem a z pravidla tmavším diskům. *L. glabrata* je chemicky variabilní taxon a zjištěné chemotypy vyžadují ještě další studium v rámci celého areálu. Některé formy s většími apothecii a askospórami by teoreticky mohly patřit k samostatnému druhu.

Lecanora horiza (Ach.) Lindsay (1869)

lektotypus: „Gallia, Dufour 73“, H-ACH no. 1193 (Brodo & Vitikainen 1984)

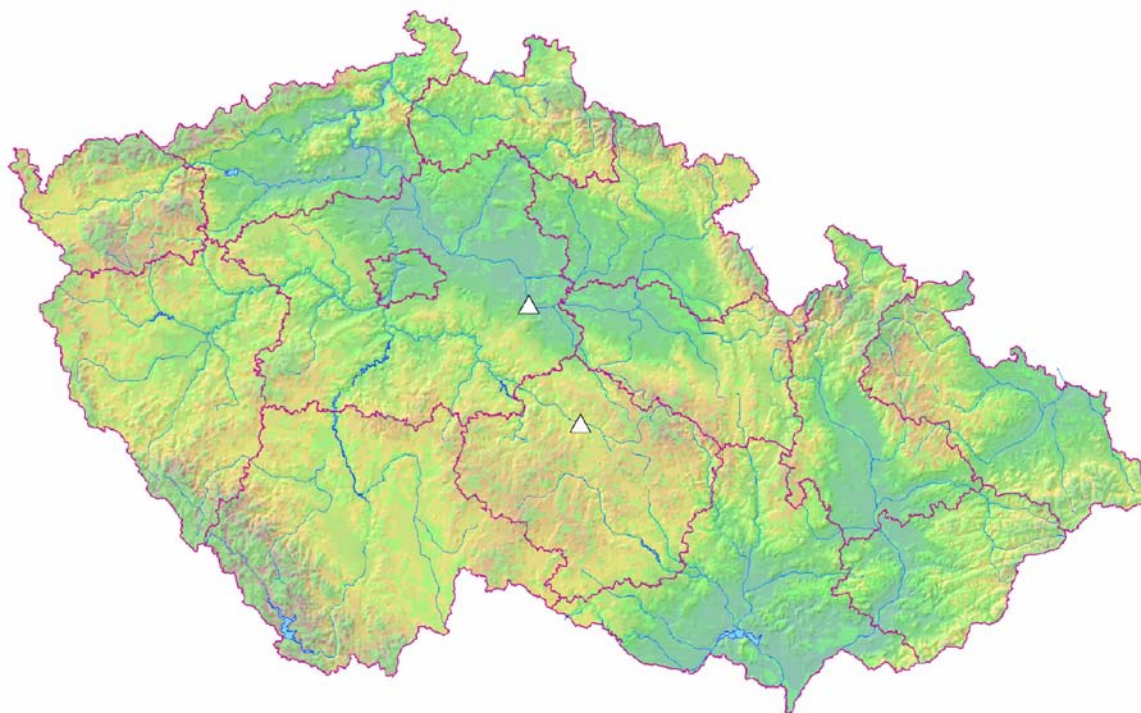
syn. *Lecanora parisiensis* Nyl., *L. laevis* Poelt, *L. siena*e de Lesd.

Stélka hladká, hrubá až bradavičnatá; *apothecia* přisedlá, někdy mírně zúžená na bázi, 0,5–1,2 mm v průměru, disky červenohnědé, mladé plodnice vzácně ojíněné, okraj slabý až středně silný, hladký; *epihymenium*: glabrata-typu; *amphithecium*: campestris-typu, krystaly někdy vzácné,

nepronikají do kůry; *kůra* zřetelná, 18–20 μm při okraji, k bázi se rozšiřující na 38–85 (150) μm ; *spóry* 12,0–15,0 \times 7,0–9,0 μm .

Chemie: Charakteristický je výskyt terpenoidů *grantii*-unknowns, které u ne celé poloviny testovaných položek doprovázelo stopové množství *campestris*-unknown 1. Ojediněle byly detekovány *campestris*-unknown 2 nebo stopy dalších terpenoidů. V obou českých položkách byly nalezeny pouze 2–3 *grantii*-unknowns. K podobným výsledkům došli také Brodo (1984) a Ibáñez & Burgaz (1998).

Ekologie: Oba české sběry pocházejí ze dřeva. *L. horiza* se vyskytuje na široké škále dřevin, zvláště na ořešáku, jírovci, topolu, jasanu, javoru a jilmu (Brodo 1984, Edwards et al. 2009). Edwards et al. (2009) uvádí tuto misničku také z náhrobků a cihel kostelů. Preferuje úživnou borku nebo tenké větvičky. Toleruje eutrofizaci. Jedná se o světlomilný, teplomilný a relativně suchomilný druh vázaný na otevřenou krajinu. Celkem bylo pomocí TLC testováno 15 položek.



Obr. 20. Rozšíření *Lecanora horiza* v ČR (Δ – historické lokality do roku 1990).

Rozšíření: Z území ČR byly nalezeny pouze dva historické herbářové doklady: z Kolína (leg. Veselský 1853) a Havlíčkova Brodu (leg. Novák, konec 19. století). Veškeré literární údaje z našeho území (Vězda & Liška 1999, pod *L. allophana*) lze považovat za mylné. V Evropě má *L. horiza* atlantsko-mediteránní rozšíření (Ibáñez & Burgaz 1998). Sběry z ČR mohou být teoreticky pozůstatkem hojnějšího rozšíření ve střední Evropě v průběhu 18. a 19. století, kdy na našem území

hojněji rostly některé další mediteránní druhy lišejníků (Vondrák, ústní sdělení). Celkový areál druhu je téměř kosmopolitní (Edwards et al. 2009).

Poznámky: *L. horiza* lze zaměnit za druhy *L. allophana* a *L. glabrata*, které se liší především chemicky a odlišným typem amphithecia a kůry. *L. allophana* má navíc větší apothecia a spóry. *L. glabrata* má naopak drobnější plodnice a zpravidla se vyskytuje na hladké kyselé borce v lesích. Dle mého pozorování však považuji za velmi problematické odlišení taxonu *L. campestris*, který je primárně saxikolní. Anatomicky jsou tyto dva druhy zcela shodné, morfologické rozdíly jsou minimální a chemie nebyla na území Evropy prozatím příliš podrobně studována. V této práci rozlišuji oba taxony na základě chemických znaků: v případě *L. horiza* jsou dominantními terpenoidy *grantii-unknowns*, zatímco *L. campestris* produkuje *campestris-unknowns 1 & 2* a *grantii-unknowns* se v některých položkách vyskytují pouze ve stopovém množství. Tato problematika заслужuje podrobnější molekulární revizi, během níž by měla být prověřena také identita *L. laevis* a *L. sienae*, které jsou nyní považovány za synonyma k *L. horiza*.

Lecanora impudens Degel. (1944)

holotypus: Sweden, „Sodermanland: Huddinge. Tullinge 1935, H. Magn. On *Ulmus* in an avenue“, leg. Magnusson 16125, 16 April 1932, UPS (Brodo 1984)

syn. *Pertusaria farinacea* H. Magn., *Pertusaria maculata* Erichs., *Lecanora maculata* (Erichs.) Almb.

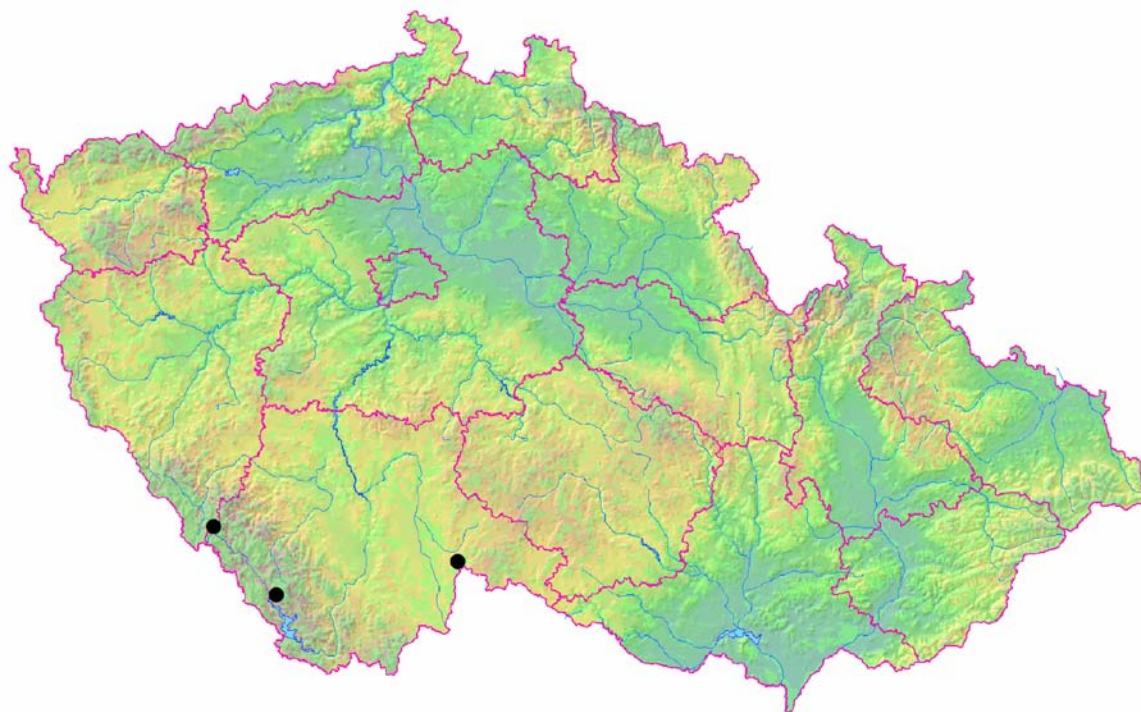
Stélka tenká až středně silná; sorály v mládí víceméně kruhovitě, prohlubňovitě, ploché až mírně vypouklé, někdy vzájemně splývající, sorédie jemně granulózní až granulózní, žlutavé až zelenavé; *apothecia* přítomna jen vzácně, v českém materiálu nezjištěna, přisedlá až mírně zúžená při bázi, 0,5–1,0 mm v průměru, disky výrazně červenohnědé, okraj hladký, rovný či zprohýbaný, později sorediální; *epihymenium* glabrata-typu; *amphithecium* allophana-typu; *kůra* nezřetelně oddělená od dřene; *spóry* 10,0–14,0 (15,5) × 5,5–8,0 μm.

Chemie: U všech testovaných položek byl zjištěn pouze samotný atranorin. Brodo (1984) uvádí neznámé mastné kyseliny. Podobně také Tønsberg (1992) uvádí stopová množství neznámé mastné kyseliny (kyselin) a navíc terpenoidy *impudens-unknowns* charakteristické pro skandinávský materiál tohoto druhu. Celkem bylo pomocí TLC testováno 7 položek.

Ekologie: *L. impudens* má podobné ekologické nároky jako příbuzná *L. allophana*. Roste v otevřené nebo prosvětlené lesní krajině na živné borce dřevin. V Čechách byla sbírána na javoru mléči, ořešáku a topolu, na Slovensku dále také na jasanu a dubu. Pravděpodobně se zcela vyhýbá

eutrofizovaným místům a oblastem postiženým kyselými dešti. Dle práce Poelt & Vězda (1981) dává přednost horským polohám.

Rozšíření: Na území ČR byly nalezeny pouze tři recentní lokality na Šumavě (Kvilda, Želnavá) a Jindřichohradecku (Příbraz – viz Palice et al. 2003). Žádná z revidovaných historických položek, které publikoval Erichsen (1936, 1940) pod jménem *Pertusaria maculata*, nepatřila druhu *L. impudens*. Jednalo se o záměnu s *Pertusaria pupillaris*, *Buellia griseovirens* a jedním dalším, prozatím neurčeným sorediózním druhem. Na našem území se jedná o vzácný druh, přestože jeho celkový počet známých lokalit bude do jisté míry zkreslený přehlížením této misničky. Celkový areál druhu zaujímá Evropu a Severní Ameriku (Brodo 1984, Ryan et al. 2004). Chybí ve Velké Británii (Edwards et al. 2009), Portugalsku a Španělsku (Ibáñez & Burgaz 1998).



Obr. 21. Rozšíření *Lecanora impudens* v ČR (● – recentní lokality po roce 1990).

Poznámky: Mnozí autoři (např. Poelt & Vězda 1981, Clauzade & Roux 1995, Schreiner & Hafellner 1992, Wirth 1995) považují tento taxon za synonymum k *L. allophana* f. *sorediata*, která je ve většině znaků shodná s *L. impudens*. Zde se přikláním k rozlišování obou druhů. *L. impudens* se liší absencí terpenoidů *allophana*-unknowns, charakterem sorálů a menší velikostí apothecií a spór. *L. barkmaniana* a *L. exspersa* jsou odlišné především chemicky. Makroskopicky podobnými druhy jsou např. *Ochrolechia androgyna* a *O. arborea*, které lze snadno rozlišit C+ červenou reakcí sorálů. Také výše zmíněné druhy *Pertusaria pupillaris* a *Buellia griseovirens* lze snadno odlišit pomocí stélkových reakcí.

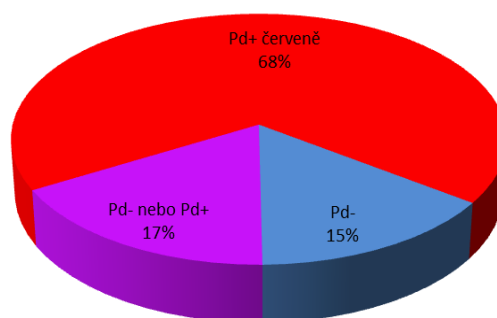
Lecanora pulicaris (Pers.) Ach. (1814)

typus: „... ad ligna abietina in Hercynia“, holotype (?) – "Hercynia", L (Brodo & Vitikainen 1984)
syn. *Patellaria pulicaris* Pers., *Lecanora chlarona* f. *pulicaris* (Pers.) Poelt, *L. chlarona* (Ach.)
Nyl., *L. coilocarpa* (Ach.) Nyl., *L. pinastri* (Schaerer) H. Magn.

Stélka převážně tenká, hladká až bradavičnatá, dle Edwardse et al. (2009) vzácně se zelenobílými sorály, u studovaných položek byly vzácně pozorovány formy s degradovaným povrchem stélky připomínající drobné nesouvislé sorály, avšak tuto formu nepovažují za primárně sorediózní a tudíž chybí i v určovacím klíči; *apothecia* přisedlá nebo s mírně zúženou bází, 0,4–1,2 mm v průměru, disky světle hnědé až černé, okraj hladký, vzácně hrubý, většinou tenký; *epihymenium*: pulicaris-typu, s početnými jemnými granulami rozptýlenými v epihymeniu mezi parafýzami, červenohnědé, u tmavě pigmentovaných plodnic vzácně až olivově černé; *amphithecium*: pulicaris-typu, krystaly mohou zvláště u hůře vyvinutých exemplářů zcela chybět; *kůra* zřetelná, 15–25 µm na okraji a 25–45 µm při bázi, *spóry* 11,0–15,0 × 6,5–10,0 µm.

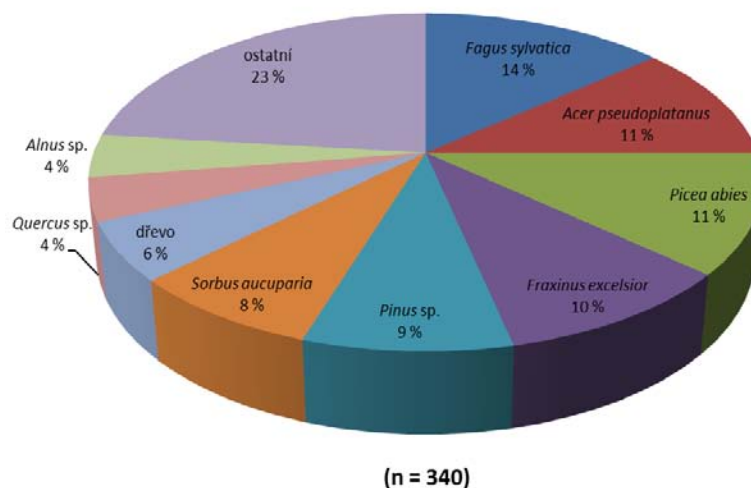
Chemie: Díky přítomnosti kyseliny fumarprotocetrarové reaguje 68 % položek Pd+ červeně (v případě nižší koncentrace někdy jen žlutooranžově nebo oranžově). 15 % českých sběrů nereagovalo s Pd vůbec (nebo jen velmi slabě žlutě) a zbylých 17 % položek tvořily smíšené populace obou chemotypů. Brodo (1984) uvádí kyselinu fumarprotocetrarovou u všech exemplářů, avšak někdy v nízkých koncentracích. Dle mých výsledků tato látka zcela chybí přibližně u čtvrtiny stélek. Tuto domněnku potvrdily také orientační HPLC analýzy dvou vzorků. Nepřítomnost kys. fumarprotocetrarové u některých populacích poznamenávají také Lumbsch & Feige (1994). Zajímavé je, že absence kys. fumarprotocetrarové zřejmě není podmíněna ekologicky, ale geneticky. Nežádá totiž na jedné větvi nebo části kmenu rostou v těsné blízkosti stélky obou chemotypů, které jsou shodně velké (a zřejmě i stejného stáří) a morfologicky prakticky shodné. Každá tato stélka vyrostla z jiného výtrusu, který má pravděpodobně předem geneticky zakódovanou produkci nebo naopak absenci této kyseliny. Dalším možným vysvětlením je vliv fotobionta na produkci této látky, popř. jiná fyziologická závislost. Tato problematika si zasluhuje podrobnější studium. Chemotyp bez kyseliny fumarprotocetrarové je ve většině publikací zcela opomíjen (viz kapitola 3.1.), tudíž dochází k častým záměnám *L. pulicaris* za podobnou *L. circumborealis* a jiné. Kyselina roccellová byla zjištěna u 58 % testovaných položek. Většina položek bez kyseliny fumarprotocetrarové obsahuje kys. roccellovou. U dvou testovaných vzorků (JM 547, JM 662) byla navíc nalezena kyselina confumarprotocetrarová, kterou u tohoto taxonu

Přítomnost kyseliny fumarprotocetrarové (Pd-reakce)



zmiňují Lumbsch & Feige (1994) a Ryan et al. (2004). První jmenovaní autoři zjistili také přítomnost kyseliny protocetrarové u jedné testované položky. Celkem bylo pomocí TLC testováno 64 položek.

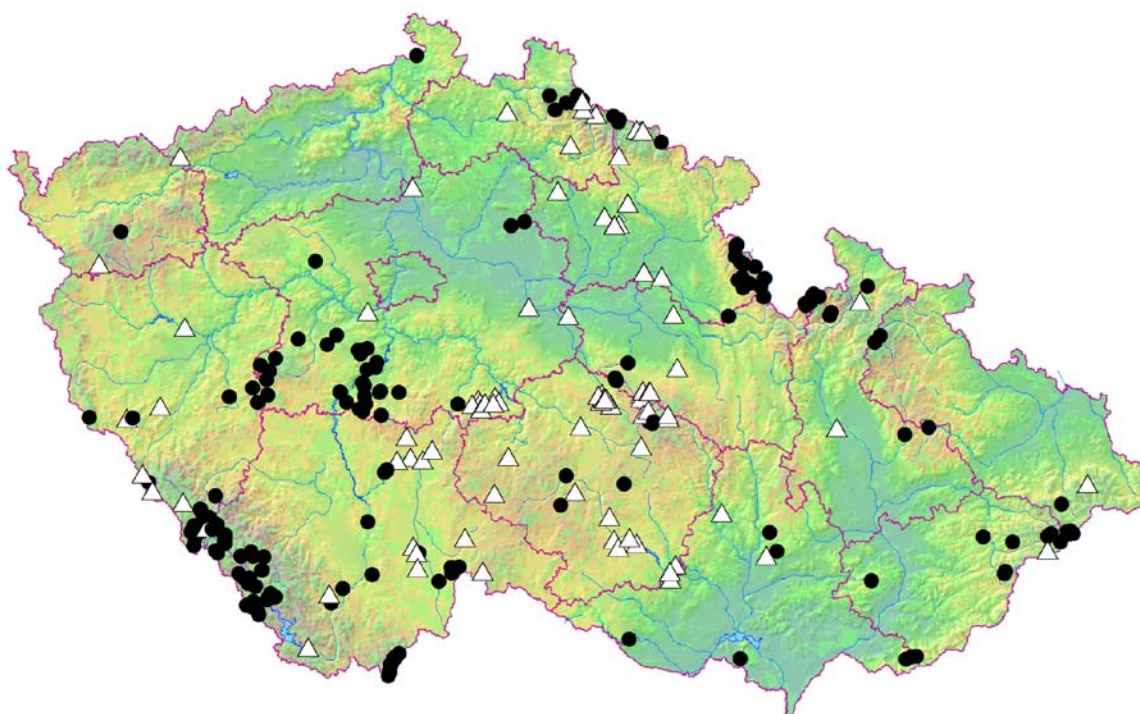
Ekologie: *L. pulicaris* má z našich zástupců vůbec nejširší ekologickou amplitudu. Primárně roste na kyselé borce, avšak kvůli acidifikaci prostředí se hojně rozšířila i na dřeviny se subneutrální borkou. V oblastech málo postižených kyselými dešti se vyskytuje hojně např. na smrku, borovici, buku a jeřábu.



Jinde běžně roste na jasaněch, klenech, olších a mnoha dalších dřevinách. Na rozdíl od ostatních českých zástupců této skupiny se běžně objevuje také na dřevě. V jednom případě byla nalezena na polostinné hadcové skalce (JM 1572). Vyskytuje se jak v lesích, tak v otevřené krajině. Vyhýbá se silně eutrofizovaným a prašným místům. Roste od nížin po vysokohorské oblasti s těžištěm rozšíření ve vyšších polohách (zvláště v pásmu smrčin).

Rozšíření: *L. pulicaris* je nejhojnějším zástupcem *L. subfusca* agg. v ČR. Zvláště v severní polovině státu jednoznačně převažuje nad ostatními druhy z této skupiny. Poměrně vzácná je v nejteplejších oblastech ČR. Celkový areál druhu zahrnuje severní polokouli s nejhojnějším výskytem v boreálním pásmu (Brodo 1984, Edwards et al. 2009).

Poznámky: Misnička korová je extrémně variabilní taxon, což v mnohých případech značně komplikuje její determinaci. Unikátní je přítomnost fumarprotocetrarové kyseliny. Charakteristické jsou také v HNO₃ nerozpustné epihymeniální granulky a v mnohých případech nápadně tenká stélka. Velice podobná je boreální *L. circumborealis*, která se vyznačuje výrazně ztlustlou kůrou apothecií (22–38 µm při okraji, 35–65 (90) µm na bázi), většími silnostěnnými spórami (13,0–17,5 × 8,0–11,0 µm) a zpravidla černou barvou disků s pigmentem částečně pronikajícím až na stélkový okraj plodnic. Anatomicky je téměř shodná *L. hybocarpa*, která má silnější vroubkovaný okraj apothecií a často narůžovělé disky. Makroskopicky poněkud připomíná světle pigmentovanou *L. argentata*. Západoevropská *Lecanora sinuosa* silně připomíná extrémní morfotyp *L. pulicaris*, ale liší se silnou bradavičnatou stélkou, velice silným, zvlňným, hrubým až vroubkovaným okrajem, který je nápadně vyvýšený nad disky, narůžovělými disky, které jsou jen málo otevřené a dle van Herka & Aptroota (1999) také přítomností gangleoidinu u některých položek.



Obr. 22. Rozšíření *Lecanora pulicaris* v ČR (● – recentní lokality, △ – do roku 1990).

3.10. Stručná charakteristika dalších středoevropských taxonů

Lecanora barkmaniana Aptroot & Herk (1999)

Zpravidla sterilní druh vyznačující se v mládí bodovitými sorály, které později splývají a pokrývají celou stélku, zelenavými sorádiemi, plodnicemi se silně vroubkovaným a někdy sorediálním okrajem, velkými krystaly v amphitheciu, tenkou neželatinózní kůrou, *chlarotera*-typem epihymenia a ojedinělou tvorbou drobných spór ($7-10 \times 3-4 \mu\text{m}$). Charakteristická je chemie (atranorin a zeorin). Jedná se o nitrofilní druh, který roste především na hrubé borce dubu, topolu, jasanu a jilmu. Byl popsán z Nizozemska, kde je relativně hojný (Aptroot & van Herk 1999). Výskyt *L. barkmaniana* lze očekávat i v ČR. V této práci je poprvé uváděn ze Slovenska.

Lecanora circumborealis Brodo & Vitik. (1984)

Tato misnička je blízce příbuzná druhu *L. pulicaris*. Liší se úplnou absencí kyseliny fumarprotocetrarové, výrazně ztlustlou kůrou apothecií ($22-38 \mu\text{m}$ při okraji, $35-65$ (90) μm na bázi), většími silnostěnnými spórami ($13,0-17,5 \times 8,0-11,0 \mu\text{m}$) a zpravidla černou barvou disků s pigmentem částečně pronikajícím až na stélkový okraj plodnic. *L. circumborealis* je boreální taxon, který z České republiky nebyl spolehlivě doložen a pravděpodobně se zde nevyskytuje. V rámci Evropy je hojnější ve Skandinávii, asi jen vzácně roste v Alpách. Dává přednost kyselé borce (zvláště jehličnanů), může růst i na dřevě. Z ČR byl opakovaně publikován (cf. Vězda & Liška 1999), avšak většina údajů se vztahuje k *L. pulicaris*. Mnohé revidované položky z vyšších

poloh Krkonoš, Jizerských hor a Šumavy byly svými znaky přechodné mezi oběma taxony. Typická *L. circumborealis* ale nebyla nalezena a po prověření většího množství těchto sběrů a srovnání s typickými skandinávskými položkami považují takovéto typy za krajní formy *L. pulicaris*.

Lecanora farinaria Borrer (1834)

Převážně sterilní sorediózní druh, který je charakteristický areolovitou stélkou, ohraničenými až splývajícími sorály a obsahem kyseliny roccelové. Apothecia s převážně černými disky obsahují v amphitheciu velké krystaly, epihymenium je *pulicaris*-typu. V rámci studované skupiny jsou neobvyklým znakem široce elipsoidní až polokulovité spóry o rozměrech 14–17 × 7–15 µm. *L. farinaria* je převážně západ- a severoevropský taxon, který roste na kyselé kůře stromů a dřevě (Tønberg 1992, Edwards et al. 2009). Ze střední Evropy je uváděn pouze sterilní z Polska (Kukwa & Kubiak 2007) a Rakouska (Tønberg et al. 2001).

Lecanora hybocarpa (Tuck.) Brodo (1849)

L. hybocarpa je anatomicky v podstatě shodná s *L. pulicaris*, od které se liší především silnějším vroubkovaným až bradavičnatým okrajem apothecií, silnější stélkou, zpravidla světlejší barvou disků a dle práce Ryan et al. (2004) také užšími spórami a světlejší barvou epihymenia. Makroskopicky nejvíce připomíná *L. argentata* s bledě zbarvenými plodnicemi. Vyskytuje se převážně na kůře listnáčů (Brodo 1984). Van Herk & Aptroot (1999) uvádějí tento druh také ze západního Německa. V Evropě roste v západní části kontinentu (Ryan et al. 2004). V Severní Americe je to nejhojnější zástupce skupiny *L. subfusca* (Brodo 1984). V Suzově herbáři v PRM byl nalezen jeden nelokalizovaný sběr náležící k tomuto taxonu, který pochází z herbáře G. W. Körbera. Nelze vyloučit, že se jedná o lišejník sbíraný ve středoevropské oblasti.

Lecanora insignis Degel. (1942)

Taxon charakteristický v mládí zanořenými apothecií, bradavičnatým nesouvislým okrajem, epihymeniem s hrubými granulami a obsahem pannarinu (Pd+ červeně), velkými krystaly v amphitheciu a velkými silnostěnnými spórami o rozměrech 15,0–20,0 × 10,0–12,0 µm. Výskyt této misničky je vázán na kůru jehličnanů (jedle, smrk). Roste v zachovalých jedlo-smrkobukových lesích v oblastech s vlhkým suboceanickým klimatem. Celosvětově se jedná se o velmi vzácný taxon blíže příbuzný *L. cinereofusca*, který byl delší dobu známý jen z omezeného počtu lokalit v Alpách a Apalačského pohoří v USA (Schauer & Brodo 1966, Brodo 1984). Recentně je udáván také z Indického subkontinentu (Upreti 1997) a jihovýchodní Asie (Aptroot & Sparrius 2003, Aptroot et al. 2007).

Lecanora praesistens Nyl. (1872)

L. praesistens se vyznačuje bradavičnatou stélkou, červenohnědými až černohnědými disky apothecií, bradavičnatým až slabě vroubkovaným okrajem, velkými krystaly v amphitheciu, *chlarotera*-typem epihymenia, vřeckami s 12–16 spórami a výtrusy o rozměrech 10,0–15,0 × 5,0–9,0 μm (Guderley & Lumbsch 1999). V testované položce z Černé Hory (GZU 176793) byly mimo uváděného atranorinu zjištěny také kyselina roccellová a *chlarotera*-unknown. Jedná se o vzácný horský druh rostoucí na borce listnatých dřevin, který je známý z Alp, Pyrenejí, Ukrajiny (Guderley & Lumbsch 1999, Kofler 1956), Skandinávie (Santesson et al. 2004) a nově z Černé Hory. Taxon *L. pleiospora* J. Steiner je dle studie Guderley & Lumbsch (1999) pouze synonymum k *L. praesistens*.

Lecanora salicicola H. Magn. (1939)

Druh podobající se *L. chlarotera*, který se liší především tenkým až mizejícím okrajem plodnic, tenkou stélkou, často narůžovělou až načervenalou barvou disků a částečně pigmentací a rozmístěným granulek v epihymeniu, které je hnědooranžové, červenohnědé nebo hnědé s granulkami nezřídka rozptýlenými mezi parafýzami v horní části hymenia (částečný přechod k *pulicaris*-typu, avšak s přihlédnutím k typu granulek se jedná o *chlarotera*-typ). Jako charakteristické látky byly zjištěny kyselina roccellová a *chlarotera*-unknown. Mimo tyto sekundární metabolity bývá u pol ožek z pěnišníků zjištěno několik (2 až 4) terpenoidů, které pocházejí z kůry těchto dřevin. *L. salicicola* je převážně vysokohorský taxon, který upřednostňuje tenké větvičky pěnišníků a vrb. Méně často roste také na bázích olší a bříz. V Alpách je hojný v nadmořských výškách mezi 1300 až 2000 m (Hinteregger et al. 1989). Dále se vyskytuje ve Skandinávii a nově byl zjištěn v Albánii.

Lecanora sinuosa Herk & Aptroot (1999)

Tato misnička je typická svou bradavičnatou stélkou, velice silným, zvlněným, hrubým až vroubkovaným okrajem, který je nápadně vyvýšený nad disky, téměř uzavřenými narůžovělými disky, početnými velkými krystaly v amphitheciu, zpravidla hnědým epihymeniem *pulicaris*-typu, spórami 13,0–17,0 × 7,5–9,0 μm, které dle mých pozorování nejsou u řady apothecií vyvinuty. Van Herk & Aptroot (1999) zaznamenali u části položek gangaleoidin. Naopak nezmiňují kyselinu roccellovou, kterou jsem detekoval u čtyř z pěti testovaných položek (včetně holotypu). *L. sinuosa* roste převážně na borce dubů na otevřených stanovištích. Toleruje eutrofizaci. Mimo Nizozemska, odkud byla popsána, je uváděna ze severozápadního Německa (van Herk & Aptroot 1999). Tento taxon se anatomicky i chemicky velice podobá druhům *L. hybocarpa* a *L. pulicaris*. Nelze vyloučit, že se jedná o extrémní formu jednoho z těchto taxonů.

3.11. Klíč k určování zástupců skupiny *Lecanora subfusca* v ČR

- 1a. stélka sorediózní2
- 1b. stélka nesorediázní4
- 2a. stélka obsahuje specifické terpenoidy *allophana*-unknowns, sorály většinou ohraničené a polokulovité, soredie moučnaté, apothecia nezřídka přítomna, zpravidla větší než 1,0 mm a obsahující velké spóry, na úživné borce ***L. allophana* f. *sorediata***
- 2b. stélka obsahuje pouze samotný atranorin, popř. mastné kyseliny, sorály ohraničené, někdy splývající, jen vzácně polokulovité, soredie víceméně granulózní, apothecia vzácná, spóry nejsou vyvinuty nebo jen drobné3
- 3a. ve stélce pouze samotný atranorin, sorály často žlutavé, v mládí prohlubňovité, na úživné borce volně stojících stromů ***L. impudens***
- 3b. mastné kyseliny (alespoň kys. roccellová) vždy přítomny, starší sorály neohraničené až splývající, upřednostňuje kyselou borku, charakteristický druh tenkých větviček ve vysokohorských polohách..... ***L. exspersa***
(3c. zeorin přítomný, mastné kyseliny chybí, eutrofní borka, předpokládaný výskyt v ČR..... *L. barkmaniana*)
- 4a. okraj apothecií Pd+ oranžově až červeně5
- 4b. okraj apothecií Pd-6
- 5a. okraj plodnic víceméně hladký, apothecia přisedlá, epihymenium *pulicaris*-typu, na řezu Pd-; široce rozšířený druh ***L. pulicaris***
- 5b. okraj plodnice nápadně vroubkovaný, mladá apothecia zanořená, epihymenium *chlarotera*-typ, na řezu Pd+ červeně; v ČR vyhynulý taxon vázaný na pralesovité porosty ***L. cinereofusca***
- 6a. amphithecium s drobnými krystaly (*allophana* nebo *campestris*-typ), stélka obsahuje specifické terpenoidy, vzácné druhy7
- 6b. amphithecium s velkými krystaly (*pulicaris*-typ), terpenoidy zpravidla chybí, s výjimkou *L. cinereofusca* běžné druhy.....9
- 7a. apothecia nápadně velká, 1,0–2,0 mm v průměru, zúžená na bázi, s relativně silným okrajem, spóry 14–20 × 8–11 μm, obsahuje terpenoidy *allophana*-unknowns, na úživné borce
..... ***L. allophana***
- 7b. apothecia menší, přisedlá, okraj většinou tenký spóry, 11–16 x 6–9 μm, terpenoidy *allophana*-unknowns vždy chybí, borka různých dřevin, popř. dřevo8
- 8a. hlavní sekundární metabolity *glabrata*-unknowns, kůra amphithecia nezřetelně oddělená od dřevě (*allophana*-typ), s pronikajícími krystaly, apothecia většinou drobná, 0,4–0,8 mm v průměru, preferuje hladkou kyselou borku ***L. glabrata***
- 8b. hlavní sekundární metabolity *grantii*-unknowns, kůra amphithecia zřetelně oddělená od dřevě (*campestris*-typ), bez krystalů, apothecia větší, 0,5–1,2 mm v průměru, v ČR vyhynulý druh zaznamenaný na dřevě ***L. horiza***

- 9a. epihymenium bez granulek, s jasně oranžovým až červenooranžovým pigmentem, který se většinou nerozpouští v KOH, okraj apothecií nejčastěji slabě vroubkovaný, gangaleodin přítomný v naprosté většině položek, upřednostňuje hladkou kyselou borku *L. argentata*
- 9b. epihymenium granulózní (*chlarotera* nebo *pulicaris*-typ), hnědočervené až tmavě hnědé 10
- 10a. epihymenium nejčastěji hnědočervené, s jemnými granulami (*pulicaris*-typ), granulky přítomné hojně i mezi parafýzami, nerozpustné v koncentrované HNO₃, okraj apothecií většinou hladký, stélka často nápadně tenká, gangaleodin vždy chybí, různé typy substrátů
..... *L. pulicaris*
- 10b. epihymenium s hrubými granulami převážně na povrchu parafýz (*chlarotera*-typ), pomalu rozpustnými v koncentrované HNO₃, okraj apothecií alespoň slabě vroubkovaný, stélka většinou silná 11
- 11a. apothecia v mládí zanořená, disky s červeným odstínem, okraj nápadně vroubkovaný, epihymenium červenohnědé, Pd+ červeně (obsahuje pannarin), epihymeniální granulky často jen řídké roztroušené *L. cinereofusca*
- 11b. apothecia přisedlá, disky nejčastěji světle hnědé nebo narůžovělé, okraj mírně vroubkovaný, epihymenium zpravidla hnědé, Pd-, *chlarotera*-unknown vždy přítomná, běžně především na bazičtější borce *L. chlarotera*

4. DISKUZE

4.1. Srovnání diverzity s okolními státy

V České republice bylo zaznamenáno celkem devět zástupců studované skupiny. Nebudeme-li počítat extrémní formy označované v některých případech samostatnými jmény, ze Slovenska je známo deset (Pišút et al. 1996; Hazslinsky 1884, výsledky této práce) a z Polska devět epifytických druhů (Fałtynowicz 2003, Kukwa & Kubiak 2007). Ze středoevropských států mají jednoznačně nejvyšší diverzitu Rakousko se 14 taxony (Hafellner & Türk 2001, Tønsberg et al. 2001) a Německo, odkud je uváděno dokonce 15 druhů (Wirth et al. 2011). Vyšší druhovou rozmanitost v Rakousku a Německu způsobuje především výskyt některých vysokohorských druhů (*L. expansa*, *L. salicicola*, *L. praesistens*), lišejníků vázaných na přirozené listnaté lesy horských poloh v klimaticky velmi vlhkých oblastech (*L. cinereofusca*, *L. insignis*) a ojedinělé pronikání převážně západoevropských taxonů (*L. farinaria*, *L. hybocarpa*, *L. sinuosa*). Naopak z Estonska, kde byla skupina *L. subfusca* podrobně zmapována, je uváděno pouze sedm epifytických zástupců (Jüriado 1998).

4.2. Teorie extrémních forem

Tato problematika se v lichenologické literatuře objevuje jen velice zřídka. Větší část novějších prací podrobněji zmiňujících skupinu *L. subfusca* (např. Jüriado 1998, Ibáñez & Burgaz 1998, Ryan et al. 2004, Edwards et al. 2009) se alespoň v případě jednoho z druhů přiklání k názoru, že taxony *L. rugosella* a *L. subrugosa* jsou pouze formy od *L. chlarotera* a *L. argentata*. U *L. subrugosa* studovali danou problematiku Lumbsch & Feige (1996), kteří poukazují na vliv substrátu na morfologickou variabilitu tohoto taxonu, a považují ji proto za synonymum k *L. argentata*. Stejní autoři (Lumbsch & Feige 1994) zmiňují také *L. rugosella* pouze jako formu druhu *L. chlarotera*. Vazba extrémních forem na typy prostředí a substrátu byla pozorována také v případě České republiky. Prvotní molekulární data získaná během mé studie tyto domněnky potvrzují. Podobnou morfologickou variabilitu zapříčiněnou substrátem pozoroval také J. Poelt u skupiny *L. dispersa* (Lumbsch & Feige 1996).

Zajímavým výsledkem jedné recentní studie je statisticky průkazný vliv pH půdy na morfologickou variabilitu taxonů *Cladonia pocillum* a *C. pyxidata*, které jsou na základě sekvence ITS rDNA považovány za jediný druh (Kotelko & Piercey-Normore 2010). Mezi lišejníky se zřejmě bude vyskytovat více případů, kdy je extrémní morfologická a popřípadě i anatomická variabilita podmíněna substrátem či ekologií. V mnohých případech se může jednat i o ekofyziologické adaptace. To prokázali na základě revize haplotypů u druhu *Cetraria aculeata* Pérez-Ortega et al. (2012). Tato puklérka vytváří morfologicky a částečně i anatomicky odlišné formy přizpůsobené k životní strategii stepního běžce, avšak geneticky náleží tento extrémní typ k *C. aculeata* s. str. Morfologicky i anatomicky rozdílné formy podmíněné typem mikrohabitatu prozkoumal Kunkel (1980) u *Aspicilia desertorum* v USA. Tyto rozdíly považuje pouze za evolučně výhodné formy adaptované k různorodým ekologickým podmínkám. Také Tønsberg (1992) zaznamenal u některých sorediózních druhů tvorbu extrémních forem, která je vázána na nápadně eutrofizované biotopy v okolí silnic nebo na místech dotovaných živinami ze zemědělství.

4.3. Chemotaxonomie

Sekundární metabolity patří u mnoha skupin lišejníků k primárním znakům odlišujícím jednotlivé druhy. Příkladem mohou být některé skupiny v rámci rodu *Cladonia* (cf. Stenroos 1989, Kowalewska et al. 2008) a *Usnea* (Randlane 2009), rody *Lepraria* (Kukwa 2006, Saag et al. 2009), *Bryoria* (Brodo & Hawksworth 1977) a *Ochrolechia* (Kukwa 2011). Také v rámci rodu *Lecanora* je velké množství znaků založeno na chemických látkách (cf. Leuckert & Poelt 1989, Lumbsch et al. 1997, L. aundon 2003 atd.). V případě skupiny *L. subfusca* klade velký důraz na sekundární metabolity Guderley (1999) u jiho- a středoamerických taxonů a Lumbsch (1994) u

australskoasijských druhů. Brodo (1984) využívá sekundární metabolity spíše jako doprovodné charakteristiky (zvláště v případě zástupců rostoucích na území Evropy). U starších prací z území Evropy (např. Magnusson 1932, Poelt 1952, Clauzade 1953) chemické charakteristiky zpravidla chybí nebo jsou omezeny pouze na základní stélkové reakce, u novějších jsou chápány také spíše jako doprovodné (Ibáñez & Burgaz 1998, Juriado 1998). Výjimku tvoří sorediózní druhy, kde jsou lišejníkové látky většinou využívány jako hlavní determinační znak (cf. Tønsberg 1992, Brodo et al. 1994, Aptroot & van Herk 1999). Na základě podrobného prověření sekundárních metabolitů pomocí chromatografických metod považují chemické znaky u s tudované skupiny za velmi důležité a v mnohých případech za nezbytné k jistému určení druhu. Velice zajímavou skupinou sekundárních metabolitů jsou blíže neznámé terpenoidy, které vykazují značnou fytogeografickou variabilitu. Např. Brodo (1984) z území Severní Ameriky zmiňuje u *L. allophana* a *L. glabrata* občasný výskyt terpenoidů *grantii*-unknowns, které u s tudovaných evropských položek nebyly vůbec nalezeny. I v rámci Evropy vykazují variabilitu v přítomnosti terpenoidů např. *L. glabrata*. Tyto skutečnosti ještě zasluhují podrobnější studium založené na sběrech pokud možno z celého areálu jejich výskytu. Ke studiu sekundárních metabolitů se v praxi nejlépe hodí tenkovrstevná chromatografie, pomocí které lze celkem spolehlivě odhalit většinu obsažených látek. Kapalinová chromatografie za použití standardní metodiky (Feige et al. 1993) nedokáže detekovat mastné kyseliny a některé terpenoidy. Výhodou použití HPLC je možnost zjištění mnohých derivátů od majoritních substancí, které ale s velkou pravděpodobností nemají žádný taxonomický význam.

4.4. Rozšíření, ekologie a změny substrátových preferencí

V úvahách o rozšíření jednotlivých druhů v ČR se kvůli velmi častým chybám v determinaci nelze spoléhat na literární údaje. Příkladem jsou publikovaná data u *L. allophana* (ut *L. subfusca* var. *allophana*) a *L. glabrata* (ut *L. subfusca* var. *glabrata*) (Vězda & Liška 1999), z nichž drtivá většina se ve skutečnosti vztahuje k jiným druhům. Celkově ale můžeme nalézt značné rozdíly v četnosti některých zástupců skupiny v ČR a okolních státech. *L. allophana* i *L. glabrata* rostou poměrně hojně v některých částech Rakouska a Slovenska. Také v Badensku-Württenbersku je *L. allophana* relativně běžným druhem (cf. Wirth 1995). Za hlavní příčiny vzácného výskytu na našem území v současnosti lze považovat rozsáhlý dopad kyselých dešťů a znečištění ovzduší, eutrofizaci krajiny a nedostatek vhodných biotopů v mnohých částech ČR (zvláště vlivem intenzivního hospodářského využívání krajiny). Hojnější výskyt *L. cinereofusca* a *L. exspersa* v sousedním Rakousku (cf. Schauer & Brodo 1966 a Hinteregger 1994) je dán opět nedostatkem vhodných biotopů, kterými jsou v tomto případě přirozené (až pralesovité) vlhké listnaté lesy a alpinské bezlesí s dominancí keřů.

Výraznější změny v rozšíření jednotlivých zástupců skupiny můžeme pozorovat asi pouze u třech druhů. V případě *L. allophana* a *L. chlarotera* se jedná o úbytek počtu lokalit. *Lecanora pulicaris* se naopak mírně rozšířila ve srovnání s minulostí. Změnami v rozšíření citlivých epifytických a několika dalších lišejníků v ČR se podrobně zabývali Liška et al. (1996, 1998a, 1998b a 2006). Za hlavní příčiny ústupu studovaných druhů považují znečištění ovzduší, intenzifikaci lesnického hospodaření a destrukci biotopů. Zdůrazňují také význam Šumavy jakožto refugia ohrožených lišejníků. Z podobných důvodů vymizely také *L. allophana* a *L. chlarotera*. Protože se jedná převážně o druhy otevřené krajiny, největší vliv měla acidifikace borky dřevin a v posledních desetiletích také stále intenzivnější eutrofizace, kterou tyto druhy tolerují jen do určité míry. Naopak okyselení kůry přispělo k expanzi *L. pulicaris*, která tak mohla osídlit širší spektrum substrátů. Přibývání počtu lokalit a kolonizace uvolněných nik v posledních letech, které u některých vzácných epifytů popisuje Syrovátková (2009), nebyly prozatím u studované skupiny pozorovány. Důvodem je patrně převažující šíření askospórami, zatímco pro navracející se lišejníky je charakteristické šíření pomocí vegetativních částic (izidie, sorédie, fragmenty stélek).

Vzhledem k velkému počtu dat jsem se více zaměřil na substrátovou preferenci a její změny u druhu *L. pulicaris*. Tento lišejník našel vhodné podmínky i volné niky na okyselené borce stromů s jinak mírně kyselou až subneutrální kůrou, na nichž za normálních podmínek neroste. V oblastech nejméně postižených znečištěním ovzduší (např. na Šumavě) se *L. pulicaris* stále vyskytuje hojně na jehličnanech s velmi kyselou borkou, což je v severní polovině ČR i nyní ojedinělý jev. Výskytu acidofilních lišejníků na subneutrální borce dřevin vlivem znečištění si povšimli již Türk & Wirth (1975). Na našem území pozorovali posun rozšíření citlivých epifytických druhů z jehličnatých dřevin na listnáče Liška et al. (1996) a v případě vzácného druhu *Biatora fallax* také Printzen & Palice (1999). Průměrné snížení pH borky dřevin v severní polovině (až dvou třetinách) našeho státu vychází okolo hodnoty 1,25. V horských oblastech Čech, které byly kyselými dešti zasaženy nejvíce, zřejmě hodnota pH klesla ještě výrazně více. K podobným výsledkům došli např. Johnsen & Søchting (1973) na území Kodaně, kteří vlivem znečištění oxidem siřičitým zjistili pokles pH z 5,0 na 3,0. Pro výskyt lišejníků je všeobecně zřejmě důležitější druh dřeviny nežli přímo pH borky (Spier et al. 2010). S tím také souvisejí rozdílné pufrací kapacity kůry jednotlivých dřevin (cf. Johnsen & Søchting 1973). Všeobecně lze ale říci, že pH patří k nejdůležitějším vlastnostem borky, protože přímo ovlivňuje množství dostupného vápníku v substrátu (Gauslaa 1985), jehož přítomnost podobně jako u cévnatých rostlin podmiňuje druhové složení a diverzitu lišejníkových společenstev. V případě *L. pulicaris*, která se vyznačuje širokou ekologickou amplitudou, jsem vliv druhu dřeviny na výskyt této misničky nepozoroval.

4.5. Fylogeneze

V rámci rodu *Lecanora* existují pouze tři studie, jež se podrobněji zabývají fylogenezí určité skupiny, kterou rekonstruují pomocí ITS rDNA genu. Skupinou *L. rupicola* a některými dalšími druhy s ojíněnými disky se zabývali Grube et al. (2004). Velice propracovanou studii s řadou cenných taxonomických dat publikovali Pérez-Ortega et al. (2010) o skupině *L. varia*. Obě tyto práce včetně mých předběžných výsledků ukazují, že ITS sekvence je vhodná pro studium jednotlivých skupin rodu a k řešení taxonomických problémů. K méně jednoznačným výsledkům v rámci vybraných taxonů skupiny *L. dispersa* došli Sliwa et al. (2012). Využití úseku ITS k rekonstrukci fylogeneze bývá někdy kritizováno z důvodu přítomnosti množství kopií v genomu, které se mohou vzájemně lišit (Poczai & Hyvönen 2010, Printzen 2010). Na druhou stranu je v taxonomické problematice ITS prozatím nejvhodnějším markerem (Kelly et al. 2011, Schoch et al. 2012). V případě rodu *Lecanora* je tento gen velice variabilní, proto se zpravidla nápadně liší i v rámci blízké příbuzných druhů. Použití samotného ITS však nelze doporučit k rekonstrukci fylogeneze v rámci celého rodu, a sice právě kvůli jeho značné variabilitě. O takovou rekonstrukci se orientačně pokusili Rodrigues et al. (2011) z důvodu ukázání pozice nově popsaného taxonu *L. sorediomarginata*. Meziskupinové vztahy na fylogenetickém stromě publikovaném těmito autory nejsou téměř vůbec patrné. Srovnání fylogeneze založené na analýze jiného genu není prozatím možné z důvodu absence takových dat.

5. ZÁVĚR

Celkem bylo prověřeno 1262 položek, z nichž 852 pochází z území České republiky. 251 sběrů provedl sám autor. Pomocí tenkovrstevné chromatografie bylo analyzováno téměř 400 položek (z toho přibližně 300 z území ČR). *Lecanora cinereofusca* a *L. exspersa* jsou zde uváděny vůbec poprvé z území České republiky. Výskyt severského taxonu *L. circumborealis* nebyl na našem území potvrzen a považuji ho za nepravděpodobný. Také literární údaje o výskytu *L. horiza* v ČR byly mylné, avšak v herbářích byly nalezeny dvě historické položky náležící k tomuto taxonu. Celkem je tedy z území České republiky známo devět epifytických zástupců této skupiny. Běžnými druhy jsou *L. argentata*, *L. chlarotera* a *L. pulicaris*. Za vzácné lze považovat *L. allophana*, *L. glabrata* a *L. impudens*. Z jediné lokality je známa *L. exspersa*. K vyhynulým druhům se řadí *L. cinereofusca* a *L. horiza*. Během revize položek jsem zaznamenal také několik nových druhů pro další evropské státy. *L. barkmaniana* byla zaznamenána jako nová pro Slovensko, *L. praesistens* pro Černou Horu, *L. chlarotera*, *L. glabrata* a *L. salicicola* pro Albánii, *L. cinereofusca* pro Turecko, *L. horiza* pro Ukrajinu a *L. argentata*, *L. chlarotera* a *L. glabrata* pro Makedonii. Naopak jediná známá položka *L. exspersa* ze Slovenska ve skutečnosti náleží druhu *L. pulicaris*.

Ze seznamu lišejníků ČR navrhuji vyloučit taxony *L. rugosella* a *L. subrugosa*, které v rámci střední Evropy považuji pouze za extrémní formy druhů *L. chlarotera* a *L. argentata*. V případě *L. subrugosa* tuto domněnku potvrdily také molekulární analýzy založené na ITS rDNA genu. Tyto extrémní formy jsou podmíněny převážně ekologicky – vyskytují se v místech se z výšeným obsahem živin. Pozoroval jsem je také u druhů *L. glabrata* a *L. pulicaris*. Během podrobného průzkumu sekundárních metabolitů bylo zjištěno několik doposud neuváděných a zcela neznámých látek, z nichž prakticky všechny mají taxonomický význam a mohou výrazně pomáhat při determinaci jednotlivých druhů. Pravděpodobně všechny tyto metabolity patří do skupiny terpenoidů. K jejich rozlišení se velmi hodí tenkovrstevná chromatografie, která se v rámci Evropy doposud jen zřídka využívala při určování zástupců studované skupiny.

Během studie ekologických preferencí jsem zaznamenal významné rozdíly u jednotlivých druhů. Některé jednoznačně upřednostňují otevřenou krajinu a stromy s úživnější borkou (*L. allophana*, *L. chlarotera*, *L. impudens*), jiné preferují lesní krajinu a stromy s mírně kyselou hladkou kůrou (*L. argentata*, *L. glabrata*). *L. cinereofusca* patří k velmi vyhraněným druhům vázaným na přirozené podhorské a horské vlhké lesy, *L. exspersa* je převážně vysokohorský druh rostoucí na tenkých větvičkách některých dřevin a *L. pulicaris* je široce rozšířený taxon na různých stanovištích i substrátech. Ačkoli *L. pulicaris* je primárně acidofilní lišejník, následkem kyselých dešťů a s tím související acidifikací substrátů se široce rozšířil také na subneutrální borku a pravděpodobně je v současnosti hojnější než dříve. Naopak druhy extenzivně obhospodařované otevřené krajiny preferující stromy s úživnou borkou více či méně ustoupily, a to zvláště v případě druhu *L. allophana*.

V orientační fylogenetické analýze jsou s vysokou podporou odděleny druhy s velkými krystaly v amphitheciu (např. *L. argentata*) od druhů s malými krystaly (např. *L. allophana*). Obě skupiny se dle sekvencí ITS rDNA výrazně liší. Velikost krystalů šťavelanu vápenatého v plodnicích se ukazuje jako významný fylogenetický znak. Skupina druhů s malými krystaly je také výrazně odlišná i po chemické stránce.

6. LITERATURA

- Acharius E. (1810): *Lichenographia Universalis*. – Daneckwerts, Gottingae, 689 pp.
- Aptroot A. & Sparrius L. B. (2003): New microlichens from Taiwan. – *Fungal Diversity* 14: 1–50.
- Aptroot A. & van Herk C. M. (1999): *Lecanora barkmaneana*, a new nitrophilous sorediate corticolous lichen from the Netherlands. – *Lichenologist*, 31: 3–8.

- Aptroot A., Saipunkaew W., Sipman H. J. M., Sparrius L. B. & Wolseley P. A. (2007): New lichens from Thailand, mainly microlichens from Chiang Mai. – *Fungal Diversity*, 24: 75–134.
- Arup U. & Grube M. (2000): Is *Rhizoplaca* (Lecanorales, lichenized Ascomycota) a monophyletic genus? – *Canadian Journal of Botany*, 78: 318–327.
- Barkman J. J. (1958): Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. – Van Gorcum, Assen, 628 pp.
- Bates J. W. & Brown D. H. (1981): Epiphyte differentiation between *Quercus petraea* and *Fraxinus excelsior* trees in a maritime area of South West England. – *Plant Ecology*, 48: 61–70.
- Bates J. W., Bell J. N. B. & Massara A. C. (2001): Loss of *Lecanora conizaeoides* and other fluctuations of epiphytes on oak in S.E. England over 21 years with declining SO₂ concentrations. – *Atmospheric Environment*, 35: 2557–2568.
- Bibinger H. (1967): Soziologisch-ökologische Untersuchungen der oberrheinischen epiphytischen Flechtenvegetation unter besonderer Berücksichtigung des Standortsfaktors Stickstoff. – Diss. Freiburg i. Br., pp. 195.
- Brodo I. M. (1984): The North American species of the *Lecanora subfusca* group. – In: Hertel H. & Oberwinkler F. (eds), Beiträge zur Lichenologie. Festschrift J. Poelt. Beiheft zur Nova Hedwigia 79, p. 63–185.
- Brodo I. M. & Hawksworth D. L. (1977): *Alectoria* and allied genera in North America. – *Opera Bot.*, 42: 1–164.
- Brodo I. M. & Vitikainen O. (1984): The typification of *Lecanora subfusca* (L.) Ach., its varieties, and some of its related taxa published before 1850. – *Mycotaxon*, 21: 281–298.
- Brodo I. M., Owe-Larsson B. & Lumbsch H. T. (1994): The sorediate, saxicolous species of the *Lecanora subfusca* group in Europe. – *Nord. J. Bot.*, 14: 451–461.
- Clauzade G. (1953): Quelques remarques au sujet des Lichens corticoles du groupe „*Lecanora subfusca*“. – *Bull. Soc. Linn. Provence*, 19: 1–8.
- Clauzade G. & Roux C. (1985): Likenoj de Okcidenta Europo. Ilustrita Determinlibro. – *Bull. Soc. Bot. Centre-Ouest, Nouv. Sér., Num. Spéc.*, 7: 1–891.
- Culberson C. F. (1972): Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method. – *J. Chromatogr.*, 72: 113–125.
- Diederich P. & Sérusiaux E. (2000): The lichens and lichenicolous fungi of Belgium and Luxembourg. An annotated checklist. – Musée national d'histoire naturelle, Luxembourg, 208 pp.
- Edwards B., Aptroot A., Hawksworth D. L. & James P. W. (2009): *Lecanora* Ach. in Luyken (1809). – In: Smith C. W. et al. [eds.], *The Lichens of Great Britain and Ireland*, The British Lichen Society, London, p. 465–502.
- Elix J. A. & Lumbsch H. T. (1996): The chemistry of some species of *Lecanora* sensu stricto (Lecanorales, lichenized Ascomycotina). – *Mycotaxon*, 59: 309–317.

- Elix J. A. & Stocker-Wörgötter E. (2008): Biochemistry and secondary metabolites. – In: Nash T. H. (ed.), *Lichen Biology*, Cambridge University Press, p. 104–133.
- Elix J. A., Venables D. A., Lumbsch H. T. & Brako L. (1994): Further new metabolites from lichens. – *Australian Journal of Chemistry* 47: 1619–1623.
- Erichsen C. F. E. (1936): Pertusariaceae. – In: Rabenhorst's *Krypt.-Fl.*, Band 9, Abt. 5/1, p. 319–728, Leipzig.
- Erichsen C. F. E. (1940): Neue Pertusarien nebst Mitteilungen über die geographische Verbreitung der europäischen Arten. – *Ann. Mycol.*, Berlin, 38: 321–337.
- Fałtynowicz W. (2003): The lichens, lichenicolous and allied fungi of Poland. An annotated checklist. – W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, 435 pp.
- Feige G. B., Lumbsch H. T., Huneck S. & Elix J. A. (1993): Identification of lichen substance by a standardized high-performance liquid chromatographic method. – *Journal of Chromatography*, 646: 417–427.
- Frahm J. P. & Erler D. (2009): Orientierende Untersuchungen zur Wirkung der Staubimprägnierung von Borken auf epiphytische Flechten. – *Archive for Lichenology*, 4: 1–5.
- Fritz Ö., Brunet J. & Caldiz M. (2009): Interacting effects of tree characteristics on the occurrence of rare epiphytes in a Swedish beech forest area. – *Bryologist*, 112: 488–505.
- Gardes M. & Bruns T. D. (1993): ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. – *Molecular Ecology*, 2: 113–118.
- Gärtner G. (1985): Taxonomische Probleme bei den Flechtenalgengattungen *Trebouxia* und *Pseudotrebouxia* (Chlorophyceae, Chlorellales). – *Phyton*, 25: 101–111.
- Gauslaa Y. (1985): Ecology of *Lobarion pulmonariae* and *Parmelion caperatae* in *Quercus* dominated forests in south-west Norway. – *Lichenologist*, 17: 117–140.
- Giez I., Lange O. L. & Proksch P. (1994): Growth retarding activity of lichen substances against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. – *Biochemical Systematics and Ecology*, 22: 113–120.
- Grube M., Baloch E. & Arup U. (2004): A phylogenetic study of the *Lecanora rupicola* group (Lecanoraceae, Ascomycota). – *Mycol. Res.*, 108: 506–514.
- Guderley R. (1999): Die *Lecanora subfusca*-Gruppe in Süd- und Mittelamerika. – *J. Hattori Bot. Lab.*, 87: 131–257.
- Guderley R. & Lumbsch H. T. (1999): Notes on multispored species of *Lecanora* sensu stricto. – *Lichenologist*, 31: 197–203.
- Hafellner J. & Türk R. (2001): Die lichenisierten Pilze Österreichs – eine Checkliste der bisher nachgewiesenen Arten mit Verbreitungsangaben. – *Stapfia*, 76: 3–167.
- Haldane J. B. S. (1945): On a Method of Estimating Frequencies. – *Biometrika*, 33: 222–225.

- Hauck M., Javkhlan S., Lkhagvadorj D., Bayartogtokh B., Dulamsuren C. & Leuschner C. (2012): Edge and land-use effects on epiphytic lichen diversity in the forest-steppe ecotone of the Mongolian Altai. – *Flora*, 207: 450–458.
- Hawksworth D. L. & Rose F. (1976): *Lichens as Pollution Monitors*. – Edward Arnold, London.
- Hazslinsky F. (1884): *A Magyar birodalom zuzmó-flórája*. Kir. – Magyar Term. Társ. Évk., Budapest, 304 pp.
- van Herk C. M. (2001): Bark pH and susceptibility to toxic air pollutants as independent causes of changes in epiphytic lichen composition in space and time. – *Lichenologist*, 33: 419–441.
- van Herk C. M. & Aptroot A. (1999): *Lecanora compallens* and *L. sinuosa*, two new overlooked corticolous lichen species from western Europe. – *Lichenologist*, 31: 543–553.
- van Herk C. M., Mathijssen-Spiekman E. A. M. & de Zwart D. (2003): Long distance nitrogen air pollution effects on lichens in Europe. – *Lichenologist*, 35: 347–359.
- Hinteregger E. (1994): Krustenflechten auf den Rhododendron-Arten (*Rh. ferrugineum* und *Rh. hirsutum*) der Ostalpen unter besonderer Berücksichtigung einiger Arten der Gattung *Biatora*. – *Bibliotheca Lichenologica*, 55: 1–346.
- Hinteregger E., Mayrhofer H. & Poelt J. (1989): Die Flechten der Alpenrosen in der Ostalpen (*Rhododendron ferrugineum* und *Rh. hirsutum*). I. Einige Arten der Gattungen *Lecanora* und *Lecidea*. – *Mitt. naturwiss. Ver. Steiermark*, 119: 83–102.
- Hue [A.] (1903): Causerie sur le *Lecanora subfusca* Ach. – *Bull. Soc. Bot. France*, 50: 22–86.
- Huneck S. (1999): The significance of lichens and their metabolites. – *Naturwissenschaften*, 86: 559–570.
- Huneck S. & Yoshimura I. (1996): *Identification of lichen substances*. – Springer, Heidelberg, 493 pp.
- Ibáñez I. & Burgaz A. R. (1998): Epiphytic species of the *Lecanora subfusca* group (Lecanoraceae) in Spain. – *Nova Hedwigia*, 67: 45–58.
- Imshaug I. M. & Brodo I. M. (1966): Biosystematic studies on *Lecanora pallida* and some related lichens in the Americas. – *Nova Hedwigia*, 12: 1–59.
- Johnsen I. & Söchting U. (1973): Influence of air pollution on the epiphytic lichen vegetation and bark properties of deciduous trees in the Copenhagen area. – *Oikos*, 24: 344–351.
- Jüriado I. (1998): A revision of the *Lecanora subfusca* group in Estonia. – *Folia Cryptog. Estonica*, 32: 15–20.
- Kelly L. J., Hollingsworth P. M., Coppins B. J., Ellis C. J., Harrold P., Tosh J. & Yahr R. (2011): DNA barcoding of lichenized fungi demonstrates high identification success in a floristic context. – *New Phytologist*, 191: 288–300.
- Kimura M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. – *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111–120.

- Kocourková J. (2000): Lichenicolous fungi of the Czech Republic. – Acta Mus. Nat. Pragae, Ser. B., Hist. Natur., 55 (1999): 59–169.
- Kofler L. (1956): Remarques sur les *Lecanora* corticoles du groupe *subfusca*. Leur répartition dans les Alpes du Dauphiné. – Rev. Bryol. Lichen., 25: 167–182.
- Kotelko R. & Piercey-Normore M. D. (2010): *Cladonia pyxidata* and *C. pocillum*; genetic evidence to regard them as conspecific. – Mycologia, 102: 534–545.
- Kowalewska A., Kukwa M., Ostrowska I., Jabłońska A., Oset M. & Szok J. (2008): The lichens of the *Cladonia pyxidata-chlorophaea* group and allied species in Poland. – Herzogia, 21: 61–78.
- Kukwa M. & Kubiak D. (2007): Six sorediate crustose lichens new to Poland. – Mycotaxon, 102: 155–164.
- Kukwa M. (2006): The lichen genus *Lepraria* in Poland. – Lichenologist, 38: 293–305.
- Kukwa M. (2011): The lichen genus *Ochrolechia* in Europe. – Fundacja Rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, 309 pp.
- Kunkel G. (1980): Microhabitat and structural variation in the *Aspicilia desertorum* group (lichenized Ascomycetes). – American Journal of Botany, 67: 1137–1144.
- Laundon J. R. (2003): Six lichens of the *Lecanora varia* group. – Nova Hedwigia, 76: 83–111.
- Leuckert C. & Poelt J. (1989): Studien über *Lecanora rupicola*-Gruppe in Europa (Lecanoraceae). – Nova Hedwigia, 49: 121–167.
- Liška J., Dětinský R. & Palice Z. (1996): Importance of the Šumava Mts. for the biodiversity of lichens in the Czech Republic. – Silva Gabreta, 1: 71–81.
- Liška J., Dětinský R. & Palice Z. (1998a): A project on distribution changes of lichens in the Czech Republic. – Sauteria, 9: 351–360.
- Liška J. & Palice Z. (2010): Červený seznam lišejníků České republiky (verze 1.1). – Příroda, 29: 3–66.
- Liška J., Palice Z. & Dětinský R. (1998b): Změny v rozšíření vzácných a ohrožených lišejníků v České republice I. – Příroda, 12: 131–144.
- Liška J., Palice Z., Dětinský R. & Vondrák J. (2006): Changes in distribution of rare and threatened lichens in the Czech Republic II. – In: Lackovičová A., Guttová A., Lisická E. & Lizoň P. (eds.), Central European lichens – diversity and threat, p. 241–258, Mycotaxon Ltd., Ithaca.
- Lumbsch H. T. (1994): Die *Lecanora subfusca*-Gruppe in Australasien. – J. Hattori Bot. Lab., 77: 1–175.
- Lumbsch H. T. (1995): A new species in the *Lecanora subfusca* group containing usnic acid in addition to atranorin. – Lichenologist, 27: 161–167.
- Lumbsch H. T. & Feige G. B. (1992): Comments on the exsiccata "Lecanoroid Lichens" I. – Mycotaxon, 45: 473–488.
- Lumbsch H. T. & Feige G. B. (1994): Comments on the exsiccata "Lecanoroid Lichens" II. – Mycotaxon, 52: 429–442.

- Lumbsch H. T. & Feige G. B. (1996): Comments on the exsiccat 'Lecanoroid lichens' III. – *Mycotaxon*, 58: 259–267.
- Lumbsch H. T., Feige G. B. & Elix J. A. (1994): Chemical variation in two species of the *Lecanora subfusca* group (Lecanoraceae, lichenized Ascomycotina). – *Plant Systematics and Evolution*, 191: 227–236.
- Lumbsch H. T., Guderley R. & Elix J. A. (1996): A revision of some species in *Lecanora* sensu stricto with a dark hypothecium (Lecanorales, Ascomycotina). – *Bryologist*, 99: 269–291.
- Lumbsch H. T., Plümper M., Guderley R. & Feige G. B. (1997): The corticolous species of *Lecanora* sensu stricto with pruinose apothecial discs. – *Acta Univ. Ups. Symb. Bot. Ups.*, 32: 131–162.
- Magnusson A. H. (1932): Beiträge zur Systematik der Flechtengruppe *Lecanora subfusca*. – *Meddel. Göteborgs Bot. Trädg.*, 7: 65–87.
- Makarevich M. F. (1971): *Lecanoras* from the „group *subfusca*“ in the Ukrainian S.S.R. – *Ukrainian Bot. J.*, 28: 161–166.
- Marmor L. & Randlane T. (2007): Effects of road traffic on bark pH and epiphytic lichens in Tallinn. – *Folia Cryptog. Estonica*, 43: 23–37.
- Mattsson J.-E. & Lumbsch H. T. (1989): The use of the species pair concept in lichen taxonomy. – *Taxon*, 38: 238–241.
- Miyawaki H. (1988): Studies on the *Lecanora subfusca* group in Japan. – *J. Hattori Bot. Lab.*, 64: 271–326.
- Motyka J. (1977): De nonnullis speciebus et de systemate genesis *Lecanora* Ach. (Lichenes). – *Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska, Sect. C*, 32: 125–137.
- Nimis P. L. & Skert N. (2006): Lichen chemistry and selective grazing by the coleopteran *Lasioderma serricorne*. – *Environmental and Experimental Botany*, 55: 175–182.
- Nylander W. (1866): Hypochlorite of Lime and Hydrate of Potash, two new criteria in the study of lichens. – *Journ. Linn. Soc. (Bot.)*, 9: 358–365.
- Nylander W. (1875): Addenda nova ad Lichenographiam Europaeam. Continuatio tertia et vicesima. – *Flora [Regensburg]*, 58: 440–448.
- Orange A., James P. W. & White F. J. (2001): *Microchemical Methods for the Identification of Lichens*. – British Lichen Society, 101 pp.
- Palice Z., Czarnota P., Kukwa M., Kocourková J., Berger F., Guttová A., Halda J., Peksa O., Uhlík P. & Svoboda D. (2003): Lišejníky zaznamenané během 9. jarního setkání Bryologicko-lichenologické sekce v Hajnici. – *Bryonora*, 32: 7–17.
- Palice Z., Guttová A. & Halda J. P. (2006): Lichens new for Slovakia collected in the National Park Muránska planina (W Carpathians). – In: Lackovičová A., Guttová A., Lisická E. & Lizoň P. (eds.), *Central European lichens – diversity and threat*, p. 179–192, Mycotaxon Ltd., Ithaca.

- Pérez-Ortega S., Fernández-Mendoza F., Raggio J., Vivas M., Ascaso C., Sancho L. G., Printzen C. & de los Ríos A. (2012): Extreme phenotypic variation in *Cetraria aculeata* (lichenized Ascomycota): adaptation or incidental modification? – *Annals of Botany*, 109: 1133–1148.
- Pérez-Ortega S., Spribille T., Palice Z., Elix J. A. & Printzen C. (2010): A molecular phylogeny of the *Lecanora varia* group, including a new species from western North America. – *Mycological Progress*, 9: 523–535.
- Pisút I., Lackovičová A. & Lisická E. (1996): A second checklist and bibliography of Slovak lichens. – *Biológia*, Bratislava, 51: 1–79.
- Poczai P. & Hyvönen J. (2010): Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: problems and prospects. – *Molecular Biology Reports*, 37: 1897–1912.
- Poelt J. (1952): Die *Lecanora subfusca*-Gruppe in Süddeutschland. – *Ber. Bayer. Bot. Ges.*, 29: 58–69.
- Poelt J. & Vězda A. (1981): Bestimmungsschlüssel europäischer Flechten II. – J. Cramer, 390 pp.
- Pöykkö H., Hyvärinen M. & Bačkor M. (2005): Removal of lichen secondary metabolites affects food choice and survival of lichenivorous moth larvae. – *Ecology*, 86: 2623–2632.
- Printzen C. (2010): Lichen Systematics: The Role of Morphological and Molecular Data to Reconstruct Phylogenetic Relationships. – *Progress in Botany*, 71: 233–275.
- Printzen C., Halda J., Palice Z. & Tønsberg T. (2002): New and interesting lichen record from old-growth forest stands in the German National Park Bayerischer Wald. – *Nova Hedwigia*, 74: 25–49.
- Printzen C. & Palice Z. (1999): The distribution, ecology and conservational status of the lichen genus *Biatora* in central Europe. – *Lichenologist*, 31: 319–335.
- Randlane T., Tõrra T., Saag A. & Saag L. (2009): Key to European *Usnea* species. – *Bibliotheca Lichenologica*, 100: 419–462.
- Rodrigues S.A., Terrón-Alfonso A., Elix J.A., Pérez-Ortega S., Tønsberg T., Fernández-Salegui A.B. & Soares A.M.V.M. (2011): *Lecanora sorediomarginata*, a new epiphytic lichen species discovered along the Portuguese coast. – *Lichenologist*, 43: 99–111.
- Roux C. (2012): Liste des lichens et champignons lichénicoles de France. Listo de la likenoj kaj nelikeniĝintaj fungoj de Francio. – *Bull. Soc. linn. Provence*, 16: 3–220.
- Ryan B. D., Lumbsch H. T., Messuti M. I., Printzen C., Śliwa L. & Nash T. H. III (2004): *Lecanora*. – In: Nash T. H. III et al. [eds.], *Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region*, Vol. 2. Lichens Unlimited, Arizona State University, Tempe, Arizona, p. 176–286.
- Saag L., Saag A. & Randlane T. (2009): World survey of the genus *Lepraria* (Stereocaulaceae, lichenized Ascomycota). – *Lichenologist*, 41: 25–60.
- Santesson R., Moberg R., Nordin A., Tønsberg T. & Vitikainen O. (2004): Lichen-forming and lichenicolous fungi of Fennoscandia. – *Museum of Evolution*, Uppsala University, 359 pp.

- Shapiro S. S. & Wilk M. B. (1965): An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52: 591–611.
- Schauer T. & Brodo I. M. (1966): *Lecanora insignis* und *L. degelii*. Zwei verwandte Flechten der Alpen und der Appalachen aus der *Lecanora subfusca*-Gruppe. – *Nova Hedwigia*, 11: 527–533.
- Schmull M., Miadlikowska J., Pelzer M., Stocker-Wörgötter E., Hofstetter V., Fraker E., Hodkinson B. P., Reeb V., Kukwa M., Lumbsch H.T., Kauff F. & Lutzoni F. (2011): Phylogenetic affiliations of members of the heterogeneous lichen-forming fungi of the genus *Lecidea* sensu Zahlbruckner (Lecanoromycetes, Ascomycota). – *Mycologia*, 103: 983–1003.
- Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L., Levesque C. A. & Chen W. (2012): Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. – *PNAS*, 109: 6241–6246.
- Schreiner E. & Hafellner J. (1992): Sorediose, corticole Krustenflechten im Ostalpenraum. I. Die Flechtenstoffe und die gesicherte Verbreitung der besser bekannten Arten. – *Bibl. Lichenol.*, 45: 1–291.
- Śliwa L., Miadlikowska J., Redelings B. D., Molnar K. & Lutzoni F. (2012): Are widespread morphospecies from the *Lecanora dispersa* group (lichen-forming Ascomycota) monophyletic?. – *Bryologist*, 115: 265–277.
- Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., Fletcher A., Gilbert O. L., James P. W. & Wolseley P. A. [eds.] (2009): *The Lichens of Great Britain and Ireland*. – The British Lichen Society, London, 1046 pp.
- Spier L., van Dobben H. & van Dort K. (2010): Is bark pH more important than tree species in determining the composition of nitrophytic or acidophytic lichen floras?. – *Environmental Pollution*, 158: 3607–3611.
- Stenroos S. (1989): Taxonomy of the *Cladonia coccifera* group. 1. – *Annales Botanici Fennici*, 26: 157–168.
- Stizenberger E. (1868): De *Lecanora subfusca* ejusque formis. – *Bot. Zeitung*, 26: 890–902.
- Syrovátková L. (2009): Návrat epifytických lišejníků na území Doupovských hor po s nížení znečištění ovzduší. – Dipl. Pr. Depon. in: Katedra botaniky PřF UK Praha.
- Talavera G. & Castresana J. (2007): Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. – *Syst. Biol.*, 56: 564–577.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. & Kumar S. (2011): MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. – *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.
- Thomson J. W. (1997): *American Arctic lichens. 2. The Microlichens*. – The University of Wisconsin Press, Madison, 675 pp.
- Tønsvberg T. (1992): The sorediate and isidiate, corticolous, crustose lichens in Norway. – *Sommerfeltia*, 14: 1–331.

- Tønsberg T., Türk R. & Hofmann P. (2001): Notes on the lichen flora of Tyrol (Austria). – *Nova Hedwigia*, 72: 487–497.
- Türk R. & Wirth V. (1975): The pH dependence of SO₂ damage to lichens. – *Oecologia*, 19: 285–291.
- Upreti D. K. (1997): Notes on corticolous, K⁺ yellow species of *Lecanora* in India. – *Feddes Repertorium*, 108: 185–203.
- Vězda A. (2000): *Lichenes Rariores Exsiccati*. Fasciculus 45 (numeris 441–450). Brno.
- Vězda A. & Liška J. (1999): *Katalog lišejníků České Republiky*. – Botanický ústav ČSAV, Průhonice, 283 pp.
- White T. J., Bruns T., Lee S. & Taylor J. (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. – In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White), New York, Academic Press, p. 315–322.
- Wilcoxon F. (1945): Individual comparisons by ranking methods. – *Biometrics Bulletin*, 1: 80–83.
- Wirth V. (1995): *Die Flechten Baden-Württembergs, Teil 1*. – Ulmer, Stuttgart, 527 pp.
- Wirth V., Hauck M., von Brackel W., Cezanne R., de Bruyn U., Dürhammer O., Eichler M., Gnüchtel A., John V., Litterski B., Otte V., Schiefelbein U., Scholz P., Schultz M., Stordeur R., Feuerer T. & Heinrich D. (2011): Rote Liste und Artenverzeichnis der Flechten und flechtenbewohnenden Pilze Deutschlands. – *Naturschutz und Biologische Vielfalt*, 70: 7–122.