

Tartu Ülikool  
Ökoloogia ja maateaduste instituut  
Botaanika osakond  
Mükoloogia õppetool

Miia Puidet

**Lihhenikoolse seene *Illosporiopsis christiansenii* bioloogia ja taksonoomiline  
kuuluvus**

Bakalaureusetöö (12 EAP)  
Bioloogia ja elustiku kaitse

Juhendaja: Tartu Ülikooli kaasprofessor PhD Ave Suija

TARTU 2025

## Infoleht

### **Lihhenikoolse seene *Illosporopsis christiansenii* bioloogia ja taksonoomiline kuuluvus**

Mõõtmelt äärmiselt väikesed lihenikoolsed seened võivad jääda peremees-sambliku tallusel peitunult elunedes esmapilgul märkamatuks, kuid tegelikkuses on tegemist laialdaselt levinud eluvormiga. Teadmised lihenikoolsete seente liigilisest ja ökoloogilisest mitmekesisusest täienevad ühtejärke. Niisamuti täiustub tervikikpilt selliste liikide taksonoomiast ja fülogeneetilisest paiknemisest. Käesolevas töös uuritakse lihenikoolse seene *Illosporopsis christiansenii* taksonoomilist positsiooni, mis on vastukäivate andmete põhjal jäänud ebaselgeks. Seejuures kasvatatakse *Illosporopsis christiansenii*'d kultuuris, et saada DNA analüüsiks võimalikult puhast materjali ja jälgida muutusi kultuuride kasvus ning elutsükli. Töö teoreetilises osas antakse esmalt ülevaade lihenikoolsete seente mitmekesisusest üldiselt ja seejärel täpsemini helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) ja kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) seltsidest. Samuti tutvustatakse töö kirjanduslikus pooles *Illosporopsis christiansenii*'d senise uurimisajaloo põhjal.

**Märksõnad:** lihenikoolsed seened, *Illosporopsis christiansenii*, fülogeneetiline paiknemine, seenekultuur

**CERCS:** B230 Mikrobioloogia, bakterioloogia, viroloogia, mükoloogia

### **The biology and taxonomic position of the lichenicolous fungus *Illosporopsis christiansenii***

Extremely small lichenicolous fungi may remain unnoticed at first glance when living hidden on the thallus of their host lichen, but actually it is a widely distributed life form. Knowledge about these species and their ecological diversity is constantly improving. The overall understanding of the taxonomy and phylogenetic position of such species is also improving. In this thesis, the taxonomic position of the lichenicolous fungus *Illosporopsis christiansenii*, which has remained unclear due to conflicting results, is investigated. *Illosporopsis christiansenii* is grown in culture in order to obtain the purest possible material for DNA analysis and to monitor changes in the growth and life cycle of the cultures. The theoretical part of the thesis first provides an overview of the diversity of lichenicolous fungi in general and then more specifically of the *Hypocreales* and *Cantharellales* orders. The literature review of the thesis also introduces *Illosporopsis christiansenii* based on the research history to date.

**Keywords:** lichenicolous fungi, *Illosporopsis christiansenii*, phylogenetic position, fungal culture

**CERCS:** B230 Microbiology, bacteriology, virology, mycology

# Sisukord

<b>Sissejuhatus</b>	<b>4</b>
<b>1. Lihhenikoolsete seente mitmekesisus ja määramine</b>	<b>7</b>
1.1 Lihhenikoolsed seened seltsis helekottseenelaadsed ( <i>Hypocreales</i> )	9
1.2 Lihhenikoolsed seened seltsis kukeseenelaadsed ( <i>Cantharellales</i> )	11
<b>2. <i>Illosporiopsis christiansenii</i></b>	<b>13</b>
<b>3. Materjal ja meetodika</b>	<b>17</b>
3.1 Materjali kogumine	17
3.2 Kultuurina kasvatamine	19
3.3 Mikroskopeerimine	20
3.4 DNA eraldus, DNA amplifitseerimine ja sekveneerimine	20
3.5 DNA järjestuste analüüs	22
<b>4. Tulemused</b>	<b>23</b>
4.1 Kultuuride kasv	23
4.2 Mikroskoopilised tunnused	32
4.3 <i>Illosporiopsis christiansenii</i> 'ga seotud kooslused	35
4.4 Molekulaarsed tulemused	36
<b>5. Arutelu</b>	<b>38</b>
<b>Kokkuvõte</b>	<b>41</b>
<b>Summary</b>	<b>42</b>
<b>Tänuavaldused</b>	<b>43</b>
<b>Kasutatud allikad</b>	<b>44</b>
<b>Lisad</b>	<b>54</b>

## Sissejuhatus

Lihhenikoolsed seened elavad samblike tallusel või viljakehadel. Nende hulgas leidub kohastumuste poolest parasümbionte, saprotroofe kui ka parasiite (Gams *et al.*, 2004; Randlane *et al.*, 2004). Enamik selliseid seeni on peremees-samblikuga püsivalt elavad kommensaalid (parasümbiondid), kes ei too samblikule kahju ega kasu (Laursen & Seppelt, 2009). Saprotroofsed seened saavad kasvada kahjustunud sambliku tallusel, sest lagundajatena toituvad nad surnud orgaanilisest materjalist (Hanso *et al.*, 2000; Lawrey & Diederich, 2003). Parasiitse eluviisiga lihhenikoolsed seened mõjutavad sambliku kasvu ja arengut ning sedasorti kooselu võib lõppeda peremees-sambliku surmaga (Laursen & Seppelt, 2009; Lawrey & Diederich, 2003). Tegelikuses teatakse üpris vähe selle kohta, kuidas või mil määral parasiitsed lihhenikoolsed seened samblikule mõju avaldavad (Diederich *et al.*, 2018). Enamasti arvatakse, et nad ei tekita või põhjustavad vaid vähesel määral mõjutusi peremees-samblikus, kuid leidub ka väheseid seeni näiteks parasiitnahkis (*Athelia arachnoidea*) ja *Pronectria oropensis*, kelle mõju on ulatuslikum ning lõpeb sambliku jaoks fataalselt (Diederich *et al.*, 2018; Hafellner & Obermayer, 2009; Parmasto, 1998).

Valdav osa lihhenikoolseid seeni on peremees-sambliku suhtes spetsiifilised ja nende määramisel tuginetakse peaaesjalikult nii paljunemistunnustele (viljakehad ja nende ehitus), peremees-sambliku taksonile kui ka iseloomulikele kahjustustele sambliku tallusel. Lisaks teatakse ka endofüütseid lihhenikoolseid seeni (endolihhenikoolseid seeni), kes elavad sambliku talluse sees, ei moodusta viljakehi ega jäta sambliku tallusele oma olemasolust väliseid tunnuseid ja jäävad vaatlusel märkamata (Muggia & Grube, 2018). Seda sellepärast, et endolihhenikoolsed seened ei tekita sambliku tallusel nähtavaid kahjustusi ja ilmselt on peremees-samblikule kahjutud või sarnaselt taimedes elunevate endofüütsete seentega, toodavad teatavaid keemilisi ühendeid, mis annavad samblikule kaitset varustades neid eluks vajalike ainetega (Arnold *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2007). Eelpool mainitu tõttu tuvastatakse endolihhenikoolseid seeni enamasti sambliku talluse täielikul sekveneerimisel (Arnold *et al.*, 2009). Võib olla ka, et sellised seened moodustavad paljunemisorganeid, mida on võimalik silmaga määrata ainult keskkonnatingimuste drastilistel muutustel (U'Ren *et al.*, 2010).

Hetkeseisuga on maailmas kirjeldatud üle 2000 ja Eestis üle 180 lihhenikoolse seeneliigi, kuid eeldatav mitmekesisus võib olla märksa suurem (üle 3000 liigi) (Abarenkov *et al.*, 2010; Diederich *et al.*, 2018; Gams *et al.*, 2004). Seda sellepärast, et 200 aasta jooksul, mil lihhenikoolseid seeni süvitsi uuritud on, pole teadustöö olnud üleilmselt süsteemne ja teatud

geograafilistest piirkondadest on andmed puudulikud, näiteks Aafrikast ja Aasiast (Lawrey & Diederich, 2003). Enamasti teatakse suurematel aladel võrdlemisi palju samblike mitmekesisuse kohta, kuid vastukaaluks on sama piirkonna vaatlustulemused üpriski puudulikud lihhenikoolsete seente osas, seda näiteks troopilistes regioonides (Hafellner, 2018). Reaalset liikide arvu võivad veel mõjutada krüptilised liigid, mis on väliselt sarnased, kuid geneetiliselt erinevad liigid (Hawksworth, 2001). Kui välja arvata endolihhenikoolsed seened, siis peaks ühel maa-alal kasvavate samblike ja nendega seotud mikrosete liigilisest mitmekesisusest moodustama umbkaudu 10-20% lihhenikoolsed seened (Hafellner, 2018).

Enamik lihhenikoolsetest seentest (üle 96%) on kottseened (*Ascomycota*), väiksem osa (4%) kuulub kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonda (Diederich *et al.*, 2018; Gams *et al.*, 2004). Seni kirjeldatud liigid kuuluvad 10 klassi, 55 seltsi, 115 sugukonda ja 397 perekonda (Diederich *et al.*, 2018). Lisaks kottseente (*Ascomycota*) ja kandseente (*Basidiomycota*) hõimkondadele tuntakse veel seeni, kellel sugulise paljunemise organeid (eoskotte ja eoskandasid) täheldatud ei ole, mis on takistanud nende täpsema taksonoomilise kuuluvuse määramist (Barnett & Hunter, 2006). Varem käsitleti selliseid liike süsteemivälises taksonis teisseened (*Deuteromycetes* või *Fungi Imperfecti*) (Sutton, 2014). Mitmed eelnevalt kirjeldatud teisseente (*Deuteromycetes*) liigid võivad esindada juba kirjeldatud teleomorfsete (suguliselt paljunevate) liikide anamorfseid (mittesugulisi) staadiume (Hafellner, 2018). Selliste liikide taksonoomilise kuuluvuse kindlaks tegemiseks on tarvis DNA järjestusi võrrelda või kasvatada neid laboritingimustes, et nende elutsükli tervikuna jälgida (Lawrey, 2002; Sutton, 2014).

Antud töös uuritava lihhenikoolse seene *Illosporiopsis christiansenii* taksonoomiline positsioon on ebaselge, kuna teda tuntakse ainult mittesugulises staadiumis ning DNA põhised uuringud on andnud vastuolulisi tulemusi (Diederich *et al.*, 2024). Varasem töö (Sikaroodi *et al.*, 2001) paigutab seene klassi *Sordariomycetes*, helekottseentelaadsete (*Hypocreales*) seltsi (geenipanga järjestus: AF289656). Samas paigutavad PlutoF andmebaasis (Abarenkov *et al.*, 2010) talletavad *Illosporiopsis christiansenii* DNA järjestused seene, kas kandseente (*Basidiomycota*) kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) seltsi (UDB0781141, UDB0781137) või kottseente (*Ascomycota*) helekottseentelaadsete (*Hypocreales*) seltsi, sugukonda *Sarocladiaceae* (UDB0802611: Darmostuk, avaldamata andmed).

Käesoleva töö eesmärkideks on:

- 1) välja selgitada lihhenikoolse seene *Illosporiopsis christiansenii* taksonoomiline kuuluvus,
- 2) panna *Illosporiopsis christiansenii* kultuuris kasvama, et saada DNA eralduseks võimalikult puhtad kultuurid,
- 3) jälgida ning kirjeldada *Illosporiopsis christiansenii* kultuuride kasvu.

## 1. Lihhenikoolsete seente mitmekesisus ja määramine

Kuigi olemasolevad andmed lihhenikoolsete seente liigilise mitmekesisuse kohta pole tänaseks päevaks kaugeltki täielikud, on seoses 20. sajandi viimastel kümnenditel teadusliku huvi kasvuga jõutud aina terviklikuma arusaamani lihhenikoolsete seente taksonoomilisest kuuluvusest (Hafellner, 2018). Seda nii uute liikide avastamisel kui ka revideerides suuremate taksonoomiliste rühmade süstemaatikat, mis läbi vähendatakse sünonüümsete liikide osakaalu, tuvastatakse krüptilisi liike ja hinnatakse ümber erinevaid taksoneid (Hafellner, 2018; Lawrey & Diederich, 2003). DNA järjestuste andmed on olemas 32% neist seente perekondadest (128 perekonnal 397-st), mis kätkevad endas ka lihhenikoolsete seente liike (Diederich *et al.*, 2018). Seega on paljude lihhenikoolsete liikide fülogeneetiline paiknemine endiselt ebaselge (Lawrey & Diederich, 2003).

Lihhenikoolsete seente sekveneerimise muudab tüslikuks sekveneeritavas materjalis sisalduvad muud seened (lihheniseerunud seened ehk sambliku mükobiondid, teised mikroseened), mistõttu on puhaste DNA järjestuste saamine keeruline (Bates *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2025). Spetsiifiliste praimerite kasutamine on mõistlik, kuid see eeldab eelteadmisi seene kuuluvuse kohta. Kõige tõhusam on DNA analüüsi tarbeks lihhenikoolne seen saada puhaskultuuri, mis võimaldab kõige kindlamalt eristada lihhenikoolse liigi genoomi mükobiondist ja sambliku tallusel elunevatest teistest seentest (Fahselt, 2008). Samas, kuna tegemist on biotroofsete seentega, kes sõltuvad peremees-organismist, siis on lihhenikoolsete seente kultuuri saamine pigem erandlik (Lawrey, 2002).

Kummatigi raskendab arusaama lihhenikoolsete seente taksonoomiast asjaolu, et osad neist (kottseente puhul hinnanguliselt 20%) tuntakse ainult aseksuaalsete (anamorfsete) tunnuste põhjal, mistõttu on nende fülogeneetiline positsioon jäänud välja selgitamata (Lawrey *et al.*, 2011). Anamorfide seostamisel teleomorfidega (holomorfi kinnitamisel) kasutati enne molekulaarsete meetodite kasutusele võttu kultuurina kasvatamist laboritingimustes (Lawrey & Diederich, 2003). Puhaskultuuride saamine on mõnel juhul (eriti pahku tekitavate ingl *gall-forming* liikide puhul) üpriski keeruline lihhenikoolsete seente viljakehade väikesemõõtmelisuse, substraadiga seotuse, toitainete spetsiifilisuse (erinevad sobilikud söötmed) ja teadmiste puudumise tõttu muude tingimuste (näiteks valgus ja temperatuur) osas, kuid võimaldab saada täpsemaid taksonoomilisi andmeid ka tänapäeval (Crittenden *et al.*, 1995; Lawrey, 2002; Lawrey & Diederich, 2003; Meng *et al.*, 2025). Ühtlasi annab

puhaskultuuride kollektsoonides talletatamine võimaluse laialdasemaks teadustööks (Lawrey & Diederich, 2003).

Kottseente (*Ascomycota*) hõimkonda paigutub enamik lihhenikoolseid seeneliike – veidi üle 1900 liigi kuues klassis: *Arthoniomycetes*, *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Lecanoromycetes*, hüüvikseened (*Leotiomycetes*) ja *Sordariomycetes* (Diederich *et al.*, 2018, 2024). Kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonda kuulub ligikaudu 200 lihhenikoolset seeneliiki, mis paigutuvad viite klassi: *Agaricomycetes*, *Agaricostilbomycetes*, kõhrikseened (*Tremellomycetes*), *Cystobasidiomycetes* ja *Microbotryomycetes* (Diederich *et al.*, 2018, 2022). Kokku paikneb lihhenikoolseid liike 11 klassis ja 55 seltsis, millest kahes on vaid lihhenikoolsed liigid – selts *Abrothallales* (57 liiki) ja selts *Cyphobasidiales* (2 liiki). Sugukondi, kuhu lihhenikoolseid liike paigutub, on kokku 115 ning neist kuues on ainult lihhenikoolsed seeneliigid. Perekonna tasemel leidub lihhenikoolseid liike 397 perekonnas, millest pooltesse (198 perekonda) kuuluvad ainult lihhenikoolsed seeneliigid. Kõige liigirikkamaks lihhenikoolseid seeni hõlmavaks perekonnaks kottseente (*Ascomycota*) hõimkonnas on perekond *Arthonia* seltsist *Arthoniales* ja klassist *Arthoniomycetes*, kuhu kuulub 140 liiki ning kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonnas perekond kõhrik (*Tremella*) seltsist kõhrikulaadsed (*Tremellales*) ning klassist kõhrikseened (*Tremellomycetes*), kuhu kuulub 60 seeneliiki (Diederich *et al.*, 2018). *Arthonia* perekonda kuulub lisaks lihhenikoolsetele seentele ka lihheniseerunuid ja saprotroofseid seeni (Cannon *et al.*, 2020). Perekonda kõhrik (*Tremella*) kuulub fungikoolseid ja saprotroofseid liike (Diederich *et al.*, 2022; Hanso *et al.*, 2000).

Mõned lihhenikoolsed kottseened (*Ascomycota*) arvatakse olevat põlvnenud lihheniseerunud eellastest. Sellised on näiteks lihhenikoolsete seente perekonnad *Nesolechia* ja *Phacopsis*, mis kuuluvad sugukonda *Parmeliaceae* (Peršoh & Rambold, 2002). Enamus selle sugukonna lihheniseerunud seente liikidest moodustavad lehtjat või rippuvat tallust (Crespo *et al.*, 2010; Thell *et al.*, 2012). Lihhenikoolset seent saab sellisel juhul käsitleda kogunisti kui üleminekuvormi samblikulise ja mittesamblikulise eluviisi vahel, kus lihhenikoolne eluvorm arenes ilmselt välja pärast algselt samblikku moodustava seene delihheniseerumist – iseseisva talluse moodustamise võime kadumist (Grube & Wedin, 2016; Lutzoni *et al.*, 2001). Sellisel juhul on lihhenikoolne seen evolutsiooniliselt palju noorem nähtus kui tema substraadiks olev samblik (Werth *et al.*, 2013). Seejuures aga ei pruugi parasiidi ja tema peremees-sambliku evolutsiooniline ja demograafiline ajalugu kattuda, mis tähendab, et kaks liiki tekivad eraldi (ajas ja ruumis lahus). Lihhenikoolse liigi tekkeks on oluline tugev peremehe-spetsiifilisus,



misjuures võib uute parasiitsete liikide tekkel mõjutavaks teguriks osutada peremees-sambliku vahetamine (ingl *host switching*) (Millanes *et al.*, 2014; Werth *et al.*, 2013). Fossiilsed leiud tõendavad, et samblike ja neil elunevate spetsialiseerunud seente kooselulise vormi alge küündib vähemasti paleogeeni ajastusse (65-23 miljonit aastat tagasi), samas kui esimeste samblike teke on hinnatud hilisdevonisse (ca 400 miljonit aastat tagasi) (Honegger *et al.*, 2013; Kettunen *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 1997)

Mitme lihhenikoolse seene liigi puhul, näiteks sambla-urnsamblikul (*Diploschistes muscorum*), on täheldatud võimet vahetada elulaadi olles näiteks elutsükli alguses parasiit mõnel samblikul ning hiljem, pärast mükobiondi surma moodustades järele jäänud vetikaga uue iseseiseva sambliku talluse (Friedl, 1987; Hawksworth, 1982). Ka sellised seened kuuluvad nendesse sugukondadesse, kus kõik ülejäänud seened moodustavad samblikke (*Index Fungorum*, s.a.). Kuigi teatud hulk lihhenikoolseid seeni arenes välja lihheniseerunud eellastest, põlvneb suur osa lihhenikoolseid liike siiski ka fungikoolsetest ja saprootroofsetest seentest (Darmostuk *et al.*, 2025; DePriest *et al.*, 2005; Grube & Wedin, 2016; Lawrey & Diederich, 2003).

Järgnevad alapeatükid käsitlevad lihhenikoolsete seente mitmekesisust helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) ja kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) seltsides, kuhu erinevad andmed *Illosporiosis christiansenii* paigutavad.

### **1.1 Lihhenikoolsed seened seltsis helekottseenelaadsed (*Hypocreales*)**

Helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) selts on monofüleetiline rühm, mis kuulub kottseente (*Ascomycota*) hõimkonda, alamhõimkonda *Pezizomycotina*, klassi *Sordariomycetes* ja alamklassi *Hypocreomycetidae* (Jaklitsch *et al.*, 2016). Peamiselt esineb helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsis seentel elunevaid (fungikoolseid), saproobseid, endofüütseid ning taime- ja loomahaiguseid (sh. inimesel) tekitavaid liike (Diederich *et al.*, 2024; Rossman, 1996). Liigirikkasse seltsi, nagu seda on helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) selts, kuulub muuhulgas nii mõnigi lihhenikoolne seeneliik (Lawrey *et al.*, 1994).

Seltsi liikidele on iseloomulikud heledad või erksavärvilised sulgeoslad (periteetsiumid), mis on pehmed, lihavad või vahajad, harva esinevad peiteoslad (kleistoteetsiumid) (Hanso *et al.*, 2000; Jaklitsch *et al.*, 2016). Stroomad, kui need üldse esinevad, on samuti värvuselt

heledatest eredavärvilisteni ning periteetsiumid on neisse osaliselt või täielikult sukeldunud (Rogerson, 1970). Pseudoparafüüsid pole tavaliselt püsivad (Hanso *et al.*, 2000; Jaklitsch *et al.*, 2016). Eoskotid on unitunikaatsed, otsmise avaga ja kujult silinderjad või piklikud. Helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi kuuluvate seente kotteosed on liigiti küll erisugused, kuid peamiselt on eosed keraja või niitja kujuga, ühe-, kahe- või mitmerakulised, vaheseintega ja pigem heledad või hüaliinsed, kuid esineb ka pruune ja rohelisi eoseid, mis mõnel juhul võivad fragmenteeruda (Hanso *et al.*, 2000; Jaklitsch *et al.*, 2016). Anamorfsedel vormidel on sageli märgata roheline, kollane või oranž koniidide mass (Jaklitsch *et al.*, 2016). Mütseel on harilikult hüaliinne või erksavärviline ning tavaliselt substraati sukeldunud, hüüfid on vaheseintega ja harunevad (Rogerson, 1970).

Helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsis teatakse kuute sugukonda, kuhu kuulub ka lihhenikoolseid seeneliike. Nendeks on: *Bionectriaceae*, tungalteralised (*Clavicipitaceae*), *Cordycipitaceae*, helekottseenelised (*Hypocreaceae*), komuseenelised (*Nectriaceae*) ja *Niessliaceae*. Perekondi helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsis, kuhu lihhenikoolseid seeni paigutub, on kokku 18. Neist liigirikkaim perekond on *Pronectria* (Diederich *et al.*, 2018). Kummatigi leidub seltsi paigutatult ka selliste lihhenikoolsete seente perekondi, mille kuuluvus on ebaselge nii seltsi kui ka sugukonna tasemel (näiteks perekonnad *Chondronectria*, *Leptobarya*, *Roselliniella*, *Illosporiosis*) (Diederich *et al.*, 2018, 2024).

Seltsi kuuluvate seente mittesugulised (anamorfsed) vormid on laia levikuga ja neid peetakse silmatorkavateks (Hanso *et al.*, 2000). Lihhenikoolseid helekottseenelaadseid (*Hypocreales*) mittesuguliselt paljunevaid (anamorfseid) seeni on hetkel teada 23 ning neist 13 seostatakse ka teatud suguliselt paljunevate (teleomorfsete) liikidega. Seltsi anamorfe paigutatakse tihti sarnasuse põhjal (hüaliinsed koniidid ja fialiidid) anamorf-perekonda *Acremonium*. Paljude helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) anamorfid on paigutatud süsteemivälisesse rühma avateisseened ehk hüüfomütseedid (*Hyphomycetes*) (Diederich *et al.*, 2024; Hanso *et al.*, 2000). Liigiliselt kui ka kohastumuslikult mitmekesisele avateisseente (*Hyphomycetes*) rühmale on iseloomulik konidioomide või muu eristruktuuri puudumine ning koniidide (mittesuguliste eoste) teke üksikutel lihtsatel koniidikandjatel või tihedalt omavahel liitunud koniidikandjate kogumikel (sünneemadel), kus koniidid eristuvad vaheseintega konidiogeensetest hüüfidest või padjanditaolistel kehakestes (sporodohhides) (Hanso *et al.*, 2000; Taylor & Krings, 2015).

## 1.2 Lihhenikoolsed seened seltsis kukeseenelaadsed (*Cantharellales*)

Kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) selts kuulub kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonda, alamhõimkonda *Agaricomycotina* ja klassi *Agaricomycetes*. Selts on mitmekesine nii morfoloogilisest kui ka kohastumuslikust küljest (Diederich *et al.*, 2022). Seltsi kuuluvate liikide seas leidub nii ekto- ja orhidoidset mükoriisat moodustavaid, lihheniseerunud, taimepatogeenseid kui ka lihhenikoolseid seeni (Lawrey *et al.*, 2007; Parmeter, 2023; Tedersoo *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2010). Seltsi kuulub kohastumuste poolest ka saprotroofseid liike, kuid tegemist pole kunagi esmaste lagundajatega (Hibbett *et al.*, 2014).

Seltsi liikidel esineb erineva kuju ja varieeruva suurusega basidioome (basidiokarpe), mis on valdavalt levinud puit- või rohttaimsel substraadil, mõnikord basidioome ei moodustugi (Bondartseva & Zmitrovich, 2023; Buyck *et al.*, 2014; Olariaga, 2021). Hüüfid on olenevalt liigist pandlaga või ilma (Bondartseva & Zmitrovich, 2023). Mütseel koosneb, kas ühte tüüpi (generatiivhüüfidest) seeneniitidest (monomiitne) või lisaks generatiivhüüfidele ka pikkadest sarkoskeletaalide ahelikest (sarkodimiitne) (Bondartseva & Zmitrovich, 2023; Hanso *et al.*, 2000). Kandeosed (basidiospoor) on enamjaolt siledad, kujult ellipsoidsed või tilgakujulised, leidub ka ümaraid, silinderjaid ja munajaid eoseid. Mõnel liigil on eoskannad (basiidid), millel on tavaliselt 2–6 eostuge (sterigmat). Tekkinud kandeoseid on tüüpiliselt 4, liigiti 2–8 (Bondartseva & Zmitrovich, 2023).

Hetkel on teada kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) seltsis 11 lihhenikoolset seeneliiki, mis paigutuvad üheksasse perekonda: *Bergerella*, *Bulbilla*, *Burgella*, *Burgoa*, *Burgellopsis*, *Ceratobasidium*, *Minimedusa*, *Neoburgoa*, *Parmeliicida*. Tingitult seltsi kuuluvate lihhenikoolsete seente viljakehade väikesemõõtmelisusest (u 1–2 mm läbimõõduga) ja värvuse silmatorkamatusest on neid liike vähe kogutud ning avastamisel mängib suurt rolli juhus (Diederich *et al.*, 2022; Lawrey *et al.*, 2007). Viimasel kümnendil on kirjeldatud valdav osa seltsi lihhenikoolseid liike ja seetõttu oletatakse, et kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) seltsi võiks tegelikkuses kuuluda lähikaudu 30 liiki lihhenikoolseid seeni (Diederich *et al.*, 2022).

Seltsi kuuluvad lihhenikoolsed liigid on teada vaid mittersuguliste (anamorfsete) vormidena, sest basidioomi (basidiokarp) moodustumist pole neil liikidel täheldatud (Diederich *et al.*, 2022). Samuti puuduvad neil konidioomid ning seltsi lihhenikoolsetele liikidele on

iseloomulik sibulakujuliste bulbillide (ingl *bulbil*) moodustumine harilikult peremees-sambliku talluse pinnale (Diederich *et al.*, 2022; Lawrey *et al.*, 2007). Bulbillid kujutavad endast ümaratesse tihedatesse kogumikesse koondunud hüüfi (Hanso *et al.*, 2000). Värvuselt on bulbillid väga varieeruvad: valged, kahvatupruunid, oranžikaspruunid, erekollased või tume punakaspruunid. Ühtlasi võivad anamorfid olla nii tuhmid kui ka läikivad. Bulbillid võivad esineda pigem hajusalt või mõnel juhul kogumikena üldjuhul peremees-sambliku tallusele, harvem lehtereoslatele (apoteetsiumitele) ja sulgeoslatele (periteetsiumitele) (Diederich *et al.*, 2022).

Kukeseenelaadsete (*Cantharellales*) lihhenikoolsete liikide anamorfidel on mikroskoopiliste tunnustena märgatud hüaliinset substraati sukelduvat või pindmist (v.a *Parmeliicida pandemica* - pindmiselt tõusev) mütseeli. Vaheseintega hüüfidel on mitmel juhul täheldatud pandlaid, kuid seda mitte kõigil liikidel.

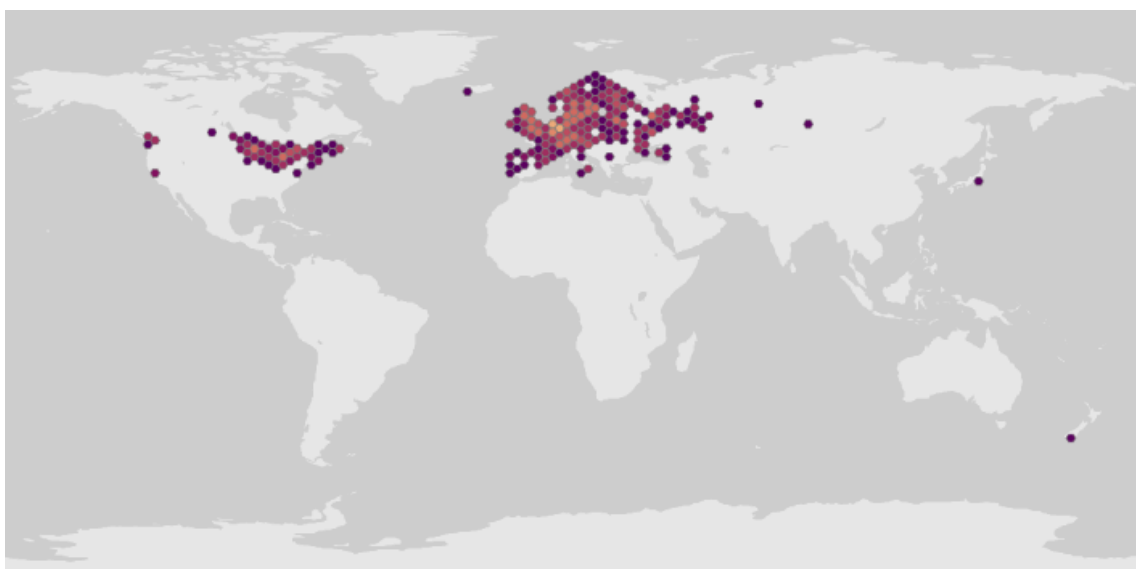
## 2. *Illosporiopsis christiansenii*

*Illosporiopsis christiansenii* (Joonis 1) kirjeldati 1986. aastal *Hobsonia christiansenii* B.L. Brady & D. Hawksw. nime all. *Illosporiopsis christiansenii* tüüpeksemplari korjas 1977. aastal Mogens Skytte Christiansen Itaaliast Idrost paplilt (*Populus L.*) harilikult leeksamblikult (*Candelaria concolor*) (Lowen *et al.*, 1986). *Illosporiopsis christiansenii* holotüübi kollektsioonikood on IMI 226836 (*HerbIMI*, s.a.).

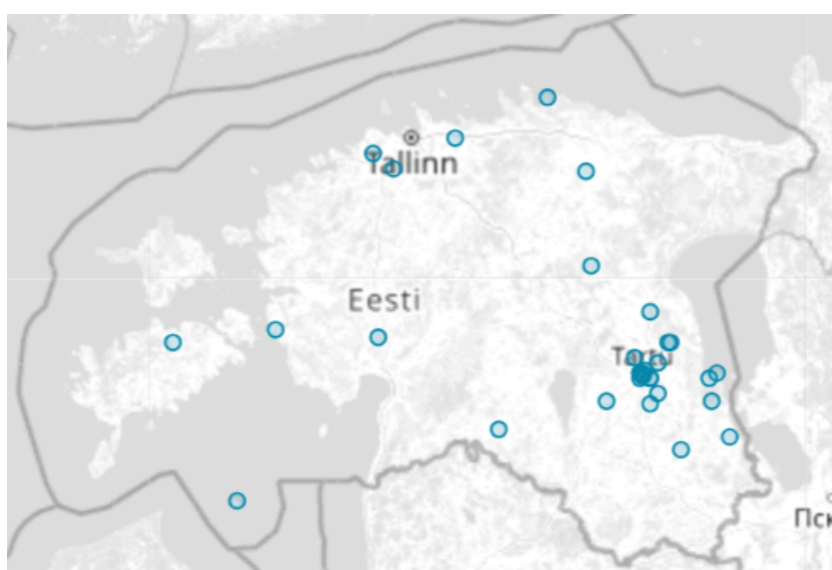


Joonis 1. *Illosporiopsis christiansenii* erinevatel samblikel: üleval harilikul korpsamblikul (*Xanthoria parietina*), vasakul all täpilisel rosettsamblikul (*Phycia aipolia*), paremal all rips-rosettsamblikul (*Phycia tenella*). Fotod: Miia Puidet, 2025

Perekond *Illosporopsis* ainus esindaja *Illosporopsis christiansenii* on laialt levinud põhjapoolkeral (Joonis 2), kus seen kasvab peamiselt lehtja tallusega samblikel, põhiliselt rosettsamblikel (*Physcia*), aga ka perekondadel leeksamblik (*Candelaria*), korpsamblik (*Xanthoria*), hallsamblik (*Hypogymnia*), pruunsamblik (*Melanohalea*), rohesamblik (*Scoliciosporum*), lapiksamblik (*Parmelia*), tõmmusamblik (*Phaeophyscia*), härmasamblik (*Physconia*) ja sädesamblik (*Candelariella*), mis kasvavad toitainerikkal puukoorel (Diederich *et al.*, 2024; *Illosporopsis Christiansenii*, s.a.; Lowen *et al.*, 1986). Eestis on seda seent leitud (Joonis 3) korpsambliku (*Xanthoria*), härmasambliku (*Physconia*), pruunsambliku (*Melanohalea*), habesambliku (*Usnea*) ja rosettsambliku (*Physcia*) perekondadelt (Abarenkov *et al.*, 2010).



Joonis 2. *Illosporopsis christiansenii* maailma levikukaart (*Illosporopsis Christiansenii*, s.a.)



Joonis 3. *Illosporopsis christiansenii* Eesti levikukaart (*Illosporopsis christiansenii*, s.a.)

*Illosporiosis christiansenii* moodustab sambliku tallusel roosasid (ISCC-NBS centroid color: strong pink) sporodohhe (Joonis 1), milles on tihedalt koniide (Kelly & Judd, 1976; Lowen *et al.*, 1986). Koniidide kogumikud on sambliku tallusesse kohati sukeldunud (tungivad läbi peremees-sambliku koorkihi), paiguti on kogumikud aga tallusel pindmiselt, mis liitudes moodustavad 0,1–2 mm kõrguseid sporodohhe diameetriga 0,5–1 mm (Diederich *et al.*, 2024; Lowen *et al.*, 1986; Randlane *et al.*, 2004). Teinekord võivad koniidid valguda sambliku talluselt naabruses olevatele samblikele ja puukoorele (Diederich *et al.*, 2024).

*Illosporiosis christiansenii* mütseeli moodustavad hüaliinsed vaheseintega 1,5–2 µm laiused seeneniidid, mis kasvavad nii sambliku pinnal kui ka talluse sees. Koniidikandja pole tavalistest seeneniitidest eristatav (mikronemaatne) ja koniidikandjal (konidiofooril) arenevatel konidiogeensetel rakkudel on üks konidiogene lookus (monoblastsed). Koniide moodustavad rakud on konidiofoorist eraldatud vaheseinaga, kust valminud koniidid eralduvad konidiogeenset lookusest üksikult, kas skisolüütselt (ingl *schizolytic*) või reksolüütselt (ingl *rhexolytic*) (Lowen *et al.*, 1986). Esimesel juhul eraldub küps koniid koniidikandjalt nii, et kahekihilisesest rakuseinast ainult sisemine sein moodustab koniidi aluse. Vähem levinud reksolüütse konidiogeneesi korral moodustavad koniidi põhja nii sisemine kui ka välimine rakusein (Cole & Samson, 1979; Seifert *et al.*, 2011). Hüaliinsed koniidid on mitmerakulised ja põiki vaheseintega, mille juurest rakud sissenõrduvad. Koniidide rakuseinad on siledad. Mitmesuguse kuju ja suurusega (4–10 x 3–5 µm) koniidid kujunevad arengu jooksul spiraalselt keerdunuks. Täpsemini kasvab mitmerakuline hüüfjas koniid enda ümber keerdunult nii, et üksikkoniidid on lõpuks ruumiliselt paigutunud (Lowen *et al.*, 1986). Sugulist staadiumit pole sellel seenel täheldatud (Diederich *et al.*, 2018).

*Illosporiosis christiansenii* sarnaneb väliste tunnusoonte põhjal teise lihhenikoolse seenega *Marchandiomyces corallinus* (Roberge) Diederich & D. Hawksw. (varasemalt *Illosporium corallinum* Roberge), kes samuti kasvab lehtja tallusega samblikel, kuid kes molekulaarsete tunnuste põhjal kuulub kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonda, seltsi *Corticiales* (Diederich, 1990; Diederich *et al.*, 2022; Lowen *et al.*, 1986). Sarnase välisilme tõttu on kahte liiki eelnevalt arvatud olema omavahel lähedalt suguluses või peetud isegi sama liigi kaheks erinevaks staadiumiks (keskkonnatingimustest sõltuvalt). Kuid mikroskoopilistelt tunnustelt eristub *Illosporiosis christiansenii* iseloomulike spiraalsete koniidide poolest, mis veekeskkonnas kipuvad laiali valguma (Lowen *et al.*, 1986). *Marchandiomyces corallinus*

moodustab seevastu ellipsoidse või ebamäärase kujuga bulbille (Diederich *et al.*, 2022). Kahel liigil esineb viljakehades sama värvipigment, kuid looduslikes tingimustes on liigid selgelt teineteisest eristatavad, *Marchandiomyces corallinus* tunnuslike oranžide või pastellpunaste kolooniatena ja *Illosporiosis christiansenii* iseloomulike ereroosakate või karmiinpunaste sporodohhidena (Diederich, 1990; Diederich *et al.*, 2022, 2024; Lowen *et al.*, 1986).

Varem arvati *Illosporiosis christiansenii* koniidide struktuuri sarnasuse (spiraalsuse) alusel perekonda *Hobsonia*, kuid hilisemad fülogeneetilised uuringud paigutavad lihhenikoolse seene eraldi perekonda *Illosporiosis* (Lowen *et al.*, 1986; Sikaroodi *et al.*, 2001). Hiljutisim uurimus määrab *Illosporiosis christiansenii* helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi esindajatega klassist *Sordariomycetes*. Lähedaseks liigiks on saadud *Illosporium carneum* (= *Illosporium roseum* (Schreb.) Fr.), keda on varasemalt peetud *Pronectria robergei* anamorfseks staadiumiks, kuid hiljutisemad avastuste järgi on *Pronectria robergei* ja *Illosporium carneum* eraldi liigid sugukonnas *Bionectriaceae* (Diederich *et al.*, 2024; Sikaroodi *et al.*, 2001).

Kohastumuslikult on liiki *Illosporiosis christiansenii* peetud teataval määral patogeenseks, kes hävitab mõnikord peremees-sambliku talluse (Lowen *et al.*, 1986; Sikaroodi *et al.*, 2001). *Illosporiosis christiansenii* kolooniaid on leitud nakatunud ja hiljem surnud sambliku vahetust lähedusest puukoorel (Diederich *et al.*, 2024).



### 3. Materjal ja meetodika

#### 3.1 Materjali kogumine

*Illosporiopsis christiansenii* kultuuris kasvatamiseks ja mikroskopeerimiseks koguti eksemplare Tartu linna parkidest ja rohealadelt puutüvedelt ja -okstelt. Leiukohtadel määrati koordinaadid ning substraat, millel *Illosporiopsis christiansenii* leiti (Tabel 1). Hiljem määrati eksemplaridelt ka ülejäänud samblikud ja neil kasvavad seened (Lisa 1). Korjatud eksemplarid talletatakse TÜ Loodusmuuseumi mükoloogilises kogus (TUF).

Tabel 1. Kogutud materjali andmed: eksemplari number, kollektiooni ID (TUF ID), leiukohta geograafilised koordinaadid, kogumise kuupäev ning samblik, millel *Illosporiopsis christiansenii* kasvas (substraat).

Eksemplari number	Koordinaadid	TUF ID	Kogumise kuupäev	Substraat
Nr 1	58.3864; 26.7232	TUF095296	17.02.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 2	58.3861; 26.7235	TUF095295	17.02.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 3	58.3841; 26.7270	TUF095286	17.02.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 4	58.3815; 26.7156	TUF095301	16.02.24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> ), täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 5	58.3806; 26.7166	TUF095312	16.02.24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> ), täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 6	58.3815; 26.7156	TUF095302	16.02.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 7	58.3746; 26.7154	TUF095282	01.03.24	rips-rosettsamblik ( <i>Phyrcia tenella</i> )
Nr 8	58.3818; 26.7262	TUF095281	02.03.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )
Nr 9	58.3865; 26.7231	TUF095275	02.03.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phyrcia aipolia</i> )

Nr 10	58.3864; 26.7234	TUF095277	02.03.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 11	58.3843; 26.7235	TUF095276	03.03.24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> ) ja täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 12	58.3846; 26.7252	TUF095474	03.03.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 14	58.3841 26.7264	TUF095473	03.03.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 16	57.7128; 26.5044	TUF095472	24.08.24	rips-rosettsamblik ( <i>Phycia tenella</i> )
Nr 17	58.3795; 26.7126	TUF095471	12.11.24	vagu-lapiksamblik ( <i>Parmelia sulcata</i> )
Nr 18	58.3837; 26.7270	TUF095470	13.11.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 19	58.3825; 26.7263	TUF095469	14.11.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 20	58.3814; 26.7264	TUF095468	18.11.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 21	58.3813; 26.7263	TUF095467	18.11.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> ) ja rips-rosettsamblik ( <i>Phycia tenella</i> )
Nr 22	58.3815; 26.7268	TUF095466	18.11.24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> )
Nr 23	58.3823; 26.7274	TUF095465	18.11.24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 24	58.3835; 26.7266	TUF095464	18.11.24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> ), täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 25	58.3837; 26.7266	TUF095463	22. 11. 24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 26	58.3837; 26.7266	TUF095459	22. 11. 24	täpiline rosettsamblik ( <i>Phycia aipolia</i> )
Nr 27	58.3834; 26.7274	TUF095460	22. 11. 24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> )

Nr 28	58.3825; 26.7270	TUF095428	22. 11. 24	harilik korpsamblik ( <i>Xanthoria parietina</i> ), täpiline rosettsamblik ( <i>Physcia aipolia</i> )
Nr 29	58.3830; 26.7266	TUF095462	22. 11. 24	täpiline rosettsamblik ( <i>Physcia aipolia</i> )
Nr 30	58.3825; 26.7270	TUF095461	22. 11. 24	täpiline rosettsamblik ( <i>Physcia aipolia</i> )

### 3.2 Kultuurina kasvatamine

Lihhenikoolsete seente uurimiseks laboritingimustes tuleb seened peremees-samblikust isoleerida ning kasvatada neid kunstlikul söötmel. Siinkohal tuleb olla kindel, et substraadil kasvav lihhenikoolne seen on iseloomulike viljakehade järgi ära tuntav. Kui lihhenikoolne seen on identifitseeritud ning edukalt söötmel külvatud, tuleb petri tassil kasvavat kultuuri jälgida. Juhul kui kultuurina kasvav seeneniidistik on saastunud, tuleb steriilse töövahendi abil saaste söötmelt eemaldada (Lawrey, 2002). *Illosporiopsis christiansenii* kultuurina kasvatamise käigus jälgiti ja kirjeldati kultuuride kasvu ja elutsükli ning saadi seeläbi teha järeldusi *Illosporiopsis christiansenii* morfoloogilise arengu kohta.

*Illosporiopsis christiansenii* kultuurina kasvatamisel kasutati erinevaid söötmeid, et välja selgitada kasvuks sobivaim toitekeskkond. Kasutatavate söötmete hulgas olid MEA (*Malt Extract Agar*), PDA (*Potato Dextrose Agar*) ja CMA (*Cornmeal Agar*). Kultuuris kasvatamisel kasutati nii antibiootikumi sisaldavaid söötmeid kui ka antibiootikumideta söötmeid. Katseperioodi käigus mõõdeti kultuuride kasvu, et teada saada, kuidas erineb *Illosporiopsis christiansenii* kasv erinevatel söötmetel.

MEA söötme peamised komponendid on linnaseekstrakt (15 g/l kohta) ja agar (20 g/l kohta). PDA söötmes on komponentidest kõige rohkem glükoosi (20 g/l kohta), seejärel agarit (15 g/l kohta). CMA sööde põhineb maisijahul, mida on liitrise segu kohta 50 grammi, ja agaril, mida on liitrises söötmesegus 15 grammi.

Enne söötmele külvamist kuivatati kogutud eksemplare paar päeva toatemperatuuril. Külvamisel eemaldati eksemplarilt *Illosporiopsis christiansenii* autoklaavitud hambatikuga või steriliseeritud skalpelliga koniidide mass ning asetati söötmega steriilsele petri tassile.

Seejärel isoleeriti petri tass parafilmiga ning hoiti toatemperatuuril päevavalguse käes. Kultuuride kasvades tehti saaste esinemisel ümberkülve uutele söötmetele.

### 3.3 Mikroskopeerimine

Kultuuride puhul püüti läbivalgusmikroskoobiga mikroskopeerides leida *Illosporiopsis christiansenii* iseloomulikke tunnuseid, et kinnitada kasvatatud kultuuride liigilist õigsust eelnevate kirjelduste põhjal. Töö käigus kultuuride mikroskopeerimine võimaldas luua usaldusväärse ülevaate kasvatatud kultuuridest, sest lisaks kultuuride kasvades morfoloogiliste muutuste kirjeldamisele andis ka mikroskopeerimine võimaluse kirjeldada ja jäädvustada kultuuri kasvamise käigus toimuvaid muutuseid.

Täiendavalt kultuuris kasvavatele inokulumidele (ingl *inoculum*) mikroskopeeriti ka kogutud eksemplare. Viimane võimaldas *Illosporiopsis christiansenii* ja kontaktpinna struktuuri paremini hinnata. Samuti andis mikroskopeerimine võimaluse saada ülevaade, milliste samblikega *Illosporiopsis christiansenii* koos kasvab.

Preparaati tehes lõigati ristlääbilõige žiletitera abil läbi *Illosporiopsis christiansenii* sporodohhi ja peremees-sambliku talluse. Saadud lõik asetati alusklaasil olevale veetilgale ning asetati peale katteklase. Eksemplare preparaadina mikroskopeerides sai veenduda, et kultuuridesse külvatud õigete mikroskoopiliste tunnustega liik.

### 3.4 DNA eraldus, DNA amplifitseerimine ja sekveneerimine

DNA eraldus teostati PDA söötmele külvatud eksemplarist nr 9 ja MEA söötmel kasvatatud kultuurist 11 II (Tabel 3). *Illosporiopsis christiansenii* DNA eraldati lüüsimetodil. Selleks kasutati 100 µl lüüsipuhvrit ja 2,5 µl proteinaas K-d, millel prooviga kokku segatuna lasti üleöö kuumablokis inkubeerida 56°C juures. Seejärel inaktiveeriti proteinaas K 98°C juures kuumutades proovi 15 minutit. Järgmiseks tsentrifuugiti proovisegu 11000 rpm juures 2 minutit. 80 µl saadust pipeteeriti sadet vältides uude tuubi ning hoiustati –20°C juures.

DNA järjestuste amplifitseerimiseks tehti DNA eraldamisel saadud segust kümnekordne lahjendus. Selleks segati kokku 10 µl DNA lahust ja 90 µl ultrapuhast MilliQ vett. Kuna seene

taksonoomiline kuuluvus oli ebaselge, siis kasutati nii kott- kui ka kandseente spetsiifilisi praimereid ning samuti universaalseid praimereid. Valiti välja järgmised praimerite kombinatsioonid: ITS5 – ITS4, ITSOF – LA-W, ITSOF – LB-W, ITS1 – ITS4-Tul2, LR0R-Tul2 – ITS4-Tul2 ja LR0R – LR7 (Tabel 2). Seejärel segati päripidine praimer (ingl *forward*) kokku äraspidise praimeriga (ingl *reverse*). 1 µl DNA kohta kasutati 0,6 µl mõlemat praimerit, 3 µl *mastermix*'i ja 9,8 µl destilleeritud vett (kokku 15 µl). Katses kasutati termotsükleri programmi, kus esmane denatureerimine toimus 95°C juures 15 minutit, millele järgnes 35 korda järgmine tsükkel: denaturatsioon 95°C 30 sekundit, praimerite seondumine 55°C juures 30 sekundit ja DNA süntees 72°C juures 60 sekundit, pärast 35 tsükli 10 minutit 72°C juures.

Proovid koos negatiivse kontrollprooviga kanti geelile ning voolutati 90-100 A juures 30 minutit. Proovid (15 µl) puhastati lisades 1 µl FastAP-d ja 0,5 µl Eksonukleas I. Komplementaarsed ahelad sekveneeriti Macrogen Inc. (Amsterdam, Holland) amplifitseerimisel kasutusel olnud praimeritega ITS5 – ITS4.

Tabel 2. Kasutatud praimerid: praimeri nimi, praimeri nukleotiidne järjestus (sekvents), praimeri suund (päri- või äraspidine) ja viide allikale

Praimeri nimi	Sekvents	Suund	Viide
ITS1	TCCGTAGGTGAA CCTGCGG	päripidine ( <i>fwd</i> )	White <i>et al.</i> , 1990
ITS4	TCCTCCGCTTATT GATATGC	äraspidine ( <i>rev</i> )	White <i>et al.</i> , 1990
ITS5	GGAAGTAAAAGT CGTAACAAGG	päripidine ( <i>fwd</i> )	White <i>et al.</i> , 1990
ITSOF	ACTTGGTCATTTA GAGGAAGT	päripidine ( <i>fwd</i> )	Tedersoo <i>et al.</i> , 2008
ITS4-Tul2	TTCTTTTCCTCCG CTGAWTA	äraspidine ( <i>rev</i> )	Oja <i>et al.</i> , 2015
LA-W	CTTTTCATCTTTC GATCACTC	äraspidine ( <i>rev</i> )	Tedersoo <i>et al.</i> , 2008
LB-W	CTTTTCATCTTTC CCTCACGG	äraspidine ( <i>rev</i> )	Tedersoo <i>et al.</i> , 2008
LR0R	ACCCGCTGAACT TAAGC	päripidine ( <i>fwd</i> )	Hopple & Vilgalys, 1994

LR0R-Tul2	CGTTGATTTAAGC ATATTAWTC	päripidine ( <i> fwd </i> )	Tedersoo, avaldamata andmed
LR7	TACTACCACCAA GATCT	äraspidine ( <i> rev </i> )	Hopple & Vilgalys, 1994

### 3.5 DNA järjestuste analüüs

Programmiga CodonCode Aligner 8.0.2 (Codon Code Corporation, Centerville, MA, USA) pandi vastavad päri- ja äraspidine järjestus kokku. Seejärel võrreldi saadud sekvenside konsensust BLAST+ (*Basic Local Alignment Search Tool*) paketi blastn (*Nucleotide BLAST*) homoloogiaotsinguprogrammiga geenipangas talletatud järjestustega (Altschul *et al.*, 1990). Sekventse võrreldi ka UNITE andmebaasi järjestustega (Abarenkov *et al.*, 2024). Otsingusse sisestatud DNA järjestustele olid lähimateks vasteteks näiteks *Microcera lichenicola* (ON811503 – 99.64%, jt.) ja *Microcera physciae* (OK664728 – 99.82%, jt.), misjuures mõlemad kuuluvad komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda ja helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi. Analüüsi teostamisel lähtuti geenipanga andmebaasist järjestuste valimisel identsuse protsendi (*Per. Ident*) parameetrist, mis kokkuleppeliselt pidi jääma vahemikku 95 – 100%.

Sarnased järjestused ühes algupäraste järjestustega joondati SeaView 5.0.5 programmi abil (Galtier *et al.*, 1996). Aligneeringut analüüsiti veebiprogrammiga IQTree, mis lähtub fülogeneesipuu koostamisel suurima tõepära (ingl *maximum likelihood*) meetodist (Trifinopoulos *et al.*, 2016). Analüüsil kasutati nukleotiidide asendusmudelit TNe+G4 ja fülogeneesipuu toetused arvutati kingapaela (ingl *bootstrap*) meetodil 1000 korduses. Saadud konsensuspuud vaadeldi ja toimetati programmiga FigTree 1.4.4. (Rambaut, 2018).

Pärast esmase fülogeneesipuu koostamist võrreldi algupäraseid konsensusjärjestusi komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonna ITS-regiooni (*Internal Transcribed Spacer*) DNA järjestustega, mis saadi 2023. aastal avaldatud Liu *et al.* artiklist (Liu *et al.*, 2023). Saadud andmeid töödeldi eelnevalt loetletud programmidega (SeaView, IQTree, FigTree) ning jõuti uue fülogeneesipuuni. Töös kasutati liikide ladinakeelseid nimesid lähtudes Index Fungorum andmebaasist (*Index Fungorum*, s.a.). Eestikeelsete liiginimede puhul tugineti eElurikkuse andmebaasi kehtivatest nimedest (*eElurikkus*, s.a.).

## 4. Tulemused

### 4.1 Kultuuride kasv

Esimesel katsel *Illosporiosis christiansenii*'d kultuurina kasvatada külvati kuult eksemplarilt (eksemplarid nr 1–6; Tabel 1) *Illosporiosis christiansenii*'d kuule antibiootikumi sisaldavale söötmega petri tassile. Eksemplarid nr 1–3 külvati MEA söötmele ja eksemplarid nr 4–6 PDA söötmele. Viis päeva pärast külvi esines kõigil kultuuridel saaste, mistõttu teostati erinevatele söötmetele ümberkülvid. Kolm päeva pärast ümberkülvi esinesid kõikides kultuurides taas saastetunnused. Edasised katsed viidi läbi uute kogutud eksemplaridega.

Teisel katsel *Illosporiosis christiansenii*'d kultuuris kasvatada kasutati söötmeid, mis ei sisaldanud antibiootikume. Samuti kuivatati eksemplare paar päeva enne külvamist toatemperatuuril. Ühtlasi jälgiti kultuure järjepidevamalt ning saaste ilmnemisel külvati seen koheselt uuele söötmele.

Teisel katsel külvati seitsmelt eksemplarilt (eksemplarid nr 7–13; Tabel 1) *Illosporiosis christiansenii*'le iseloomulikku koniidide massi 12-le söötmele. Seejuures kasutati eksemplaride nr 7 ja 8 puhul CMA söödet, eksemplaride nr 9 ja 10 korral PDA söödet ning eksemplaride nr 11 ja 12 jaoks MEA söödet. Kusjuures eksemplarilt nr 13 külvati viljakehi kolmele PDA söötmele, kahele CMA söötmele ja ühele MEA söötmele. Teisel katsel külvatud kultuurides esines järjepideva jälgimisega katseperioodil sagedasti saastet, mille pärast teostati korduvalt ümberkülve ja saaste eemaldust.

Pärast pea kuu aega kestnud katseperioodi, jätkati kultuuri kasvu jälgimist söötmetel, kuhu algselt oli külvatud materjali eksemplaridelt nr 8, 9 ja 11. Seda põhjusel, et teistest eksemplaridest teostatud kultuuris kasvatamisel ei saanud püsivaid kultuure. Järjekestva kultuuride jälgimise ja vajadusel ümberkülvamise tulemusel saadi eluskultuurina kasvama kaheksa isendit, millest kolme puhul sai mikroskoopiliste tunnuste sarnasuse põhjal olla kindel, et kultuuri on saanud *Illosporiosis christiansenii*. MEA söötmel kasvanud eksemplarist nr 11 ja PDA söötmel kasvanud eksemplarist nr 9 tehti hilisema uurimise käigus DNA eraldus ja edasised analüüsid.

*Illosporiosis christiansenii* kultuurina kasvatamise käigus jälgiti ja kirjeldati kultuuride kasvu ja elutsükli (Tabel 3). Esimese kümne päeva jooksul täheldati söötmetel kollase pärmimeenutava inokulumi teket, millelt kasvasid valged tõusvad ja harunevad hüüfid. Kümme päeva kasvanud mütseel oli tsonaalne ja sai eristada kollakamat ääristsooni ning roosakamat keset (*Munsell book of color* värvikataloogi kood: 10R 8/6 PDA söötmetel ja 10R 7/6 MEA söötmetel) (*Munsell book of color: neighboring hues edition, matte finish collection*, 1970). MEA söötmetel kasvanud mütseelil oli kümnendaks kasvupäevaks märgata keskosas kollakaid ja valkjaid vedelikutilkasid (Joonis 4), mis jäid alles terve katseperioodi vältel.

Teisel kasvunädalal sai MEA söötmetel kasvavatel mütseelides täheldada tsonaalsuse täienenemist (Joonis 4). Ühel MEA söötmetel (Tabel 3: 11 I) oli mütseel jaotunud kolmeks tsooniks: servast esimene tsoon oranžroosa (2,5Y 8,5/8), teine tsoon heleroosa (2,5YR 6/12) ja kolmas tsoon tumeroosa (10R 5/4). Teisel MEA söötmetel (Tabel 3: 11 II) oli mütseel aga jaotunud kaheks tsooniks: servaosa tsoon heleroosa (10R 7/6), keskmine tsoon tumedam roosa (10R 6/4). MEA söötmetel oli agar inokulumi all valge ning inokulum tsoonidena serva suunas helenev. PDA söötmetel polnud inokulumidel tsonaalsus märgatav, mütseel oli värvuselt ühtlaselt heleroosa (10R 8/6) ning agar inokulumi all oli tumedat värvi.

Pärast kolmandat nädalat kultuurikasvu võis märgata nii PDA kui ka MEA söötmetel arenevatel mütseelidel värvide intensiivistumist. Pärast kolme nädalat oli kultuur PDA söötmetel saastunud ning seega teostati ümberkülv. Ümberkülv teostati PDA söötmetelt MEA söötmele, sest MEA söötme kultuuridel oli täheldatud sobivamaid kasvutingimusi (Joonis 5). Küll aga jälgiti endiselt ka saastunud kultuuri kasvu, kuna saastus polnud liialt intensiivne. Ümberkülvatud kultuuri (Tabel 3: 9 II) kasvu hakati kirjeldama kolm nädalat pärast ümberkülvit (Tabel 3: kultuuride kuues kasvunädal), kui oli märgata saastunud kultuurist eristuvaid tunnuseid. PDA söötmetel kasvav kultuur oli värvuse poolest hele, oranžikasroosa (10R 7/12). Tsonaalselt serva suunas helenevatel MEA kultuuridel sai mõlemil eristada servaosast keskosa poole 3 tsooni: esimene tsoon ereoranž (10 YR 7/12), teine tsoon sügav roosa (10R 5/8) ja kolmas tsoon roosakaslilla (10R 5/2). Mõlemal MEA söötmetel sai täheldada roosakaslilla kolmanda tsooni laienemist. Võrreldes PDA söötmetel areneva mütseeliga, oli MEA söötme kultuuride õhumütseelis rohkem valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ning kohati oli märgata ka pigmenteerunud hüüfe (Joonis 7). Kui üldiselt olid hüüfid valdavalt valget värvi, siis koloonia keskel vedelikutilkade juures leidis hüüfe, mis olid roosaks värvunud.

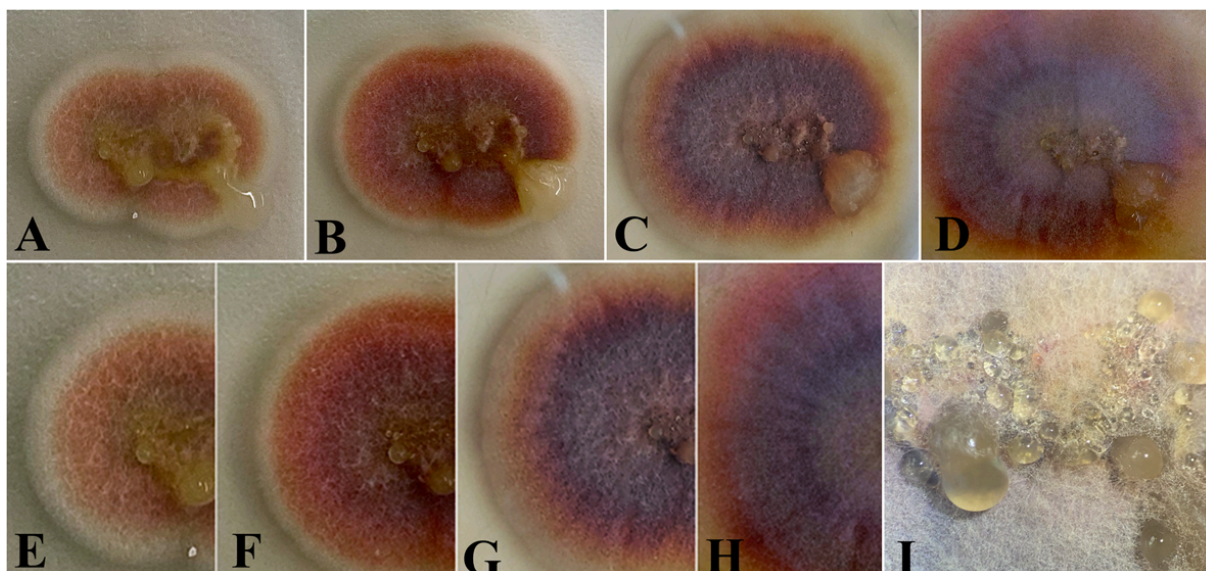


Kuu aega MEA söötmel kasvavatel mütseelidel oli endiselt säilinud tsonaalsus kolme vöödina: esimene tsoon heleroosa (10YR 7/10), teine tsoon tumeroosa (10R 6/6), kolmas tsoon tumelilla (10R 5/4). MEA söötmel sai täheldada esimese tsooni kasvumist kõige laiemaks tsooniks inokulumis ning agar inokulumi all polnud enam võrreldes ümbritsevaga heledam. Kuuaegse kasvu tulemusena polnud PDA söötmel kasvaval kultuuril tsonaalsust tekkinud, inokulum oli ereoranž (2,5YR 8/8) ning agar inokulumi all polnud enam tumedam. PDA söötmel kasvanud kultuuri äärealadel võis märgata pisikesi punase pigmendi kogumikke. Endiselt oli MEA söötme kultuuridel võrreldes PDA söötme kultuuriga hüüfe rohkem, kusjuures inokulumi keskel oli hüüfe kõige ohtramalt.

Poolteist kuud kultuurina kasvanud MEA söötme inokulumidel oli märgata teatavat tsonaalsuse hajumist (Joonis 4). Kui eelnevalt sai MEA söötmel märgata selgepiirilist eristuvaid värvitsoone, siis pärast poolteist kuud kasvu sai näha, kuidas keskmine tumelilla tsoon kasvas kiirtena äärte poole ning hajutas eelnevalt selgesti märgatava tsonaalsuse. Siiski saab MEA söötme kultuuridel eristada kahte tsooni: esimene tsoon ereoranž mõninga tumelilla kiirega, teine tsoon tumelilla (10R 4/4). Seejuures oli agar MEA söötme kultuurides värvunud kollakaks. Pärast kolmandat kasvunädalat teostati saastuse tõttu PDA söötmelt ümberkülv ning kolm nädalat pärast ümberkülvit võis märgata kahe kultuuri vahel erinevusi. Saastunud PDA söötme kultuuril (Tabel 3: 9 I) täheldati, et võrreldes teiste kultuuridega pole antud inokulumi kasvukuju kiirjas. Kultuuri kasv toimus küll keskelt äärte suunas, kuid kuju polnud niivõrd korrapärane kui teistel kultuuridel. Kusjuures oli ka saastunud kultuuriga PDA söötme agar värvunud võrreldes eelnevaga kollakamaks. Kultuuri värvusel võis märgata keskelt ääre suunas helenemist, kuid konkreetset eristuvaid tsoone ei nähtud. Saastunud PDA kultuur oli võrreldes eelneva vaatlusega tumedam oranž (5R 5/4), samas kui ümberkülvatud kultuuril MEA söötmel (Tabel 3: 9 II) võis eristada kollakamat ääristsooni ning ereoranži (2.5YR 8/8) keset.

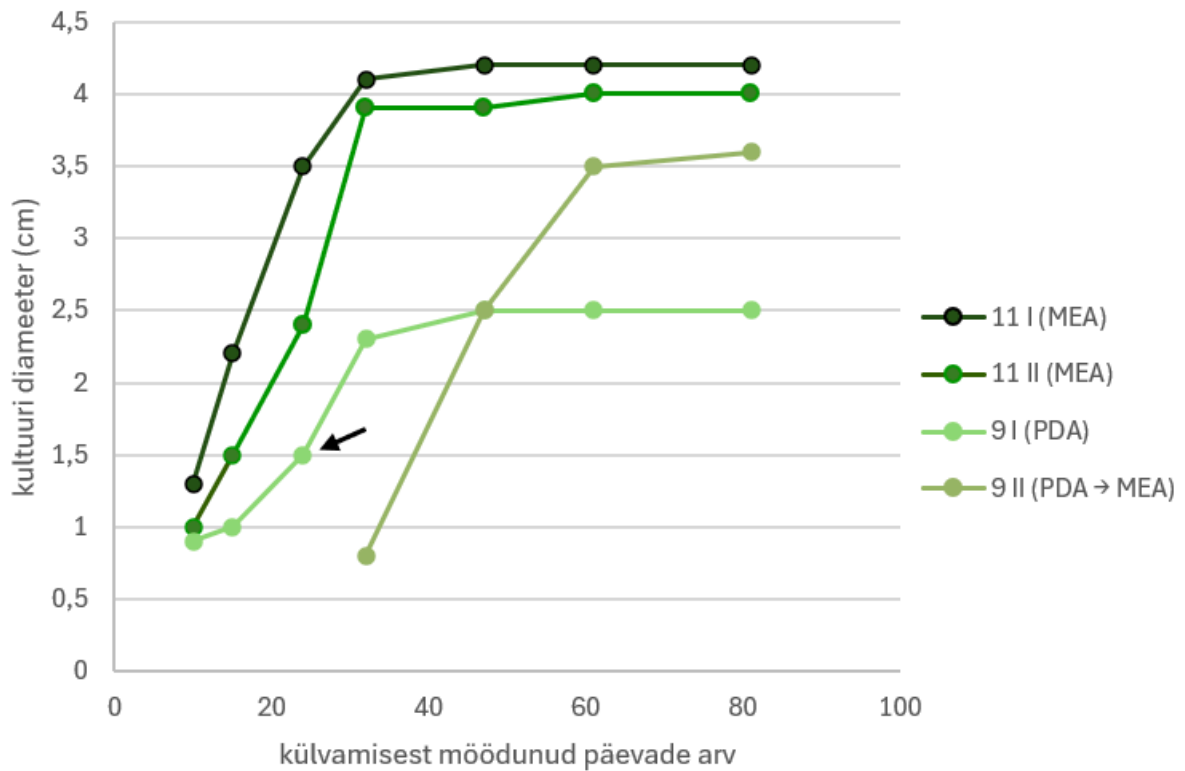
Kaks kuud MEA söötmel kasvanud eluskultuuridel sai täheldada tsonaalsuse jätkuvat hajumist, kuid sellele vaatamata olid värvuse poolest eristuvad kaks tsooni: esimene tsoon jätkuvalt ereoranž punakaslillade kiirtega ja teine tsoon tumelilla (10R 4/6). Kahe kuu möödudes külvamisest polnud PDA söötmele külvatud kultuuril tsonaalsust välja kujunenud, kuigi endiselt oli värvus intensiivsem inokulumi keskel helenedes äärte suunas. Saastunud kultuuri ereoranž toon oli muutunud heledamaks, mida võib seostada saastuse intensiivistumisega. Kolmandal nädalal ümberkülvatud MEA söötmel kasvaval kultuuril (Tabel 3: 9 II) ei olnud ümberkülvist kuu möödudes endiselt tsonaalsust välja kujunenud.

Kultuuri värv oli ühtlaselt ereoranž (2.5YR 8/8). Seejuures hüüfe oli ümberkülvatud kultuuris tunduvalt vähem võrrelduna sama kaua kasvanud MEA söötme kultuuridega, kuhu oli külvatud eksemplari nr 11. Uute moodustistena võis kuu pärast ümberkülvi kultuuril näha palju pisikesi heledamaid mügaraid.



Joonis 4. Tsonaalsuse täienemine, hajumine ja vedelikutilgad. Tsonaalsuse täienemine on näha esimesel kahel vasakpoolsel pildil, üleval üldpildina (A – B) ja all suurendatult tsoonidest (E – F). Tsonaalsuse hajumine on näha kahel järgneval pildil, üleval üldpildina (C – D) ja all suurendatult kultuurist (G – H). I – vedelikutilgad kultuuri keskosas (kultuur 11 II, MEA); A, E – kultuur 11 II esimesel kasvunädalal; B, F – kultuur 11 II teisel kasvunädalal; C, G – kultuur 11 II kolmandal kasvunädalal; D, H – poolteist kuud kasvanud kultuur 11 II. Fotod: Miia Puidet, 2024

Kahe kuu möödudes oli kultuuride kasv pidurdumas, värvuse muutusi polnud märgata ega leitud ka muud laadi morfoloogilisi muutusi. Katseperioodi käigus mõõdeti muuhulgas kultuuride kasvu ning saadud tulemused näitavad, et MEA söötmel kasvanud kultuurid kasvasid kiiremini võrreldes PDA-l kasvanud kultuuriga. Eriti hästi ilmestab kultuuride kasvukiiruste erinevust kahel söötmel algselt PDA söötmel kasvanud eksemplar nr 9, mis saastumise tagajärjel ümberkülvati MEA söötmele. MEA-le ümberkülvatud mütseel kasvas 15 päevaga sama suureks kui eelnevalt 47 päeva PDA söötmel kasvanud mütseel. Seejuures saavutasid MEA söötmel kasvanud kultuurid ka suuremad inokulumid võrreldes PDA-l kasvanud kultuuridega (Joonis 5).



Joonis 5. Kultuuride kasvukiirus. Joonise horisontaalteljel on märgitud külumisest möödunud päevade arv ning vertikaalteljel on tähistatud kultuuride diameeter sentimeetrites. Erinevad kultuurid (11 I, 11 II, 9 I, 9 II) on tähistatud eraldi ajajoontena. Sulgudes on välja toodud sööde, millel kultuur kasvas. PDA söötmel kasvanud kultuuri 9 I puhul toimus kolmandal kasvunädalal ümberkülv, mis on joonisel tähistatud noolega. 9 II kultuur tähistab ümberkülvist kasvanud uut kultuuri MEA söötmel.

Tabel 3. Kronoloogiline kultuuride kasvu kirjeldus: eksemplari number, millelt kultuur külvati ja sööde, millele kultuur külvati, morfoloogilised muutused, kultuuride värvus, söötme värvus inokulumi all lähtudes külumisest möödunud ajast.

Kultuuride kümnes kasvupäev			
Eksemplari nr	9	11 I	11 II
Sööde	PDA	MEA	MEA

<b>Morfo- loogilised tunused</b>	Pärmi meenutav inokulum; valged tõusvad ja harunevad hüüfid	Pärmi meenutav inokulum; valged tõusvad ja harunevad hüüfid; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel	Pärmi meenutav inokulum; valged tõusvad ja harunevad hüüfid; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel
<b>Kultuuri värvus</b>	Kollakam ääristsoon, roosakam kese (10R 8/6)	Kollakam ääristsoon, roosakam kese (10R 7/6)	Kollakam ääristsoon, roosakam kese (10R 7/6)
<b>Kultuuride teine kasvunädal</b>			
<b>Eksemplari nr</b>	9	11 I	11 II
<b>Sööde</b>	PDA	MEA	MEA
<b>Morfo- loogilised tunused</b>	Valged tõusvad ja harunevad hüüfid õhumütseelis	Valged tõusvad ja harunevad hüüfid; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel	Valged tõusvad ja harunevad hüüfid; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel
<b>Kultuuri värvus</b>	Tsonaalsus puudub; ühtlaselt heleroosa (10R 8/6)	3 tsooni: I tsoon oranžroosa (2,5Y 8,5/8), II tsoon heleroosa (2,5YR 6/12), III tsoon tumeroosa (10R 5/4)	2 tsooni: I tsoon heleroosa (10R 7/6), II tsoon tumedam roosa (10R 6/4)
<b>Agari värvus inokulumi all</b>	Agar inokulumi all tume	Agar inokulumi all valge	Agar inokulumi all valge
<b>Kultuuride kolmas kasvunädal</b>			
<b>Eksemplari nr</b>	9	11 I	11 II
<b>Sööde</b>	PDA	MEA	MEA

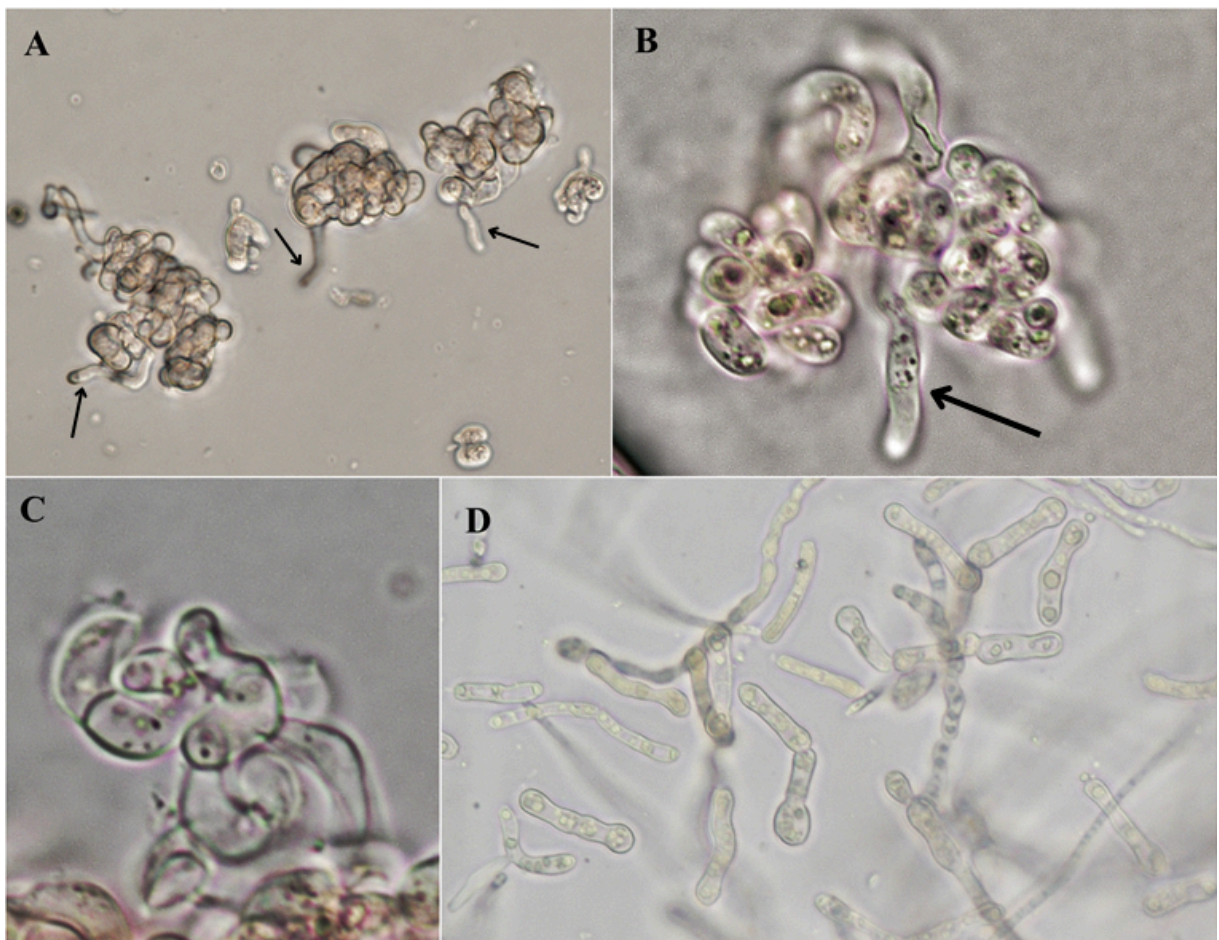
<b>Morfo- loogilised tunused</b>	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel; roosakaslilla III tsooni laienemine	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; kohati pigmenteerunud hüüfid; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel; roosakaslilla III tsooni laienemine
<b>Kultuuri värvus</b>	Kultuuri värvuse intensiivistumine; tsonaalsus puudub; ühtlaselt hele, oranžikasroosa (10R 7/12)	Kultuuri värvuse intensiivistumine; 3 tsooni: I tsoon ereoranž (10 YR 7/12), II tsoon sügav roosa (10R 5/8), III tsoon roosakaslilla (10R 5/2)	Kultuuri värvuse intensiivistumine; 3 tsooni: I tsoon ereoranž (10 YR 7/12), II tsoon sügav roosa (10R 5/8), III tsoon roosakaslilla (10R 5/2)
<b>Agari värvus inokulumi all</b>	Agar inokulumi all tume	Agar inokulumi all valge	Agar inokulumi all valge
<b>Kultuuride neljas kasvunädal</b>			
<b>Eksemplari nr</b>	9	11 I	11 II
<b>Sööde</b>	PDA	MEA	MEA

<b>Morfo- loogilised tunused</b>	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt; pisikeste punaste kogumike teke	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel; heleroosa I tsooni kasvamine kõige laiemaks tsooniks inokulumis	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel; heleroosa I tsooni kasvamine kõige laiemaks tsooniks inokulumis	
<b>Kultuuri värvus</b>	Tsonaalsus puudub; ühtlaselt ereoranž (2,5YR 8/8)	3 tsooni: I tsoon heleroosa (10YR 7/10), II tsoon tumeroosa (10R 6/6), III tsoon tumelilla (10R 5/4)	3 tsooni: I tsoon heleroosa (10YR 7/10), II tsoon tumeroosa (10R 6/6), III tsoon tumelilla (10R 5/4)	
<b>Agari värvus inokulumi all</b>	Agar inokulumi all pole värvunud	Agar inokulumi all pole värvunud	Agar inokulumi all pole värvunud	
<b>Kultuuride kuues kasvunädal</b>				
<b>Eksemplari nr</b>	9 I	9 II	11 I	11 II
<b>Sööde</b>	PDA	MEA	MEA	MEA
<b>Morfo- loogilised tunused</b>	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; kollakad ja valkjad vedelikutilgad mütseeli keskel

<b>Kultuuri värvus</b>	Tsonaalsus puudub; äärte suunas helenev tumedam oranž (5R 5/4)	kollakam ääristsoon, ereoranž kese (2.5YR 8/8)	Tsonaalsuse hajumine; 2 tsooni: I tsoon ereoranž mõninga tumelilla kiirega, II tsoon tumelilla (10R 4/4)	Tsonaalsuse hajumine; 2 tsooni: I tsoon ereoranž mõninga tumelilla kiirega, II tsoon tumelilla (10R 4/4)
<b>Agari värvus inokulumi all</b>	Agar inokulumi all kollakas	Agar inokulumi all pole värvunud	Agar inokulumi all kollakas	Agar inokulumi all kollakas
<b>Kultuuride kaheksas kasvunädal</b>				
<b>Eksemplari nr</b>	9 I	9 II	11 I	11 II
<b>Sööde</b>	PDA	MEA	MEA	MEA
<b>Morfo-loogilised tunused</b>	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe keskmiselt	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; lisandunud kollakaid ja valkjaid vedelikutilkasid mütseeli keskele	Õhumütseelis valgeid tõusvaid ja harunevad hüüfe ohtralt; hüüfe enim inokulumi keskel; lisandunud kollakaid ja valkjaid vedelikutilkasid mütseeli keskele
<b>Kultuuri värvus</b>	Tsonaalsus puudub; äärte suunas helenev heledam ereoranž	Tsonaalsus puudub; ühtlaselt ereoranž (2.5YR 8/8)	Tsonaalsuse hajumine; 2 tsooni: I tsoon ereoranž punakaslillade kiirtega, II tsoon tumelilla (10R 4/6)	Tsonaalsuse hajumine; 2 tsooni: I tsoon ereoranž punakaslillade kiirtega, II tsoon tumelilla (10R 4/6)
<b>Agari värvus inokulumi all</b>	Agar inokulumi all kollakas	Agar inokulumi all pole värvunud	Agar inokulumi all kollakas	Agar inokulumi all kollakas

## 4.2 Mikroskoopilised tunnused

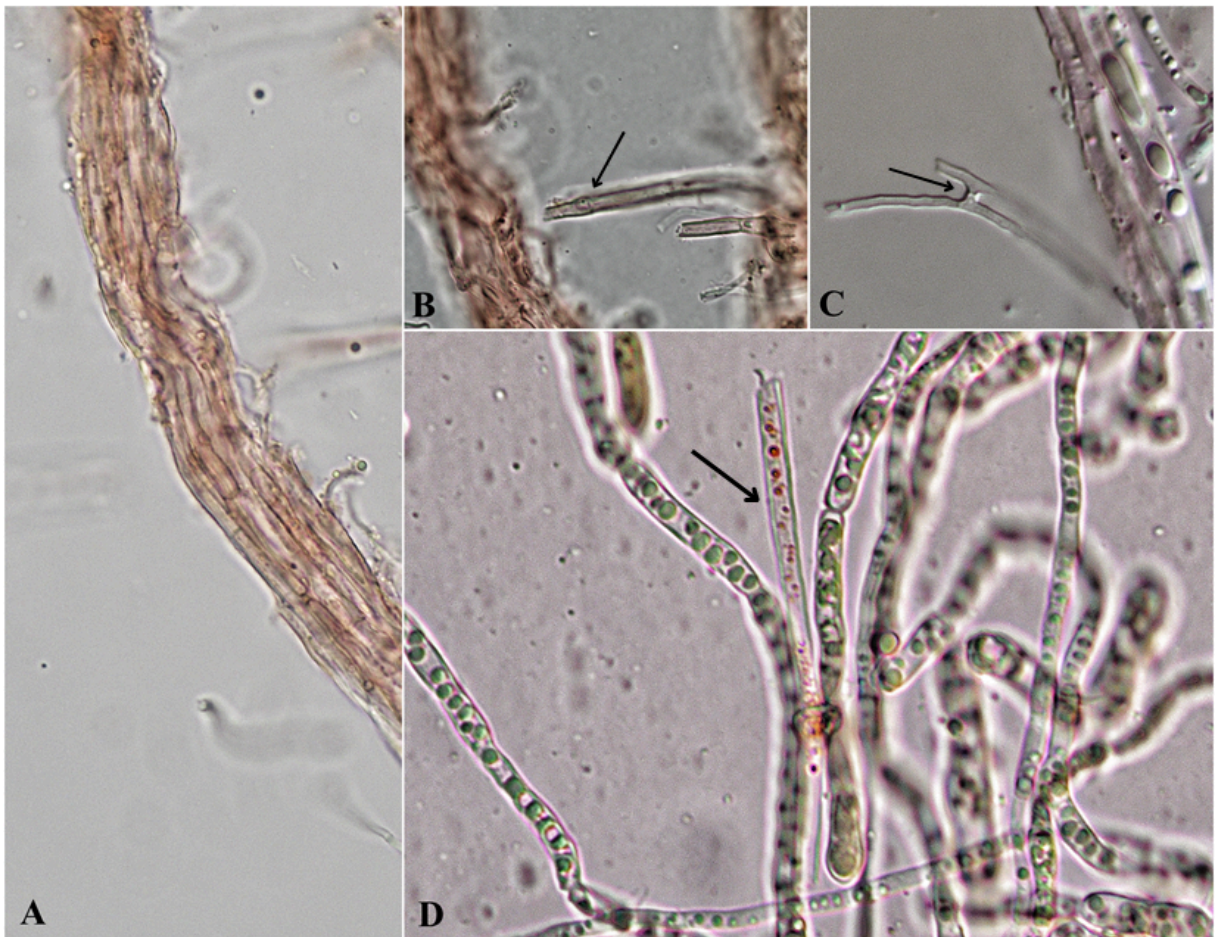
Harilike seeneniitide seas võis mikroskopeerides märgata selliseid hüüfe, mis kätkesid endas koniidi algmeid (konidiogeensete rakkude kogumikke). Konidiogeenseteks hüüfideks osutusid võrdlemisi jämedad hüüfid, milles sisaldus rohkem varuaineid koniidi edasiseks arenguks. Eri arengujärgus koniide mikroskopeerides ilmnes, et laiemad hüüfid, millest koniidide teke alguse sai, fragmenteerusid väiksemateks hüüfiosadeks pärast koniidide kujunemist. Koniidi idanedes roteerub eraldunud hüüf ümber oma telje moodustades viimaks ruumilise keerdunud koniidi (Joonis 6). Valminud koniide võis mõnel juhul näha teineteise ümber koondunult sporodohhidena.



Joonis 6. Koniidid. A – ruumilised keerdunud koniidid välja kasvavate hüüfidega (märgitud musta noolega) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, eksemplar nr 1); B – idanev koniid välja ulatava hüüfiga (must nool) (100x suurendus, H<sub>2</sub>O, PDA); C – algusjärgus idanev koniid (100x suurendus, H<sub>2</sub>O, PDA); D – lühikesed hüüfiosad pärast koniidide teket (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, PDA). Fotod: Miia Puidet, 2024



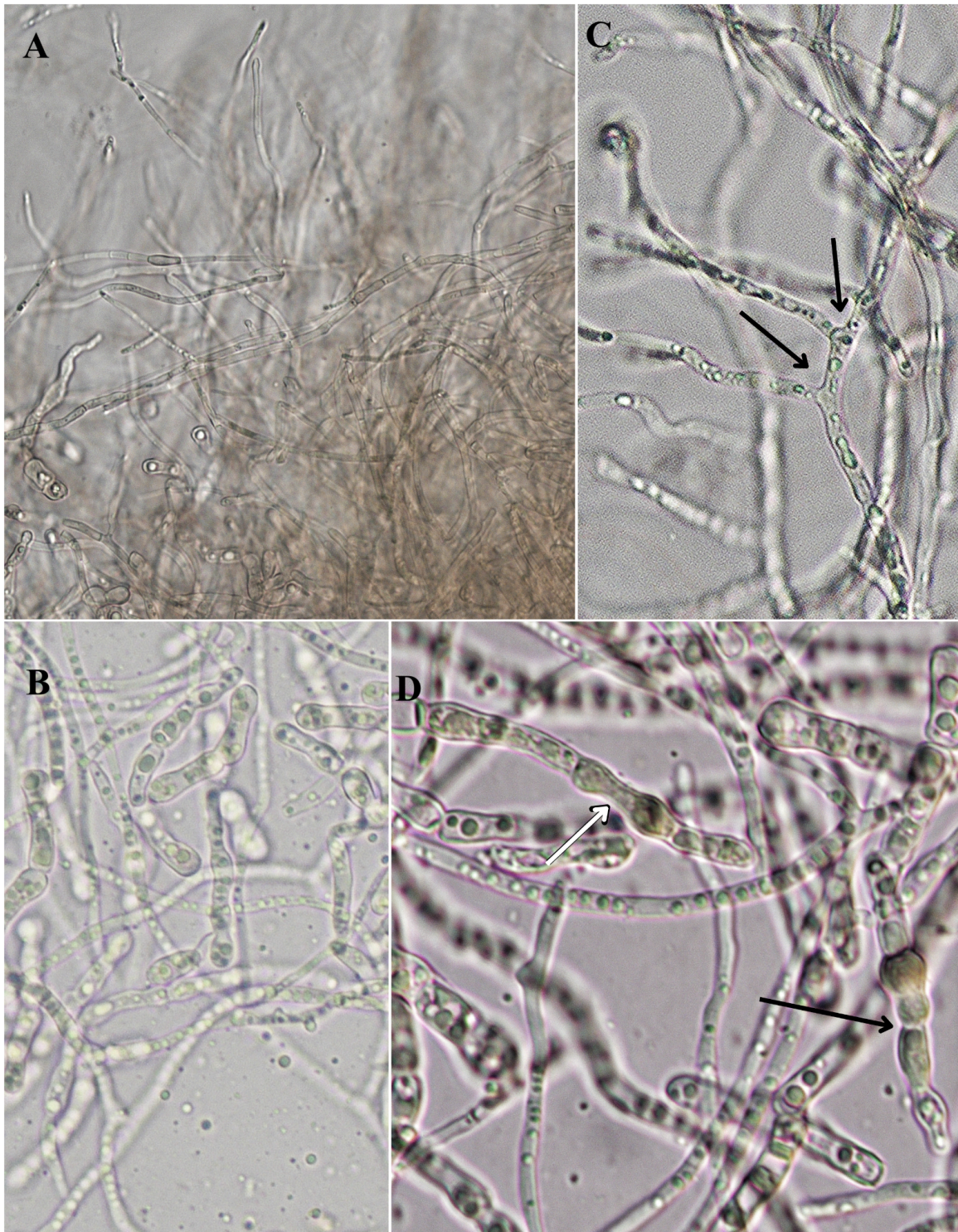
Üldjoontes olid hüüfid värvuselt pigem roosakad kui läbinisti hüaliinsed, misjuures esines PDA söötmel ka pigmenteerunud hüüfe või hüüfi osasid. Roosa värv ja selle intensiivistumine tuli esile MEA söötmel kimpudesse (laius 8–18,6  $\mu\text{m}$ ) koondunud seeneniitide puhul, kus oli mõnel juhul märgata ka hüüfide vahel anastomoose ehk ristliistakuid. Kimbud MEA söötme kultuurides esinesid pigem küpsetel (vanadel) kultuuridel, mis olid saavutanud maksimaalse kasvu (Joonis 7).



Joonis 7. Hüüfikimbud. A – üldpilt kimpu koondunud hüüfidest (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, MEA); B – anastomoos (märgitud musta noolega) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, MEA); C – hüüfikimbust väljaulatuv anastomoos (must nool) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, MEA), D – punaste pigmentitilkadega hüüf (must nool) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, PDA). Fotod: Miia Puidet, 2024

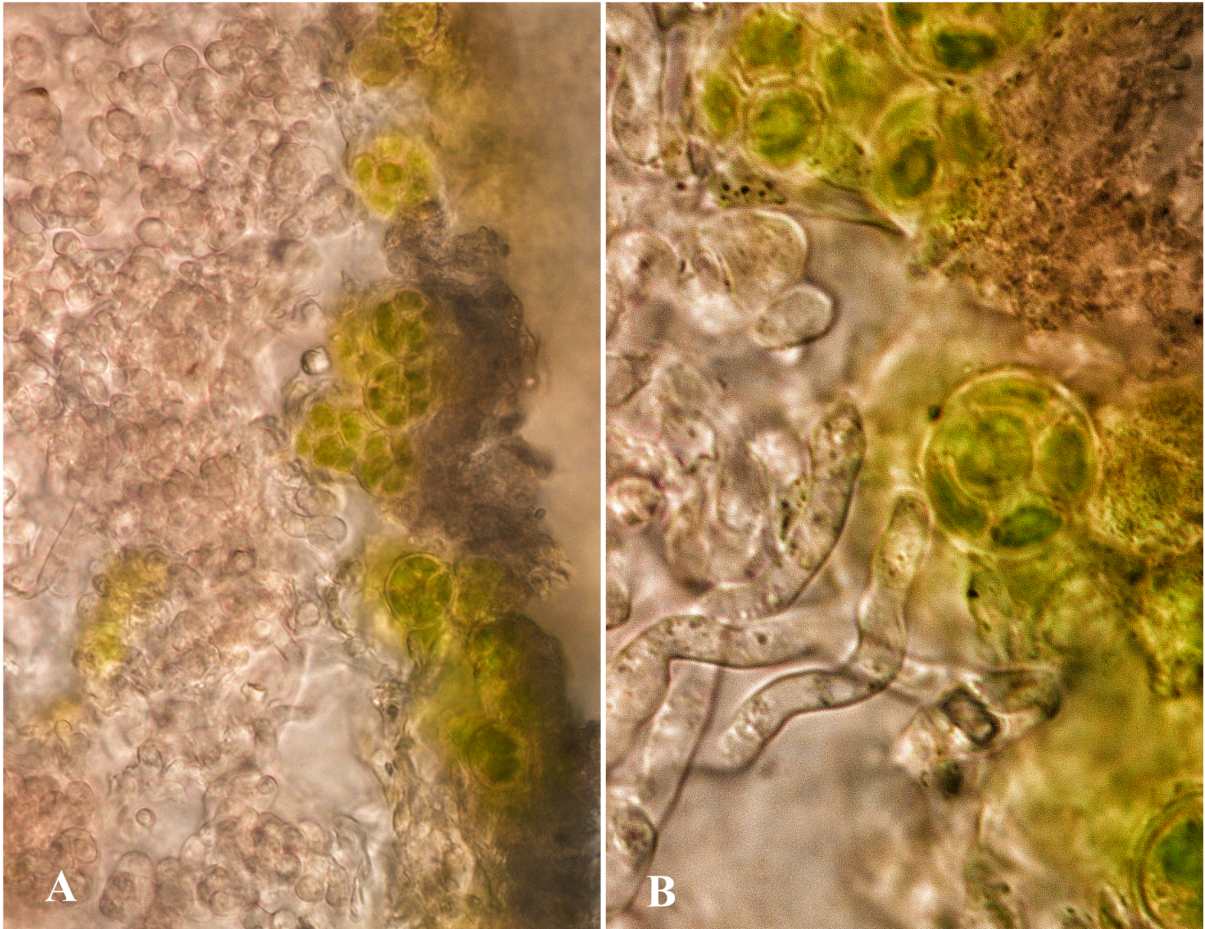
Kultuuride mütsele mikroskopeerides võis märgata kahte sorti hüüfe – paksemaid (2,5–3,7  $\mu\text{m}$ ) ja peenemaid (1,2–1,8  $\mu\text{m}$ ). Pikemat kasvu hüüfid olid seejuures ebakorrapäraselt harunenud. Erimõõtmelistel seeneniitidel esinesid korrapäratute vahemike järel vaheseinad, kust hüüfid olid sissenõrduvad. Fragmendi pikkus oli üpris varieeruv (14–20  $\mu\text{m}$ ). Kuigi sissenõrdumine vaheseinte juures on selgelt nähtav, tuleb seejuures esile tuua, et laiema

läbimõõduga seeneniidid olid läbinisti pigem ebatasase (lainelise) pinnaga. Ent olenemata osade hüüfide konarlikust välisilmest olid hüüfiseinad siledad (Joonis 8).



Joonis 8. Mütseel. A – üldpilt mütseelist (suurendus 10, H<sub>2</sub>O, MEA); B – peenemad ja paksemad hüüfid mütseelis (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, PDA); C – hüüfi harunemine (tähistatud nooltega) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, MEA); D – sissenõrdumine vaheseinte juurest (must nool) ja ebatasase pinnaga laiemad hüüfid (valge nool) (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, PDA). Fotod: Miia Puidet, 2024

Töö käigus mikroskopeeriti ka peremees–samblikul kasvavat *Illosporiopsis christiansenii*'d, et teha kindlaks, kas vahetult sporodohhi all on märgata foto- või mükobiondi kahjustusi. Selleks lõigati ristlâbilõige läbi *Illosporiopsis christiansenii* sporodohhi ja läbi peremees-sambliku talluse. Mikroskopeerimine näitas, et *Illosporiopsis christiansenii* hüüfid ei tungi vetikarakkude sisse ja fotobiont näis lähtudes erksast värvist ning kahjustamata rakkudest olevat heas seisundis (Joonis 9).



Joonis 9. Lâbilõige peremees–samblikust. A – *Illosporiopsis christiansenii* koniididemass ja mütseel peremees–sambliku pinnal (suurendus 100x, H<sub>2</sub>O, eksemplar nr 1); B – *Illosporiopsis christiansenii* hüüfid kasvamas fotobiondi kohal (suurendus 10x, H<sub>2</sub>O, eksemplar nr 1). Fotod: Miia Puidet, 2024

#### 4.3 *Illosporiopsis christiansenii*'ga seotud kooslused

Töö raames mikroskopeeriti kollektsiooni kogutud eksemplare ning määrati neil esinenud liigid (Lisa 1; Tabel 1). Eksemplaridel kasvavas erinevaid samblikke ja lihhenikoolsete seente

liike. 28 eksemplarilt tuvastati kokku 34 erinevat liiki, millest enamuse moodustasid samblikud (22 liiki). Lihhenikoolseid seeni leiti eksemplaridelt kokku kümme.

Kollektsiooni samblike elurikkuses esines kõige sagedamini hariliku korpsambliku (*Xanthoria parietina*) (26 eksemplaril 28-st) ja täpelist rosettsambliku (*Physcia aipolia*) (26 eksemplarilt 28-st), mis olid ka paljude *Illosporiosis christiansenii* eksemplaride substraadiks (Tabel 1). Tihti (üle pooltel eksemplaridel) esines ka *Lecanora chlarotera* (20 eksemplaril), kahvatu liudsamblik (*Lecanora carpinea*) (19 eksemplaril), *Candelariella vitellina* (16 eksemplaril) ja rips-rosettsamblik (*Physcia tenella*) (15 eksemplaril). Pooltel eksemplaridel oli hägu-tõmmusamblik (*Phaeophyscia orbicularis*). Lihhenikoolsetest liikidest oli enim esindatud *Pronectria leptaleae* (16 eksemplaril).

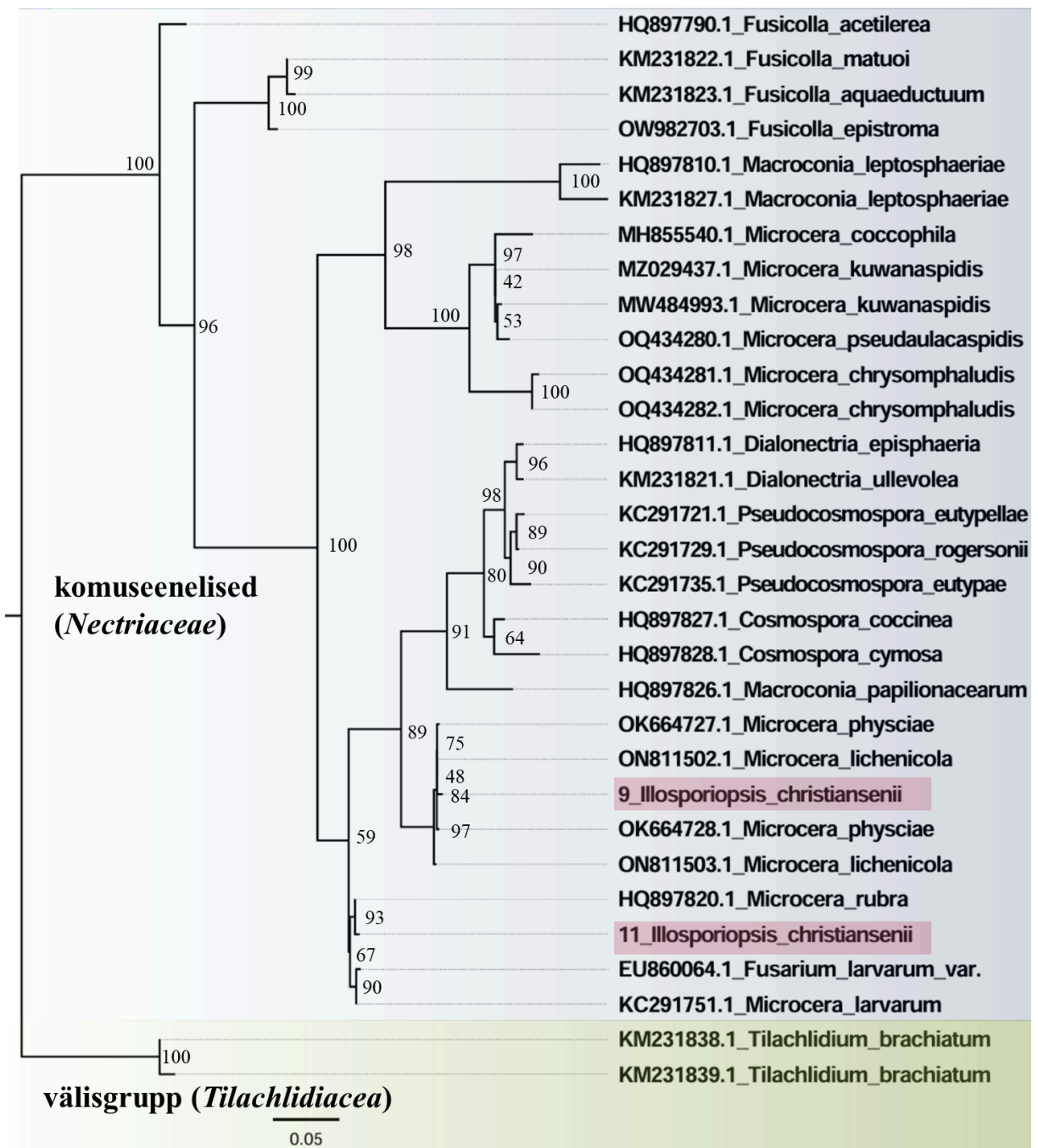
#### 4. 4 Molekulaarsed tulemused

Valitud praimerite kombinatsioonidest saadi amplifsteerimisel tulemused kombinatsioonidega ITS5 ja ITS4 mõlemalt kultuurilt (9 ja 11 II) eraldatud DNA puhul ning ühest kultuurist (11 II) ka kombinatsiooniga ITSOF ja LA-W.

Võrreldes saadud järjestusi olid sarnasemateks geenipanga vasteteks NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) puhul komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonna *Microcera* perekonda kuuluvad liigid *Microcera larvarum*, *M. rubra*, *M. coccophila*, *M. physciae* ja *M. lichenicola*. Lähedasteks liikideks pakuti ka perekond *Cosmospora* liike *Cosmospora aurantiicola*, *C. khandalensis*, *C. coheniae*, *C. nothepisphaeria* (= *Fusarium ciliatum*). Komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonnast saadi sarnasteks vasteteks veel üksikuid liike erinevatest perekondadest: *Scolecofusarium ciliatum*, *Fusicolla quarantena*, *Pseudocosmospora vilior* ja *Neocosmospora tenuicristata* (= *Fusarium tenuicristatum*). Ainus lähedane vaste, mis ei kuulunud komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda oli *Pronectria oligospora*, mis aga siiski paigutub helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi. UNITE andmebaasis DNA järjestusi võrreldes saadi lähedasteks liikideks vaid eelpool välja toodud komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda *Microcera* perekonda kuuluvaid liike.

Fülogeneesipuul paigutuvad mõlemad sekventsidsid eksemplaridelt nr 9 ja 11 kottseente (*Ascomycota*) hõimkonda, *Sordariomycetes* klassi, helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi ja komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda, kuid see-eest erinevatesse harudesse (Joonis 1).

Mõlema *Illosporiopsis christiansenii* proovid paiknevad fülogeneesipuul *Microcera* perekonnas. Eraldi klaadidesse paigutununa on ühe sekventsi (9\_*Illosporiopsis christiansenii*) lähimaks taksoniks *Microcera lichenicola* (ON811502) ja *Microcera physciae* (OK664728) ning teise (11\_*Illosporiopsis christiansenii*) lähimaks liigiks *Microcera rubra* (HQ897820).



Joonis 2. Fülogeneesipuu. Numbrid harude kohal tähistavad *bootstrap*-väärtusi. Käesolevas töös loetakse klaadi toetatuks, kui selle väärtus on suurem või võrdne 75.

## 5. Arutelu

Kõik katsed *Illosporiopsis christiansenii*'d kultuurina kasvatada ei õnnestunud. Paljuski võis ebaedu olla tingitud välise saaste ohust, see tähendab kiiremakasvulisemate seente konkurentsist. Saastumine võis olla põhjustatud seene substraadiga kaasnevast elurikkusest (peremees-samblikul kasvavad teised mikroseened) või õhuga kokkupuutest (teiste seente levivad eosed). Töö käigus selgus, et teatud söötmed *Illosporiopsis christiansenii* kasvuks lihtsalt ei sobinud (CMA) või aeglustasid kultuuride kasvu (PDA). See kinnitab varasematest katsetest selgunud tõsiasja, et paljude lihhenikoolsete seente kasvutingimused laborikeskkonnas on nõndasama spetsiifilised nagu need on looduslikes oludes (Crittenden *et al.*, 1995; Gilbert, 1988; Muggia *et al.*, 2017). Töö käigus selgus, et parim sööde *Illosporiopsis christiansenii* kasvuks on MEA, kuhu ei ole lisatud antibiootikume. Tõenäoliselt ei ole *Illosporiopsis christiansenii* samblikust täielikult sõltuv parasiit, sest muidu ei oleks seen üldse kultuuris kasvama läinud. Võib oletada, et seen on osaliselt saprotoof.

Leidsime, et *Illosporiopsis christiansenii* kasvab tüüpiliselt sellistes kohtades ja pindadel, kus on palju samblikke ning neil parasiteerivad seeni (Lisa 1; Tabel 1), aga ka selliseid, ilma viljakehadeta mikroseeni, mille määramine osutus ülejõukäivaks. Kollektiooni eksemplaride elurikkust määrares tuvastati *Illosporiopsis christiansenii* lähedusest mitmeid selliseid samblikke, mis viitavad James *et al.* (1977) põhjal sellele, et *I. christiansenii* kasvab valdavalt *Xanthorion parietinae* tüüpi kooslustes. Seda tüüpi kooslusega seotud liike iseloomustab kasvamine toitainerikkal puukoorel sageli saastunud linnakeskkonnas. Lähtuvalt kirjanduses ja andmebaasides olevatest andmetest ning oma vaatlustest võib liiki leida eelkõige sügis-talvisel perioodil, mil ebasoodsamates tingimustes mittesuguline reproduktsioon ka soodsamaks osutub (*Illosporiopsis christiansenii* | *eElurikkus*, s.a.; *Illosporiopsis Christiansenii* | *GBIF*, s.a.; Lowen *et al.*, 1986). Anamorfse vormina esineva *I. christiansenii* esinemist sellistes keskkonnatingimustes kinnitab ka seene põhjapoolne levik (Joonis 2).

MEA söötmel kasvanud kultuurid (11 I, 11 II, 9 I ja 9 II) arenesid söötmel koniidide idanedes, nagu on kirjeldanud ka Lowen *et al.* (1986) MEA söötmel kasvatatud kultuuri puhul. Üksiti on meie kultuuride mikroskoopilised tulemused vastavuses ka sealse kultuurikirjeldusega, kus märgitakse, et konidiogeensed rakud, vees laialivalguvad helikoidsed koniidid ja sporodohhid on samasugused nagu samblikul kasvavatel eksemplaridel. Vastupidiselt aga Lowen *et al.* (1986) kirjeldatud aeglasekasvulisele kultuurile (kümne nädalaga läbimõõt 7 mm) kujunesid

meie MEA söötme kultuurid pigem kiiremini kasvades keskmiselt 0,5 mm päevas, PDA-l kasvanud kultuuride juurdekasv oli keskmiselt 0,2 mm päevas. Ühtlasi olid siin töös saadud eluskultuurid (11 I, 11 II, 9 I) pigem algusest peale pigmenteerunud ja valge servaosaga enne eritoni tsonaalsuse teket erinedes nii Lowen *et al.* (1986) katses kirjeldatud kultuurist, mis muutus ajapikku valgest roosaks.

Lowen *et al.* (1986) liigikirjelduses välja toodud *Illosporopsis christiansenii* mikroskoopilised tunnused on üldiselt vastavuses käesolevas töös saadud tulemustega. Küll aga märgati, et lisaks Lowen *et al.* (1986) kirjeldatud peenematele hüüfidele (1,5–2 µm) oli *Illosporopsis christiansenii* mütseelis ka paksemaid hüüfe (2,5–3,7 µm). Erinevalt Lowen *et al.* (1986) vaatlustest märkasime ühtlasi, et kultuuride vanades moodustusid hüüfidest kimbud, kus seeneniitide vahel oli märgata ka anastomoose.

Käesolevas töös ei olnud võimalik võrrelda saadud tulemusi Sikaroodi *et al.* (2001) hiljutiseimas uurimuses *Illosporopsis christiansenii* taksonoomilise kuuluvuse kohta saadud järjestustega, sest seal kasutati fülogeneesipuu koostamisel ribosomaalse RNA väikest subühikut (18S rRNA) kodeerivat geeni, mida meil aga amplifitseerida ei õnnestunud. Kuna amplifitseerimisel saadi tulemused ITS-regiooni praimeritega lähtuti antud töös tulemuste võrdlemisel Liu *et al.* (2023) DNA järjestustest.

Töö käigus saadud DNA järjestused paigutavad *Illosporopsis christiansenii* helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi, komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda ja pakuvad lähimateks taksoniteks perekonna *Microcera* liike. Ka Sikaroodi *et al.* (2001) töö paigutab *Illosporopsis christiansenii* helekottseentelaadsete (*Hypocreales*) seltsi, kuid mitte ühessegi kindlasse sugukonda. Samas saadi ka Sikaroodi *et al.* (2001) tulemuste põhjal *Illosporopsis christiansenii* üheks lähedaseimaks taksoniks kirjeldamata liik perekonnast *Fusarium*, mis kuulub samuti komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda. Teisalt oli Sikaroodi *et al.* (2001) teiseks lähedaseimaks liigiks märgitud *Illosporium carneum* Fr., mis praeguste teadmiste kohaselt kuulub hoopis helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) sugukonda *Bionectriaceae* (Diederich *et al.*, 2024). *Illosporium carneum* moodustab roosakasoranže sporodohhe, kuid erinevalt *I. christiansenii*'st tekitab kerajaid või ellipsoidseid koniide. Liikidele *I. christiansenii* ja *I. carneum* on väliselt sarnane *Hobsoniopsis santessonii* (Lowen & D. Hawks.) D. Hawks., kes kasvab kilpsamblikel (*Peltigera*) ja moodustab hallikaid kuni kollakasroosaid sporodohhe helikoidsete koniididega, kuid liik kuulub hoopis klassi *Dothideomycetes*, seltsist *Mycophaeerellaceae* (Diederich *et al.*, 2024). Sikaroodi *et al.* (2001)

ja siin töös saadud tulemused vajaksid täiendavaid uuringuid veendumaks, et seen tõepoolest kuulub komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda.

Antud töös paigutus *Illosporiosis christiansenii* perekonda *Microcera*, mille mõningaid liike on varasemalt käsitletud anamorf-perekonnas *Fusarium* (Gräfenhan *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2023). *Illosporiosis christiansenii* lähedale saadud liigid *Microcera physciae* Crous & Boers ja *Microcera lichenicola* Crous & Boers on äsja arvatud sünonüümseteks, mis läbi on *M. physciae* perekond *Microcera* ainus lihhenikoolne liik, millel on sarnaselt *Illosporiosis christiansenii*'le iseloomulik erksavärviliste (oranžide) sporodohhide moodustumine peremees-sambliku tallusele. Hüaliinsed koniidid, mis teineteise külge koondunult moodustavad sporodohhe, on sellel liigil aga kujult sirpjad (Crous *et al.*, 2022; Diederich *et al.*, 2024). Teine *Microcera* perekonna esindaja, mille lähedale *Illosporiosis christiansenii* paigutus, on *Microcera rubra* Gräfenhan & Seifert., mis tekitab kultuuris kasvades söötmele punaste pigmentidega kolooniaid (Gräfenhan *et al.*, 2011). Punaseks pigmenteerunud hüüfe võis mõnel juhul märgata ka siin töös saadud kultuurides (Joonis 7).

*Illosporiosis christiansenii* paigutumine perekonda *Microcera* võib viidata sellele, et tegemist on sünanamorfidega, kus *I. christiansenii* esindaks üht anamorfset (mittesugulist) staadiumi võttes arvesse, et ka *Microcera* perekonna lihhenikoolse liigi *Microcera physciae* (= *Microcera lichenicola*) peremees-samblikuks on enamjaolt lehtja tallusega liigid (Diederich *et al.*, 2024). Keskkonnatingimustest sõltuva kaasanamorfismi kasuks räägiks asjaolu, et *Illosporiosis christiansenii*'d on leitud eriomastes oludes – pigem sajusemal, külmemal ja vähema päevavalgusega sügis-talvisel perioodil (*Illosporiosis christiansenii* | *eElurikkus*, s.a.; *Illosporiosis christiansenii* | *GBIF*, s.a.; Lowen *et al.*, 1986). Oletatava kaasanamorfi *Microcera physciae* vaatlusandmeid on andmebaasides võrreldes *I. christiansenii*'ga tunduvalt vähem, kuid liigi levik ei näi nende põhjal olevat kitsas, vaid pigem esinevad harvad leiud mitmel pool maailmas keskkonnaproovide või mitte eriti süstemaatiliste sissekannete näol (*Microcera Physciae* | *GBIF*, s.a.). Keskkonnatingimuste muutumisest tuleneva sünanamorfismi kinnitamine vajab täiendavat uurimist.

Käesoleva töö proovidest saadud sekventsidsid on omavahel üsna sarnased (566 aluspaarist varieerus 14 – 2,6%), kuid paigutusid fülogeneesipuul siiski komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonna perekond *Microcera* erinevatesse alamklaadidesse, mistõttu on *Illosporiosis christiansenii* taksonoomilise positsiooni kindlaks tegemiseks tarvis läbi viia korduskatseid. See-eest on antud töö tulemused kinnituseks, et *Illosporiosis christiansenii* kuulub kottseente (*Ascomycota*) hõimkonna klassi *Sordariomycetes* helekottseentelaadsete (*Hypocreales*) seltsis.



## Kokkuvõte

Lihhenikoolsed seened on kohastumuslikult ja liigiliselt mitmekesine rühm väikesekasvulisi seeni, kes elunevad samblike tallusel või selle sees. Ökoloogiliselt laia kohastumusvõime tõttu on lihhenikoolsete seente eellaste seas nii lihheniseerunud (samblikemoodustavaid), fungikoolseid (seentel elutsevaid) kui ka saprotroofseid (surnud orgaanilisest materjalist toituvaid) seeni. Oletatavasti kuulub lihhenikoolsete seente hulka märksa rohkem liike kui hetkeseisuga kirjeldatud. Samas on selle mitmekesise organismide rühma paljude liikide fülogeneetiline positsioon jäänud välja selgitamata tulenevalt erisustest lihhenikoolsete seente uurimises ja paljude liikide puhul vaid anamorfsete (mittesuguliste) vormide tundmisest.

Nii pole taksonoomiline positsioon seente süsteemis lõpuni selge ka põhja poolkeral laialdase levikuga lihhenikoolse seene *Illosporiopsis christiansenii* puhul, mille pilkupüüdva värvuse tõttu on andmebaasidesse sisse kantud arvukalt vaatlusandmeid. Silmatorkavast välimusest hoolimata kirjeldati anamorfse (mittesugulise) vormina esinev *Illosporiopsis christiansenii* eraldiseisva liigina alles 1986. aastal johtuvalt seene sarnasustest teise lihhenikoolse liigiga *Marchandiomyces corallinus*. Käesoleva töö eesmärgiks oli välja selgitada lihhenikoolse seene *Illosporiopsis christiansenii* taksonoomiline kuuluvus, mille kohta võib leida vastukäivaid andmeid.

DNA analüüsiks pandi *Illosporiopsis christiansenii* kultuuris kasvama ning täiendavalt kirjeldati saadud kultuuride kasvu ja mikrokoopilisi tunnuseid. Saadud molekulaarsed tulemused paigutasid *Illosporiopsis christiansenii* helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsi, komuseeneliste (*Nectriaceae*) sugukonda ja pakkusid lähimateks taksoniteks liike perekonnast *Microcera*. Antud töö tulemused on piisavad kinnitamaks seene paiknemist helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) seltsis, kuid vajavad täiendavaid andmeid sugukonna kindlaks tegemiseks. Lisaks tuleks põhjalikumalt uurida käesolevas töös välja pakutud *Illosporiopsis christiansenii* saprotroofset eluviisi ja võimalikku kaasanamorfismi *Microcera physciae* ga.

## Summary

Lichenicolous fungi are an ecologically diverse group of small fungi that live on or within the thallus of lichens. The ancestors of lichenicolous fungi include lichenized (lichen-forming), fungicolous (living on another fungi) and saprotrophic (organic material decomposing) fungi. There are about 2000 lichenicolous fungi worldwide, but the actual number of the species may be much higher than currently described. Among the lichenicolous species, there are many of which only the anamorphic (asexual) forms are known, and therefore their phylogenetic position is unclear. Investigations on the phylogenetic positions of this diverse group of organisms are also difficult to establish because of peculiarities in the study of lichenicolous fungi.

Therefore, the taxonomic position of the lichenicolous fungus *Illosporiosis christiansenii* in the fungal system is also not completely clear. Although the fungus is widely distributed in the northern hemisphere and it has numerous observations recorded due to its eye-catching pink colour. Despite its noticeable appearance, *Illosporiosis christiansenii*, which is known as an anamorphic (asexual) form, was not described until 1986. This may have been due to its similarities to another lichenicolous species, *Marchandiomyces corallinus*. The aim of this study was to clarify the taxonomic position of the lichenicolous fungus *Illosporiosis christiansenii*, about which conflicting data can be found.

For DNA analysis, *Illosporiosis christiansenii* was grown in the laboratory and characteristics of the resulting cultures were further described. The molecular results placed *Illosporiosis christiansenii* within the order *Hypocreales*, family *Nectriaceae* and suggested species from the genus *Microcera* as the closest. The results of this work are sufficient to confirm the placement of the fungus in the order *Hypocreales*, but additional molecular data is needed to determine the position in the family. In addition, the saprotrophic lifestyle of *Illosporiosis christiansenii* and the possible synanamorphism with *Microcera physciae* are proposed in this work but should be investigated in more detail.

## Tänuavaldused

Käesolev suletöö poleks ilmavalgust näinud ilma toetuse ja abita kaasinimestelt. Seejuures sooviksin avaldada erilist tänu oma juhendajale Ave Suijale, kelle olulisust ja tähtsust töö valmimisel on keeruline alahinnata. Nõndasama nagu Ave pakkusid Marju Vahter ja Irma Zettur laboris tuge hinge ja mõistusega, mille eest olen neile väga tänumeelne.

Kõige kodust tulnud hea eest võlgnen tänu oma armsale mutrile (emale) ja isale, kes on oma lõimetise eest hästi hoolt kandnud. Uhkusega saan täna tunnistada, et Olivia suguse kompanjonita oleks see kolmeaastane põli olnud tükati kohutavalt nüri ja omapuhku oleks Temata jäänud liiast õnne ja rõõmu elus maitsmata. Samuti olen siiralt õnnis inimene, et minuga on sedaaegu olnud ja ka jäänud kallis Iti. Jään meenutama kalli seltsilise Sonja õlatunnet kirjutades küljekuti omi lõputoid ja olen tõesti tänulik, et saame edaspidigi olla kõrvuti nii heas kui halvas. Rohkem kui tänulik olen oma lemmikloom Otile, kellest tõele au andes on enam kui alati mõista. Käesoleva töö taustal on täheldatud ja tuleb nentida, et need kaks käekäiku teineteiseta ei saa.

## Kasutatud allikad

- Abarenkov, K., Nilsson, R. H., Larsson, K.-H., Taylor, A. F. S., May, T. W., Frøslev, T. G., Pawlowska, J., Lindahl, B., Põldmaa, K., Truong, C., Vu, D., Hosoya, T., Niskanen, T., Piirmann, T., Ivanov, F., Zirk, A., Peterson, M., Cheeke, T. E., Ishigami, Y., ... Kõljalg, U. (2024). The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: Sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, *52*(D1), D791–D797.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkad1039>
- Abarenkov, K., Tedersoo, L., Nilsson, R. H., Vellak, K., Saar, I., Veldre, V., Parmasto, E., Proux, M., Aan, A., Ots, M., Kurina, O., Ostonen, I., Jõgeva, J., Halapuu, S., Põldmaa, K., Toots, M., Truu, J., Larsson, K.-H., & Kõljalg, U. (2010). PlutoF—a Web Based Workbench for Ecological and Taxonomic Research, with an Online Implementation for Fungal ITS Sequences. *Evolutionary Bioinformatics*, *6*, EBO.S6271.  
<https://doi.org/10.4137/EBO.S6271>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, *215*(3), 403–410.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Arnold, A. E., Miadlikowska, J., Higgins, K. L., Sarvate, S. D., Gugger, P., Way, A., Hofstetter, V., Kauff, F., & Lutzoni, F. (2009). A Phylogenetic Estimation of Trophic Transition Networks for Ascomycetous Fungi: Are Lichens Cradles of Symbiotrophic Fungal Diversification? *Systematic Biology*, *58*(3), 283–297.  
<https://doi.org/10.1093/sysbio/syp001>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (2006). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4. tr). St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Bates, S. T., Berg-Lyons, D., Lauber, C. L., Walters, W. A., Knight, R., & Fierer, N. (2012). A preliminary survey of lichen associated eukaryotes using pyrosequencing. *The*

- Lichenologist*, 44(1), 137–146. <https://doi.org/10.1017/S0024282911000648>
- Bondartseva, M. A., & Zmitrovich, I. V. (2023). Order *Cantharellales*: Taxonomic and Ecological Diversification. *Biology Bulletin Reviews*, 13(S1), S1–S16.  
<https://doi.org/10.1134/S2079086423070046>
- Buyck, B., Kauff, F., Eyssartier, G., Couloux, A., & Hofstetter, V. (2014). A multilocus phylogeny for worldwide *Cantharellus* (*Cantharellales*, *Agaricomycetidae*). *Fungal Diversity*, 64(1), 101–121. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0272-3>
- Cannon, P., Ertz, D., Frisch, A., Aptroot, A., Chambers, S., Coppins, B., Sanderson, N., Simkin, J., & Wolseley, P. (2020). *Arthoniales: Arthoniaceae*, including the genera *Arthonia*, *Arthothelium*, *Briancoppinsia*, *Bryostigma*, *Coniocarpon*, *Diarthonis*, *Inoderma*, *Naevia*, *Pachnolepia*, *Reichlingia*, *Snippocia*, *Sporodophoron*, *Synarthonia* and *Tylophoron*. *Revisions of British and Irish Lichens*, 1, 3–48.  
<https://doi.org/10.34885/173>
- Cole, G. T., & Samson, R. A. (1979). *Patterns of development in conidial fungi* (1. tr). London: Pitman.
- Crespo, A., Kauff, F., Divakar, P. K., Del Prado, R., Pérez-Ortega, S., De Paz, G. A., Ferencova, Z., Blanco, O., Roca-Valiente, B., Núñez-Zapata, J., Cubas, P., Argüello, A., Elix, J. A., Esslinger, T. L., Hawksworth, D. L., Millanes, A., Molina, M. C., Wedin, M., Ahti, T., ... Lumbsch, H. T. (2010). Phylogenetic generic classification of parmelioid lichens (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*) based on molecular, morphological and chemical evidence. *TAXON*, 59(6), 1735–1753. <https://doi.org/10.1002/tax.596008>
- Crittenden, P. D., David, J. C., Hawksworth, D. L., & Campbell, F. S. (1995). Attempted isolation and success in the culturing of a broad spectrum of lichen-forming and lichenicolous fungi. *New Phytologist*, 130(2), 267–297.
- Crous, P. W., Begoude, B. A. D., Boers, J., Braun, U., Declercq, B., Dijksterhuis, J., Elliott, T. F., Garay-Rodriguez, G. A., Jurjević, Ž., Kruse, J., Linde, C. C., Loyd, A., Mound, L.,

- Osieck, E. R., Rivera-Vargas, L. I., Quimbita, A. M., Rodas, C. A., Roux, J., Schumacher, R. K., ... Groenewald, J. Z. (2022). New and Interesting Fungi. *Fungal Systematics and Evolution*, 10(1), 19–90. <https://doi.org/10.3114/fuse.2022.10.02>
- Darmostuk, V., Etayo, J., Rodriguez-Flakus, P., Kukwa, M., Pino-Bodas, R., Pérez-Ortega, S., & Flakus, A. (2025). A novel, exclusively lichen-inhabiting lineage of hypocrealean fungi revealed in the *Sordariomycetes*. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 54, 47–91. <https://doi.org/10.3114/persoonia.2025.54.02>
- DePriest, P. T., Sikaroodi, M., Lawrey, J. D., & Diederich, P. (2005). *Marchandiomyces lignicola* sp. Nov. Shows recent and repeated transition between a lignicolous and a lichenicolous habit. *Mycological Research*, 109(1), 57–70. <https://doi.org/10.1017/S0953756204001601>
- Diederich, P. (1990). New or interesting lichenicolous fungi 1. Species from Luxembourg. *Mycotaxon*, 37, 297–330.
- Diederich, P., Ertz, D., & Braun, U. (2024). *Flora of Lichenicolous Fungi – Vol. 2. Hyphomycetes* (Kd 2). Luksemburg: Luxembourg National Museum of Natural History.
- Diederich, P., Lawrey, J. D., & Ertz, D. (2018). The 2018 classification and checklist of lichenicolous fungi, with 2000 non-lichenized, obligately lichenicolous taxa. *The Bryologist*, 121(3), 340. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-121.3.340>
- Diederich, P., Millanes, A. M., Wedin, M., & Lawrey, J. D. (2022). *Flora of Lichenicolous Fungi. Vol. 1. Basidiomycota* (Kd 1). Luksemburg: Luxembourg National Museum of Natural History.
- eElurikkus*. (s.a.). eElurikkus. Vaadatud 20. oktoober 2024, <https://elurikkus.ee/>
- Fahselt, D. (2008). Individuals and populations of lichens. T. H. Nash (Toim), *Lichen biology* (Second Edition, lk 252–273). Cambridge: Cambridge university press.
- Friedl, T. (1987). Thallus Development and Phycobionts of the Parasitic Lichen *Diploschistes*

- Muscorum*. *The Lichenologist*, 19(2), 183–191.  
<https://doi.org/10.1017/S002428298700015X>
- Galtier, N., Gouy, M., & Gautier, C. (1996). SEAVIEW and PHYLO\_WIN: Two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Bioinformatics*, 12(6), 543–548.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/12.6.543>
- Gams, W., Diederich, P., & Põldmaa, K. (2004). FUNGICOLOUS FUNGI. G. M. Mueller, M. S. Foster, & G. F. Bills (Toim), *Biodiversity of Fungi* (lk 343–392). London: Academic Press, Elsevier.
- Gilbert, O. L. (1988). Studies on the Destruction of Lecanora Conizaeoides By the Lichenicolous Fungus Athelia Arachnoidea. *The Lichenologist*, 20(2), 183–190.  
<https://doi.org/10.1017/S0024282988000209>
- Grube, M., & Wedin, M. (2016). Lichenized Fungi and the Evolution of Symbiotic Organization. *Microbiology Spectrum*, 4(6), 1–13.  
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0011-2016>
- Gräfenhan, T., Schroers, H.-J., Nirenberg, H. I., & Seifert, K. A. (2011). An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Studies in Mycology*, 68, 79–113.  
<https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.04>
- Hafellner, J. (2018). Focus on lichenicolous fungi: Diversity and taxonomy under the principle “one fungus–one name”. P. Blanz & J. Poelt (Toim), *Biodiversity and ecology of fungi, lichens, and mosses: Kerner von Marilaun Workshop 2015 in memory of Josef Poelt* (lk 227–243). Kerner von Marilaun Workshop, Vienna, Austria. Viin: Verlag der Österreichischen Akademie der Wissenschaften.
- Hafellner, J., & Obermayer, W. (2009). The role of *Paranectria oropensis* in community dynamics of epiphyte synusia on roadside trees. *Herzogia*, 22, 177–190.
- Hanso, M., Järva, L., Jürisson, I., Kalamees, K., Karis, H., Kask, K., Kastanje, V., Kullman,

- B., Leenurm, K., Liiv, V., Lõiveke, H., Noor, H., Normet, T., Parmasto, E., Põldmaa, K., Raitviir, A., Ramst, U., Ruubas, I., Sarv, J., ... Öpik, M. (2000). *Eesti Seenestik*. Tartu: EPMÜ zooloogia ja botaanika instituut.
- Hawksworth, D. L. (1982). Secondary fungi in lichen symbioses: Parasites, saprophytes and parasymbionts. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 52, 357–366.  
[https://doi.org/10.18968/jhbl.52.0\\_357](https://doi.org/10.18968/jhbl.52.0_357)
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: The 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105(12), 1422–1432.  
<https://doi.org/10.1017/S0953756201004725>
- HerbIMI*. (s.a.). Royal Botanic Gardens, Kew. Vaadatud 8. märts 2025,  
<http://www.herbimi.info/herbimi/specimen.htm?imi=226836>
- Hibbett, D. S., Bauer, R., Binder, M., Giachini, A. J., Hosaka, K., Justo, A., Larsson, E., Larsson, K. H., Lawrey, J. D., Miettinen, O., Nagy, L. G., Nilsson, R. H., Weiss, M., & Thorn, R. G. (2014). Agaricomycetes. D. J. McLaughlin & J. W. Spatafora (Toim), *Systematics and Evolution* (lk 373–429). Berliin: Springer Berlin Heidelberg.
- Honegger, R., Edwards, D., & Axe, L. (2013). The earliest records of internally stratified cyanobacterial and algal lichens from the Lower Devonian of the Welsh Borderland. *New Phytologist*, 197(1), 264–275. <https://doi.org/10.1111/nph.12009>
- Hopple, J. S., & Vilgalys, R. (1994). Phylogenetic relationships among coprinoid taxa and allies based on data from restriction site mapping of nuclear rDNA. *Mycologia*, 86(1), 96–107. <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026378>
- Illosporiosis christiansenii*. (s.a.). [Map]. Global Biodiversity Information Facility. Vaadatud 9. veebruar 2025, <https://www.gbif.org/species/2562487>
- Illosporiosis christiansenii*. (s.a.). [Map]. eElurikkus. Vaadatud 8. märts 2025,  
<https://elurikkus.ee/app/taxonomy/taxon/152768>
- Illosporiosis christiansenii* | eElurikkus. (s.a.). Eelurikkus. Vaadatud 14. mai 2025,



<https://elurikkus.ee/app/taxonomy/taxon/152768>

*Illosporiosis christiansenii* | GBIF. (s.a.). Global Biodiversity Information Facility. Vaadatud

14. mai 2025, <https://www.gbif.org/species/2562487/metrics>

*Index Fungorum*. (s.a.). Index Fungorum. Vaadatud 20. oktoober 2024,

<https://www.indexfungorum.org/>

Jaklitsch, W., Baral, H.-O., Lücking, R., Lumbsch, H. T., & Frey, W. (2016). *Syllabus of Plant*

*Families—A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien Part 1/2: Ascomycota* (13th ed).

Stuttgart: Gebr. Borntraeger Verlagsbuchhandlung.

James, P. W., Hawksworth, D. L., & Rose, F. (1977). Lichen communities in the British Isles;

a preliminary conspectus. M. R. D. Seaward (Toim), *Lichen Ecology* (lk 296–413).

London: Academic Press.

Kelly, K. L., & Judd, D. B. (1976). *Color: Universal language and dictionary of names*.

Washington: U.S. Dept. of Commerce, National Bureau of Standards.

Kettunen, E., Schmidt, A. R., Diederich, P., Grabenhorst, H., & Rikkinen, J. (2016). Diversity

of lichen-associated filamentous fungi preserved in European Paleogene amber. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 107(2–3),

311–320. <https://doi.org/10.1017/S1755691017000111>

Laursen, G. A., & Seppelt, R. D. (2009). Lichenicolous Fungi: Parasitic and Saprophytic

Fungi on Lichens. *Common interior Alaska cryptogams: Fungi, lichenicolous fungi, lichenized fungi, slime molds, mosses, and liverworts* (lk 110–121). Fairbanks:

University of Alaska press.

Lawrey, J. D. (2002). Isolation and Culture of Lichenicolous Fungi. I. C. Kranner, R. P.

Beckett, & A. K. Varma (Toim), *Protocols in Lichenology. Springer Lab Manuals*.

Berliin: Springer Berlin Heidelberg.

Lawrey, J. D., Binder, M., Diederich, P., Molina, M. C., Sikaroodi, M., & Ertz, D. (2007).

Phylogenetic diversity of lichen-associated homobasidiomycetes. *Molecular*

- Phylogenetics and Evolution*, 44(2), 778–789.  
<https://doi.org/10.1016/j.ympbev.2006.12.023>
- Lawrey, J. D., & Diederich, P. (2003). Lichenicolous Fungi: Interactions, Evolution, and Biodiversity. *The Bryologist*, 106(1), 80–120.  
[https://doi.org/10.1639/0007-2745\(2003\)106\[0080:LFIEAB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1639/0007-2745(2003)106[0080:LFIEAB]2.0.CO;2)
- Lawrey, J. D., Diederich, P., Nelsen, M. P., Sikaroodi, M., Gillevet, P. M., Brand, A. M., & Van Den Boom, P. (2011). The obligately lichenicolous genus *Lichenoconium* represents a novel lineage in the *Dothideomycetes*. *Fungal Biology*, 115(2), 176–187.  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.12.002>
- Lawrey, J. D., Rossman, A. Y., & Lowen, R. (1994). Inhibition of selected hypocrealean fungi by lichen secondary metabolites. *Mycologia*, 86(4), 502–506.  
<https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026442>
- Li, W.-C., Zhou, J., Guo, S.-Y., & Guo, L.-D. (2007). Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*, 25, 69–80.
- Liu, F., Deng, Y., Wang, F.-H., Jeewon, R., Zeng, Q., Xu, X.-L., Liu, Y.-G., & Yang, C.-L. (2023). Morphological and molecular analyses reveal two new species of *Microcera* (*Nectriaceae*, *Hypocreales*) associated with scale insects on walnut in China. *MycKeys*, 98, 19–35. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.98.103484>
- Lowen, R., Brady, B. L., Hawksworth, D. L., & Paterson, R. R. M. (1986). Two New Lichenicolous Species of *Hobsonia*. *Mycologia*, 78(5), 842–846.  
<https://doi.org/10.2307/3807533>
- Lutzoni, F., Pagel, M., & Reeb, V. (2001). Major fungal lineages are derived from lichen symbiotic ancestors. *Nature*, 411(6840), 937–940. <https://doi.org/10.1038/35082053>
- Meng, Q.-F., Jeewon, R., Hongsanan, S., Zeng, X., Ertz, D., Jayawardena, R. S., Diederich, P., Al-Otibi, F., Hyde, K. D., Thiyagaraja, V., & Fu, S. (2025). *Reassessing the Divergence Times of the Lichenicolous Order Abrothallales and its Phylogenetically*

- Allied Orders*. SSRN. <https://doi.org/10.2139/ssrn.5210216>
- Microcera physciae* | GBIF. (s.a.). Global Biodiversity Information Facility. Vaadatud 14. mai 2025, <https://www.gbif.org/species/11476430>
- Millanes, A. M., Truong, C., Westberg, M., Diederich, P., & Wedin, M. (2014). Host switching promotes diversity in host-specialized mycoparasitic fungi: Uncoupled evolution in the *Biatoropsis-Usnea* system. *Evolution*, 68(6), 1576–1593. <https://doi.org/10.1111/evo.12374>
- Muggia, L., & Grube, M. (2018). Fungal Diversity in Lichens: From Extremotolerance to Interactions with Algae. *Life*, 8(2), 15. <https://doi.org/10.3390/life8020015>
- Muggia, L., Kopun, T., & Grube, M. (2017). Effects of Growth Media on the Diversity of Culturable Fungi from Lichens. *Molecules*, 22(5), 824. <https://doi.org/10.3390/molecules22050824>
- Munsell book of color: Neighboring hues edition, matte finish collection*. (1970). Baltimore: Munsell Color Company.
- Oja, J., Kohout, P., Tedersoo, L., Kull, T., & Kõljalg, U. (2015). Temporal patterns of orchid mycorrhizal fungi in meadows and forests as revealed by 454 pyrosequencing. *The New Phytologist*, 205(4), 1608–1618. <https://doi.org/10.1111/nph.13223>
- Olariaga, I. (2021). *Cantharellales* Gäum. Ó. Zaragoza & A. Casadevall (Toim), *Encyclopedia of mycology* (Kd 1, lk 320–328). Amsterdam: Elsevier.
- Parmasto, E. (1998). *Athelia arachnoidea*, a lichenicolous basidiomycete in Estonia. *Folia Cryptogamica Estonica Fasc.*, 32, 63–66.
- Parmeter, J. R. (Toim). (2023). *Rhizoctonia Solani, Biology and Pathology: Based on an American Phytopathological Society Symposium on Rhizoctonia solani held at the Miami meeting of the Society, October, 1965*. (2023.). Berkeley, CA: University of California Press.
- Peršoh, D., & Rambold, G. (2002). *Phacopsis*—A lichenicolous genus of the family

- Parmeliaceae*. *Mycological Progress*, 1(1), 43–55.  
<https://doi.org/10.1007/s11557-006-0004-0>
- Rambaut, A. (2018). *FigTree* (Version 1.4.4) [Software]. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Randlane, T., Saag, A., & Jüriado, I. (2004). *Eesti pisisamblikud*. Tartu: Tartu Ülikool.
- Rogerson, C. T. (1970). The Hypocrealean Fungi (*Ascomycetes*, *Hypocreales*). *Mycologia*, 62(5), 865–910. <https://doi.org/10.1080/00275514.1970.12019033>
- Rossmann, A. Y. (1996). Morphological and molecular perspectives on systematics of the *Hypocreales*. *Mycologia*, 88(1), 1–19.  
<https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026620>
- Seifert, K., Morgan-Jones, G., Gams, W., & Kendrick, B. (2011). *The genera of Hyphomycetes*. Utrecht: CBS-KNAW fungal biodiversity centre.
- Sikaroodi, M., Lawrey, J., Hawksworth, D., & Depriest, P. (2001). The phylogenetic position of selected lichenicolous fungi: *Hobsonia*, *Illosporium*, and *Marchandiomyces*. *Mycological Research*, 105, 453–460. <https://doi.org/10.1017/S0953756201003768>
- Sutton, B. C. (2014). Fungi: Classification of the *Deuteromycetes*. C. A. Batt & M. L. Tortorello (Toim), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition, lk 30–34). London: Academic Press.
- Taylor, T. N., Hass, H., & Kerp, H. (1997). A cyanolichen from the Lower Devonian Rhynie chert. *American Journal of Botany*, 84(7), 992–1004. <https://doi.org/10.2307/2446290>
- Taylor, T. N., & Krings, M. (2015). Fungal Spores. L. Taylor (Toim), *Fossil Fungi* (lk 221–238). London: Academic Press, Elsevier.
- Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B., Abarenkov, K., Suvi, T., Saar, I., & Kõljalg, U. (2008). Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *The New Phytologist*, 180(2). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02561.x>

- Tedersoo, L., May, T. W., & Smith, M. E. (2010). Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: Global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*, *20*(4), 217–263. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0274-x>
- Thell, A., Crespo, A., Divakar, P. K., Kärnefelt, I., Leavitt, S. D., Lumbsch, H. T., & Seaward, M. R. D. (2012). A review of the lichen family *Parmeliaceae* – history, phylogeny and current taxonomy. *Nordic Journal of Botany*, *30*(6), 641–664. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2012.00008.x>
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L.-T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: A fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*, *44*(W1), W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- U'Ren, J. M., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., & Arnold, A. E. (2010). Community Analysis Reveals Close Affinities Between Endophytic and Endolichenic Fungi in Mosses and Lichens. *Microbial Ecology*, *60*(2), 340–353. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9698-2>
- Werth, S., Millanes, A. M., Wedin, M., & Scheidegger, C. (2013). Lichenicolous fungi show population subdivision by host species but do not share population history with their hosts. *Fungal Biology*, *117*(1), 71–84. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.11.007>
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. M. A. Innis, J. J. Sninsky, D. H. Gelfand, & T. J. White (Toim), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (lk 315–322). Academic Press.
- Wu, J., Ma, H., Lü, M., Han, S., Zhu, Y., Jin, H., Liang, J., Liu, L., & Xu, J. (2010). *Rhizoctonia* fungi enhance the growth of the endangered orchid *Cymbidium goeringii*. *Botany*, *88*(1), 20–29. <https://doi.org/10.1139/B09-092>

## Lisad

Lisa 1. Tabel 1. Elurikkus kollektsooni eksemplaridel: Liigi nimi ja eksemplari number, millelt liik leiti

Liik	Eksemplari number																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
<i>Amandinea punctata</i>																														
parasiitnahkis ( <i>Athelia arachnoidea</i> )																														
<i>Bacidina sp.</i>																														
<i>Bryostigma parietinarium</i>																														
<i>Bryostigma phaeophysciae</i>																														
hall kuldsamblik ( <i>Caloplaca cerina</i> )																														
<i>Candelariella vitellina</i>																														
<i>Didymocyrtis epiphyscia</i>																														
<i>Erythricium aurantiacum</i>																														
harilik hallsamblik ( <i>Hypogymnia physodes</i> )																														
<i>Lecania naegelii</i>																														
kahvatu liudsamblik ( <i>Lecanora carpinea</i> )																														
<i>Lecanora chlarotera</i>																														
piir-kärnsamblik ( <i>Lecidella elaeochroma</i> )																														



