

Tartu Ülikool
Loodus- ja tehnoloogiateaduskond
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut
Mükoloogia õppetool

Sandra Mark

ENDOLIHHENIKOOLSETE SEENTE JA BAKTERITE KOOSLUSED SAMBLIKES

Bakalaureusetöö

Juhendaja: Ph.D. Ave Suija

Kaitsmisele lubatud: ...

Tartu 2014

SISUKORD

Sisukord	2
Sissejuhatus	3
I Seenekooslused samblikes	4
1.1. Seenekoosluste mitmekesisus.....	4
1.2. Endolihhenikoolsete ja endofüütsete seente geograafiline levik.....	11
1.3 Endolihhenikoolsete seente tähtsus samblikes	12
II Bakterikooslused samblikes	15
2.1 Bakterikoosluste mitmekesisus	15
2.2 Bakterikoosluste paiknemine sambliku tallusel	21
2.3 Bakterikoosluste tähtsus samblikes	22
kokkuvõte	24
Summary	26
Tänuavaldused	28
Kirjanduse loetelu	29
Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks	37
Mina, Sandra Mark	37
(autori nimi)	37

SISSEJUHATUS

Kõikides ökosüsteemides, nii looduslikes kui ka tehislikes, võivad autotroofsed ja heterotroofsed organismid elada koos sümbiootilistes suhetes (Petrini 1996; Agrios 2005). Üheks näiteks autotroofsete ja heterotroofsete organismide vahelistest sümbiootilistest suhetest on samblikud, kus sümbioosis elavad mikroskoopilised rohevetikad (*Chlorophyta*) ja/või tsüanobakterid ning seened, valdavalt kottseened (*Ascomycota*). Peale samblikku moodustavate biontide, on samblikega seotud ka muid, mitte-sümbiontseid organisme. Need organismid ei osale sümbiootilistes suhetes sambliku biontidega, vaid kasutavad samblikku kas toidu või ajutise varjupaigana (Gerson 1973). Samblike seest on eraldatud ka mitmeid selgrootute rühmi, näiteks lüliljalgseid (*Arthropoda*), keriloomi (*Rotifera*), ümarusse (*Nematoda*) ja loimureid ehk tardigraade (*Tardigrada*) (Stubbs 1989; Bartels & Nelson 2007). Samblikega on seotud ka mitmeid teisi seeni, kelle suhte iseloom samblike biontidega on täpselt teadmata ning kes kuuluvad kahte mitte-taksonoomilisse rühma – lihhenikoolsed ja endolihhenikoosid seened (Lawrey & Diederich 2003; Arnold *et al.* 2009). Lisaks mõnedes samblikes obligaatselt elavatele tsüanobakteritele on samblikest leitud ka teiste bakterite kooslusi, mille mitmekesisus on oluliselt suurem kui seni arvatud (Grube *et al.* 2009; Hodkinson *et al.* 2012; Cardinale *et al.* 2012). Seetõttu on samblikke vahel käsitletud miniatuurse ökosüsteemina (Farrar 1976; Grube *et al.* 2009). Tänu DNA uuringute võimaluste avarumisele, saab tänapäeval uurida kõiki sambliku tallusega seotud organisme koos, ning komplekseid uuringuid tehes keskendutakse ka varem vähe ja pealiskaudselt uuritud asümptomaatilistele seentele ning bakteritele (U'Ren *et al.* 2010; Bates *et al.* 2011; Cardinale *et al.* 2008;).

Käesoleva töö eesmärgiks on anda ülevaade samblikes elavatest (1) asümptomaatilistest seentest (endolihhenikoolsetest) seentest ja (2) bakteritest. Lisaks käsitleb töö neid kooslusi mõjutavaid teguriteid ja tähtsust peremeesorganismidele.

I SEENEKOOSLUSED SAMBLIKES

1.1. Seenekoosluste mitmekesisus

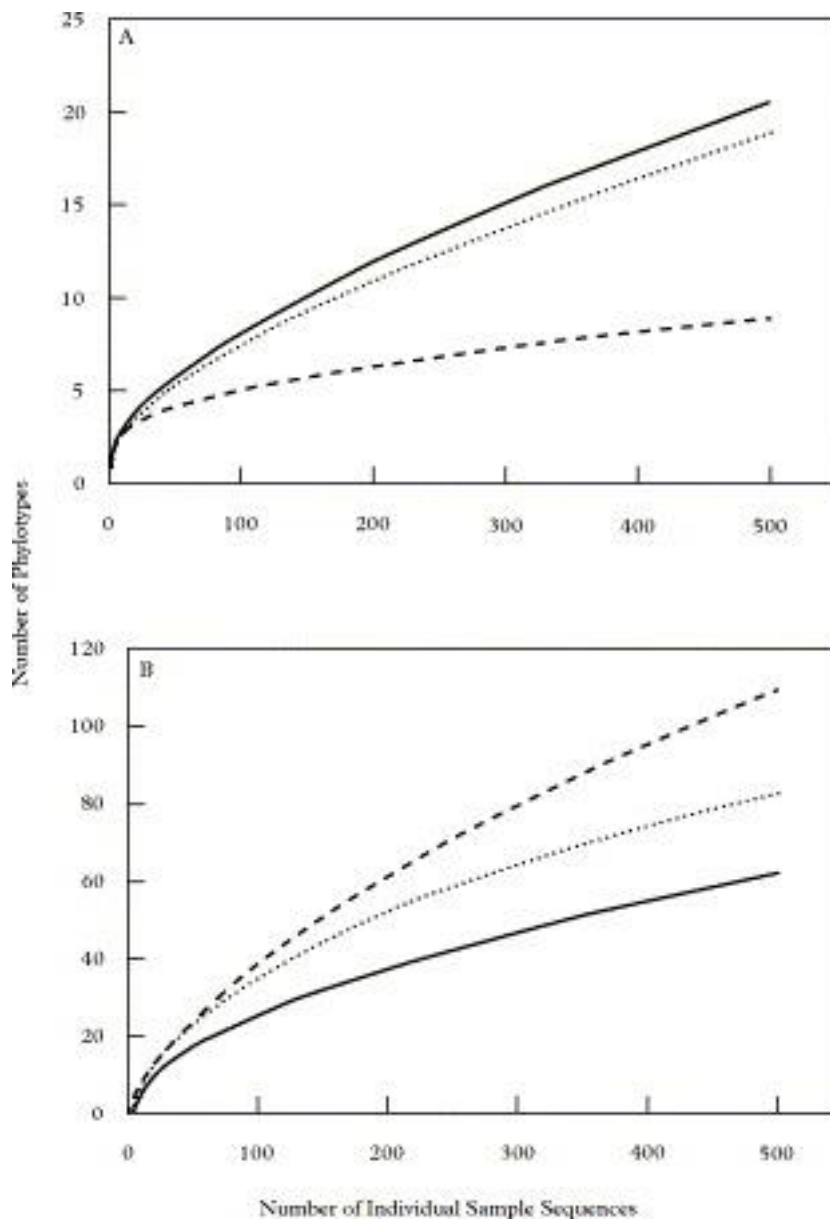
Samblike sümbiontne olemus avastati alles 19. sajandi lõpus (Schwendener 1868). Varem oli neid käsitletud omaette krüptogaamide rühmana ning samblikke moodustavaid vetikaid oli peetud samblike paljunemisorganiteks (Honegger 2000).

Lihhenikoolsed seened on samblikega obligaatset seotud seened, kes võivad olla kas parasiidid, parasümbiondid või saprotroofid (Lawrey & Diederich 2003) ning keda omaette rühmana on kirjeldatud juba 19. sajandi teisel poolel (Lindsay 1869). Tänu molekulaarsete ning mikrobioloogiliste meetodite arengule (Burt 2009) on leitud, et lisaks samblikku moodustavale seenele (mükobiondile) ning lihhenikoolsetele seentele elab samblike sees veel teisigi seeni, kelle elutegevusest välised sümptomid puuduvad ning kes ei kahjusta sambliku tallust ega sambliku elurütmi (Girlanda *et al.* 1997; Suryanarayanan *et al.* 2005; U'Ren *et al.* 2010). Selliseid seeni nimetatakse sarnaselt taimedes elavatele endofüütsetele seentele endolihhenikoolseteks seenteks (ingl. k. *endolichenic fungi*). Kuigi taimedes elavaid endofüüte (ingl. k. *endophytes*) peetakse tavaliselt kas nõrkadeks parasiitideks või kommensaalideks, on siiski leitud, et vähemalt osa neist on oma peremeesorganismile kasulikud, näiteks luues kaitset patogeene ja herbivooride vastu või mõjutades taime reageeringut abiootiliste stressitekitajate, näiteks põua vastu (Costa Pinto *et al.* 2000; Arnold *et al.* 2003; Arnold & Engelbrecht 2007; Marquez *et al.* 2007; Mejia *et al.* 2008). Endolihhenikoolsete seente funktsioon sambliku talluses pole selge, kuid arvatakse, et endolihhenikoolsed seened võivad olla bioloogiliselt aktiivsed, näiteks biopolümeeride (ligniini, pektiini ja tselluloosi) lagundajatena (Kannangara *et al.* 2009). Nii endofüüdid kui ka endolihhenikoolsed seened levivad horisontaalselt – isendilt isendile (Arnold *et al.* 2009; U'Ren *et al.* 2010). Maismaataimi asustavad endofüüdid ja samblikke asustavad endolihhenikoolsed seened moodustavad mõlemad fülogeneetiliselt heterogeense rühma, mille taksonid kuuluvad kottseente (*Ascomycota*) hõimkonna viide klassi n.o. *Dothideomycetes*, *Sordariomycetes*, *Pezizomycetes* ja *Leotiomycetes*, üksikud taksonid ka klassi *Eurotiomycetes* (Arnold *et al.* 2009). Ka varasemates töödes (Petrini *et al.* 1990; Girlanda *et al.* 1997; Suryanarayanan *et al.* 2005; Li *et al.* 2007) on märgitud eelkõige kahte esimesena loetletud klassi ja lisaks klassi *Eurotiomycetes* kuuluvate seente domineerimist samblikes. Tähelepanuväärne on, et endolihhenikoolseid seeni

ei ole leitud nendes kottseente rühmades, kuhu kuuluvad taksonid on valdavalt samblikemoodustajad s.o. klassides *Lecanoromycetes*, *Arthoniomycetes* ja *Lichinomycetes* (Arnold *et al.* 2009).

Endolihhenikoolsed seened on väga erinevad teistest, elavates ja surnud fotosünteesivates taimekudedes elavatest seentest ning võrreldes endofüütidega on endolihhenikoolsetel seentel kitsam ökoloogiline nišš. Endolihhenikoolsed seened erinevad teistest seentest nii taksonoomiliselt tasemelr kui ka substraadi eelistuste osas (U'Ren *et al.* 2010). Eelnevalt näitas endofüütide erinevust endolihhenikoolsetest seentest Suryanarayanan *et al.* (2005), kes leidis, et endofüütide ja endolihhenikoolsete seente koosluste koosseisuline kattuvus on ainult 2-28%.

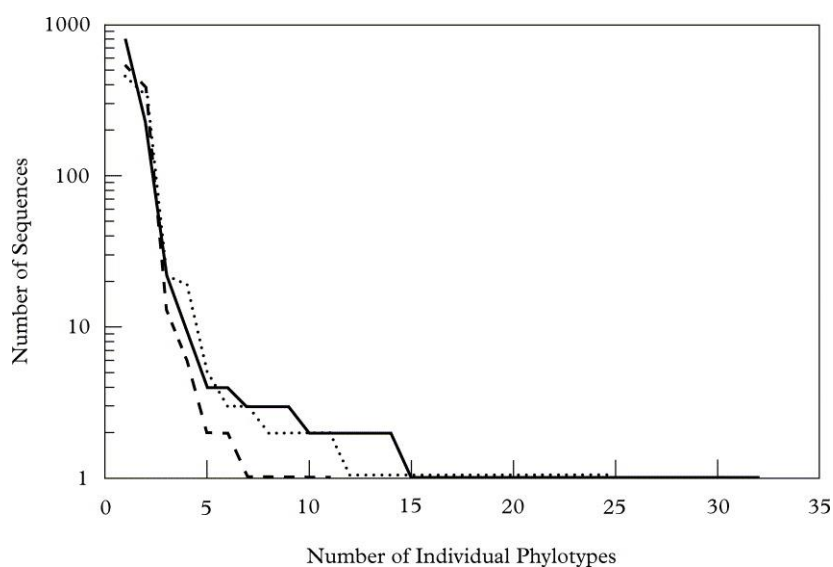
Samblikes elavaid seeni on uuritud kas lähtuvalt taksoni-spetsiifikast (Petrini *et al.* 1990; Li *et al.* 2007; U'Ren *et al.* 2010), samblike koosluse spetsiifikast (Peršoh & Rambold 2012) või kompleksena kõiki samblikes elavaid organisme hõlmava uuringu raames (Bates *et al.* 2012). Ühes sellises komplekses uurimuses (Bates *et al.* 2012) eraldati keskmiselt 1008 eukarüootse organismi DNA järjestust sambliku talluse kohta. Uurimuses kasutati kivil kasvavaid samblikke, kes kinnituvad substraadile ühe keskse kinnituskohaga (nabaga) (*Rhizoplaca chrysoleuca* (Sm.) Zopf (*Lecanoraceae*), *Umbilicaria americana* Poelt & T.H. Nash ja *Umbilicaria phaea* Tuck. (*Umbilicariaceae*)), et vähendada teiste, samblikega mitte-seotud organismide mõju tulemustele. Enim eukarüootsetele organismidele kuuluvaid DNA järjestusi eraldati samblikust *Umbilicaria americana* (500 proovist ligikaudu 21 fülotüüpi) ning kõige vähem sama perekonna teisest liigist – *Umbilicaria phaea* (500 proovist umbes 7 fülotüüpi) (Joonis 1). Seega eukarüootsete organismide rohkus sambliku talluses ei ole määratud peremeheks oleva sambliku taksonoomilise kuuluvusega.



Joonis 1. (A) eukarüootsete organismide fülotüüpide järjestuste arv (B) bakterite fülotüüpide järjestuste arv uuritud samblikest ($\cdot \cdot \cdot \cdot$ *R. chrysoleuca*, — *U. americana*, - - - - *U. phaea*) (Bates *et al.* 2012).

Leitud fülotüübid (fülotüüp – klassifitseerib organismi vastavalt tema fülogeneetilisele seosele teiste organismidega) kuulusid viide suuremasse eukarüootide klassi: alveolaadid (*Alveolata*), seened (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*), loomad (*Rotifera*, *Tardigrada*), risaarid (*Cercozoa*) ja rohevetiktaimed (*Chlorophyta*). Kõikide fülotüüpide suhteline sagedus varieerus isendi piires tugevalt ning enamuse leitud fülotüüpidest

olid haruldased (Joonis 2). Keskmisel hulgal leitud fülotüübid esindasid mitmeid varemgi avastatud klasse kottseente (*Ascomycota*) hõimkonnast, näiteks *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Orbiliomycetes*, *Leotiomycetes* ja *Lecanoromycetes*, mida võib otseselt seostada samblike moodustavate (lihheniseerunud), lihhenikoolsete või endolihhenikoolsete seentega.



Joonis 2. Unikaalsete eukarüootsete fülotüüpide sagedus samblikes (· · · · · *R. chrysoleuca*, — *U. Americana*, - - - - *U. phaea*) (Bates *et al.* 2012)

Esimesed spetsiaalselt samblikes kasvavate seenekoosluste uurimisele suunatud tööd ilmusid juba 1990ndatel (Petrini *et al.* 1990; Girlanda *et al.* 1997). Petrini *et al.* (1990) uurisid põõsasja tallusega samblikke perekondadest *Cladonia* ja *Stereocaulon* ning Girlanda *et al.* (1997) lehtja tallusega samblikke (*Xanthoparmelia taractica* (Kremp.) Hale (= *Parmelia taractica* Kremp.) ja *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf). Petrini *et al.* (1990) läbi viidud uuringus isoleeriti seenekultuuri kokku 506 erinevat taksonit, neist 62 moodustas viljakehi ning määrati perekonna või liigi tasemele. 506-st taksoni hulgas leidis ka seeni perekondadest *Scopulariopsis* (*Sordariomycetes*), *Penicillium* (*Eurotiomycetes*), *Fusarium* (*Sordariomycetes*) ning neid seeneperekondi on määratud ka hilisemates uuringutes (Girlanda *et al.* 1997; Li *et al.* 2007; Kannangara *et al.* 2008). Girlanda *et al.* (1997) tehtud töös kasutatud lehtja tallusega liikidest *X. taractica* (kivil kasvav samblik) ja *P. praetextata* (samblal kasvav) eraldatud taksonite arv erines omavahel ligikaudu kaks korda – 95 taksonit eraldati liigist *X. taractica* (338 isolaati) ja 43 taksonit liigist *P. praetextata* (268 isolaati). Sellest võiks järeldada, et talluse

tüüp üksi ei oma tähtsust endolihhenikoolsete taksonite rohkuses. Kokku määratud 117 taksonist 21 esines mõlemal liigil. Enim esines taksonid perekondadest *Phoma* (*Dothideomycetes*), *Alternaria* (*Dothideomycetes*), *Fusarium* (*Sordariomycetes*), *Epicoccum* (*Dothideomycetes*), *Penicillium* (*Eurotiomycetes*) ja *Trichoderma* (*Sordariomycetes*). Nii Petrini *et al.* (1990) kui ka Giralanda *et al.* (1997) tehtud töodes leitud seentest kuuluvad paljud samadesse perekondadesse, kuhu kuuluvad liigid on tuntud kui taimepatogeenid (sh ohtlike taimehaiguste tekitajad), endofüüdid või saprotroofid (O'Donnel & Dickinson 1980; Petrini 1986). Siiski Petrini *et al.* (1990) tehtud töös leiti, et mitmed liigid perekondadest *Diplodina* sp. (*Diaporthales*, *Sordariomycetes*), *Heteroconium* spp. (*Capnodiales*, *Dothideomycetes*) ja *Hyalodendron* sp. (*Tremellales*, *Tremellomycetes*), samuti mõned steriilsed (viljakehadeta) liigi või perekonnani määramata seened, on konkreetsetlamblikele spetsialiseerunud. Mõlemas töös leiti, et seente kooslused, mis eraldati küll erinevatelt samblikelt, kuid samalt substraadilt, olid omavahel koosseisult väga sarnased. Kuigi Petrini *et al.* (1990) ei leidnud selget peremehespetsiifilisust, siis Giralanda *et al.* (1997), et mõningane peremehespetsiifilisus ikkagi leidub, kuid see spetsiifilisus on pigem substraadipõhine.

Li *et al.* (2007) uurisid Hiinast, Baihua mägedest kogutud kivilidel või puukoorel kasvavate samblikes olevaid seenekooslusi. Töös kasutati seitset liiki n.o. *Cladonia coniocraea* (Flörke) Spreng., *Melanelia sorediata* (Ach.) Goward & Ahti, *Punctelia borreri* (Sm.) Krog, *Ramalina sinensis* Jatta, *Xanthoria mandschurica* (Zahlbr.) Asahina ja *Dermatocarpon miniatum* (L.) W. Mann. Analüüsitud 488 talluse fragmendist eraldati 301 seent, millest 32 olid määratavad erineva taksonoomilise tasemeni, nende hulgas 14 kottseente taksonit, 16 avateisseent (*Hyphomycetes*), üks peitisseent (*Coelomycetes*) ja üks pärm. Liigini suudeti määrata kaheksa taksonit, millest viis kuulus klassi *Sordariomycetes*, üks klassi *Eurotiomycetes* ja kaks klassi *Dothideomycetes*, n.o. *Chaetomium elatum* Kunze, *Chaetomium globosum* Kunze (*Sordariales*, *Sordariomycetes*), *Hypoxylon fuscum* Pers. (*Xylariales*, *Sordariomycetes*), *Geniculosporium serpens* Chesters & Greenh. (*Xylariales*, *Sordariomycetes*), *Nodulisporium hyalosporum* S. C. Agarwal & J. K. Misra (*Xylariales*, *Sordariomycetes*), *Phialophora bubakii* (Laxa) Schol-Schwarz (*Chaetothyriales*, *Eurotiomycetes*), *Sporomiella minima* (Auersw.) S. I. Ahmed & Cain, *Sporomiella muskokensis* (Cain) S. I. Ahmed & Cain (*Pleosporales*, *Dothideomycetes*). Määratud 32 seenetaksonist üheksat leidis rohkem kui ühes samblikus ning 21 taksonit olid iseloomulikud ainult ühele liigile. Näiteks perekonda *Scopulariopsis* (*Microascales*, *Sordariomycetes*) kuuluvaid liike leiti kuuest fülogeneetilisel ja ökoloogilistel nõudlustelt

erinevast samblikust (*Cladonia coniocraea*, *Melanelia sorediata*, *Parmelia* sp., *Punctelia borreri* ja *Xanthoria mandschurica*) ning neist viie puhul oli tegemist dominantse seenega (Li *et al.* 2007). Liik *Geniculosporium serpens* domineeris väikeses nahskamblikus (*Dermatocarpon miniatum*) ja perekonda *Sporormiella* kuuluvad liigid esinesid ainult korpsambliku perekonda kuulavas samblikus *Xanthoria mandschurica*. Endofüütsete seente kolonisatsiooni tase sambliku talluse piires varieerus 56,3%-i (*Dermatocarpon miniatum*) ja 100% (*Cladonia coniocraea*) vahel. Kõrgeid väärtusi on saadud ka varasemates endofüütsete seente esinemist uurivates töodes, näiteks Girlanda *et al.* (1997) said koosluste asustustiheduseks 54% liigil *Xanthoparmelia taractica* (= *Parmelia taractica*) ja 70% liigil *Peltigera praetextata*.

Suryanarayanan *et al.* (2005) viisid endolihhenikoolsete seenekoosluste uurimise läbi viiel Indias kasvaval epifüütsel samblikuliigil, n.o *Dirinaria picta* (Sw.) Clem & Shear, *Heterodermia diademata* (Taylor) D. D. Awasthi, *Physcia aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr., *Pyxine cocoes* (Sw.) Nyl. ja *Roccella montagnei* Bel. Antud uurimuses eraldati kokku 240 seeneisolaati, mis kuulusid 21 perekonna 24 liiki. Endolihhenikoolsetest seentest domineeris seen *Sporormiella intermedia* kolmes uuritud liigis, n.o *Dirinaria picta*, *Heterodermia diademata*, *Roccella montagnei*. Endolihhenikoolse perekonna *Humicola* (*Sordariales*, *Sordariomycetes*) liigid domineerisid samblikus *Physcia aipolia* ning *Xylaria*-taoline (*Xylariaceae*) seen domineeris liigi *Pyxine cocoes* talluses. Kõikides uuritud samblikutallustes esines endolihhenikoolseid seeni kolmest rühmast, perekonnast *Chaetomium* domineeris *Physcia aipolia* talluses, *Xylaria*-taoline seen ja perekonna *Cladosporium* perekonna liigid esinesid kõige sagedamini *Heterodermia diademata* talluses (Suryanarayanan *et al.* 2005).

Kui eelnimetatud töodes (Petrini *et al.* 1990; Girlanda *et al.* 1997; Li *et al.* 2007; U'Ren *et al.* 2012) eraldati seened terve välimusega talluse osadest, siis Aptroot & Alstrup (1999) uurisid seeni sambliku talluse kärbunud osades. Uurimisobjektiks oli muru-porosamblik (*Cladonia rangiformis* Hoffm.). Aptroot & Alstrup (1999) määrasid kaks seeneliiki perekonnast *Sphaeridium* (anamorfne *Pezizomycotina*) ja *Trichosporiella* (anamorfne *Helotiales*, *Leotiomycetes*) ning liigi *Oidiiodendron tenuissimum* (Peck) Hughes (*Leotiomycetes*). Need seened põhjustavad tõenäoliselt samblikutalluse mustaks muutumist (*blackening*), kuna neid perekondi eraldati ainult kärbunud kudetest ning seega võib neid seeni pidada kas parasiitideks või saprotroofideks.

Üldistavaid järeldusi endolihhenikoolsete seente liigirikkuse kohta samblikes on erinevate tsiteeritud tööde põhjal raske teha, kuid esialgsed andmed näitavad, et samblikest eraldatud endolihhenikoolsete seente arv on suurem maapinnal kasvavates liikides (Tabel 1). See võib olla seotud epigeiidsete liikide kasvukohaga, kuna maapinnal kasvavatel samblikel on tihtipeale suurem kontakt ümbritseva keskkonnaga, ning seetõttu võivad osad uurimustes esinenud seentest olla hoopis keskkonnast pärit ning ei ole otseselt samblikega seotud. Samal ajal paistab uuringutest tulevate andmete kokkupanemisel ka välja see, et kõige rohkem on uuritud maapinnal ja kivil kasvavaid liike ning kõige vähem epifüütseid samblikke, mistõttu järeldus võib olla ennatlik. Li *et al.* (2007) tehtud uurimuse põhjal oli kõige suurem endolihhenikoolsete seente asustustihedus maapinnal kasvavas naaskel-porosamblikus (*Cladonia coniocraea*) samas kui isoleeritud erinevate DNA järjestuste arv oli kõige väiksem. Kõige rohkem saadi endolihhenikoolsete seente järjestusi (84 järjestust) kivil kasvavast väikesest nahksamblikust (*Dermatocarpon miniatum*), samas asustustihedus oli kõigest 56,8%, mis oli uuritud samblikest kõige madalam. DNA järjestuste põhised on kõige rohkem unikaalseid DNA järjestusi – 143 eraldatud epigeiidsest lehtja tallusega kilpsamblikust (*Peltigera*) ning kõige vähem, ainult 3 järjestust käokõrva (*Cetraria*) perekonda kuuluvast liigist (U'Ren *et al.* 2012).

Tabel 1. Erinevatest samblikest isoleeritud DNA järjestuste arv Girlanda *et al.* (1997), Suryanarayanan *et al.* (2005), Li *et al.* (2007) ja U'Ren *et al.* (2012) järgi ning uuritud samblike põhiline kasvupind. Endolihhenikoolsete seente asustustihedus Li *et al.* (2007) järgi.

Sambliku liik	Isoleeritud seente arv	Asustustihedus (%)	Kasvupind
<i>Peltigera spp</i>	143		Maapind
<i>Cladonia evansii</i>	138		Maapind
<i>Cladonia mitis</i>	108		Maapind
<i>Umbilicaria spp.</i>	101		Kivi
<i>Amygdalaria panaeola</i>	98		Kivi
<i>Cladonia subtenuis</i>	96		Maapind
<i>Xanthoparmelia taractica</i>	95		Kivi
<i>Cladonia furcate</i>	90		Maapind
<i>Dermatocarpon miniatum</i>	84	56,3	Kivi
<i>Punctelia borreri</i>	83	88,8	Kivi
<i>Pseudevernia intense</i>	71		Puu
<i>Peltigera spp.</i>	65		Maapind
<i>Cladonia squamosa</i>	63		Maapind
<i>Cladonia rangiferina</i>	54		Maapind

<i>Melanelia sorediata</i>	53	85,4	Kivi
<i>Usnea hirta</i>	47		Puu
<i>Usnea spp.</i>	44		Puu
<i>Parmotrema perforatum</i>	44		Puu
<i>Pseudevernia consocians</i>	43		Puu
<i>Peltigera praetextata</i>	43		Maapind
<i>Lecidea tessellate</i>	37		Kivi
<i>Parmelia sp.</i>	36	72,5	Kivi
<i>Cladonia arbuscula</i>	34		Maapind
<i>Stereocaulon dactylophyllum</i>	33		Maapind
<i>Lasallia spp</i>	28		Kivi
<i>Cladonia gracilis</i>	26		Maapind
<i>Ramalina sinensis</i>	22	67,5	Kivi
<i>Cladonia stellaris</i>	21		Maapind
<i>Xanthoria mandschuria</i>	17	83,3	Kivi
<i>Peltigera praetextata</i>	17		Maapind
<i>Physcia aipolia</i>	16		Puu
<i>Cladonia coniocraea</i>	15	100	Maapind
<i>Heterodermia diademata</i>	12		Puu
<i>Dirinaria picta</i>	11		Puu
<i>Hypogymnia physodes</i>	11		Puu
<i>Pyxine cocoes</i>	10		Puu
<i>Roccella montagnei</i>	10		Puu
<i>Usnea spp.</i>	8		Puu
<i>Cetraria spp</i>	3		Maapind

1.2. Endolihhenikoolsete ja endofüütsete seente geograafiline levik.

Lisaks endofüütide ja endolihhenikoolsete seente koosluste koosseisule on teadlastes huvi tekitanud ka nende koosluste mitmekesisuse sõltumine geograafilisest laiuskraadist ning kliimaatilistest tingimustest (U'Ren *et al.* 2010). Nende seoste uurimiseks võeti proove viiest punktist (Chiricahua mägedes Arizonas, Põhja-Carolina mägismaa, Archboldi bioloogilises jaam Floridas, *Eagle summit* ning Nomes Alaskal) piki geograafilist ja kliimaatilist gradienti. Uurimuse jaoks korjati igast kohast 10-11 taimeliiki ning 12-18 samblikuliiki 7-12-st perekonnast. Kõik korjatud liigid olid valitud selle järgi, et nad oleksid fülogeneetiliselt erinevad ning esindaksid konkreetset geograafilist piirkonda, kust nad olid korjatud. Uurimuse tulemusena saadi 4791 DNA seene järjestust. Seeni eraldati peaaegu kõikidest valitud peremeestaimedest ning sambliku talluse osadest. Uurimusest selgus, et nii endolihhenikoolsete

seente kui ka endofüütide koosluste koosseisus on geograafiline erinevus ning ühe ja sama geograafilise piirkonna taimedest ja samblikest määratud seenekooslused olid omavahel sarnasemad, kui seenekooslused, mis olid määratud samalt peremeesorganismilt, kuid erinevast piirkonnast. Vegetatsiooniperioodi pikkus oli oluline koosluste koosseisu määrav tegur 52 liigi puhul, kuid samade liikide puhul oli aasta keskmine sademete hulk ebaoluline. 48 liigil oli endofüütide ja endolihhenikoolsete seente koosseis seotud mõlema teguriga. Antud uurimuses selgus, et endofüütide ja endolihhenikoolsete seente kooslused ei ole enamasti peremehe spetsiifilised, vaid sõltuvad pigem geograafilisest laiuskraadist kui kliimaatilistest tingimustest.

Samblike seenekooslusi uuriti ka Hiinas Baihua mägedes läbi viidud töös, kus keskenduti seitsmest samblikuliigist (*Cladonia coniocraea*, *Melanelia sorediata*, *Punctelia borreri*, *Ramalina sinensis*, *Xanthoria mandschurica*, *Dermatocarpon miniatum*) isoleeritud endolihhenikoolsetele seentele (Li *et al.* 2007). Uuritavad samblikud olid kas kivil või maapinnal kasvavad. Lisaks samblike asustavate koosluste kirjeldamisele arvutati Sørenseni indeksi alusel ka sarnasuse koefitsent ning võrreldi ka endolihhenikoolsete seente asustustihedust samblikes. Kõikidest seitsmest liigist leiti kõrge endofüütsete seente sisaldus nagu oli leitud ka varasemates uuringutes (Petri *et al.* 1990; Girlanda *et al.* 1997) ning Sørenseni sarnasuse koefitsenti leides jõuti järeldusele, et uuritud seitsmest liigist isoleeritud erines liikide vahel ning mõned üksikud liigid näitasid välja ka peremehespetsiifilisust.

1.3 Endolihhenikoolsete seente tähtsus samblikes

Samblikud on pioneerorganismid, kes asustavad varastes arengustaadiumites olevaid erinevaid ökosüsteeme (Burbanck & Platt 1964; Foster 1985; Sheridan 1991). Samblike stressitolerantsuses on oma osa tõenäoliselt ka samblikes elavatel organismidel, kes mõjutavad samblike ökofüsioloogilisi tunnuseid, näiteks vastupidavust keskkonnast tulenevale stressile ning tolerantsust sekundaarsetele metaboliitide (Lawrey 1995; Torzilli & Lawrey 1995; Girlanda *et al.* 1997). Li *et al.* (2007) pakkusid välja, et mittemükobiontsetel seentel võib olla esiteks antagonistlik mõju putukatest herbivooride vastu, aidates samblikel vaatamata nende aeglasele kasvule püsida erinevate tingimustega ökosüsteemides, ning hiljem olla sambliku talluse vananedes esmaste lagundajate rollis. Seetõttu võib endolihhenikoolsete seente mõju samblikele olla märgatav kogu talluse eluea jooksul muutes ainult oma rolli antagonistlikust kaitsjast ning elutegevusele kaasaaitajast esmaseks lagundajaks.

Teatud endolihhenikoolsete seente liikidel on võime toota bioloogiliselt aktiivseid aineid. Kuna endofüüdid ja endolihhenikoolsed seened suudavad toota sekundaarseid metaboliite, siis on uuritud nende potentsiaali kasutamaks neid biotehnoloogilistes lahendustes uute metaboliitide tootjate või biokontrolli agentidena (Lumyong *et al.* 2002). Näiteks habesamblikust (*Usnea cavernosa* Tuck.) määratud endolihhenikoolsest seenest perekonnast *Corynespora* sp. (*Pleosporales*, *Dothideomycetes*) eraldati kaks uut heptaketiidi (*corynesporol* ja 1-hüdrosühüdherbariin) ning neil leiti märkimisväärne mõju haavade paranemise kiirusele (Paranagama *et al.* 2007). Nendel kahel uuel heptaketiidil on juba leitud eesnäärme- ja rinnavähi vastane toime.

Ühes Sri Lankalt kogutud samblike (*Pseudocyphellaria*, *Parmotrema* ja *Usnea*) põhjal tehtud töös leiti, et samblikest eraldatud endolihhenikoolsete seente poolt toodetud ensüümidel (polügalaktouronaas, pektaat-lüaas, lignaas) on taimepatogeensete seente kasvu piirav toime (Kannangara *et al.* 2009), mis tõenäoliselt suurendab samblike patogeenide vastast resistentsust ja stressitaluvust. Ensüüm polügalaktouronaas ja pektaat-lüaas on vajalikud tselluloosi ja tärklise lagundamiseks, erinevad lignaasid on vajalikud ligniini lagundamiseks. Uurimuse tulemustena leiti, et tärklis on võimelised lagundama kõik uurimuses osalenud seened, v.a. seened perekondadest *Cladosporium* (*Capnodiales*, *Dothideomycetes*) ja *Curvularia* (*Pleosporales*, *Dothideomycetes*). Seened perekondadest *Phoma* (*Dothideomycetes*), *Penicillium* (*Eurotiomycetes*) ja *Chrysosporium* (*Eurotiomycetes*) olid võimelised lagundama tselluloosi. Pektiinide lagundamisel osalevate ensüümide polügalakturonaasi ja pektaadi-lüaasi tootmise võime tuvastati seentel perekondadest *Chrysosporium* ja *Curvularia* ning seened perekondadest *Penicillium*, *Broomella* (*Xylariales*, *Sordariomycetes*) ja *Nigrospora* (*Trichosphaeriales*, *Sordariomycetes*) olid võimelised tootma ainult polügalakturonaasi ning *Cladosporium*, *Chrysosporium* ja *Phoma* tootsid ainult pektiini-lüaasi. Ligniini lagundavate ensüümide tootmise võime leiti ainult seeneperekonnal *Broomella* (Kannangara *et al.* 2009). Ligniini moodustab suure osa taimse materjali rakukestadest, seetõttu on ligniini lagundamise võime eriti oluline epifüütsetele samblikele ning tõenäoliselt vähem oluline epigeiidsetele ja epiliitsetele liikidele. Kannangara *et al.* (2009) töös uuritud endolihhenikoolsetest seentest oli ligniini lagundamine omane ainult ühele töös uuritud seeneliigile ning üldiselt on ligniini lagundamine spetsiifilisem, kui muude orgaaniliste ainete lagundamine.

Endolihhenikoolsete seente mõju sambliku eluviisile võib avalduda ka teiste, võimalike (seen)patogeenide või oportunistlike patogeenide tõrjuvas või hävitavas mõjus. Selle hüpoteesi

paika pidavust uuriti samuti Sri Lankalt korjatud samblike uuringus (Kannangara *et al.* 2009) ning leiti, et nii *Cladosporium* kui ka *Chrysosporium* olid võimelised aeglustama anamorf-perekonda kuuluva seene *Fusarium* (*Hypocreales*, *Sordariomycetes*) koloonia arengut; *Nigrospora* sp. pidurdas perekondadesse kuuluvate seente *Botrytis* (*Helotiales*, *Leotiomycetes*) ja *Colletotrichum* (*incertae sedis*, *Sordariomycetes*) kuuluvate seente kolooniate arengut. Viimati nimetatud seene arengut olid võimelised pärssima ka endolihhenikoolsed seened perekonnast *Chrysosporium*. Tendents, et paljud samblikes elavad seened ei ole samblikele spetsiifilised, vaid kuuluvad muudesse rühmadesse, toodi välja juba ka Petrini *et al.* (1990) ja Giralda *et al.* (1997) tehtud töödes. Seega võib arvata, et samblikes elavad patogeensed seened, kuid kui neid on optimaalsel hulgal, on nad peremeesorganismidele hoopis kasulikud ning aitavad aeglaselt kasvavatel tallustel ellu jääda hävitades konkurentsi, mida pakuksid samblikele nende kõrval kiiremini kasvavad taimed. Seega asümptomaatilisel samblike talluses elavatel endolihhenikoolsetel seentel on tugev mõju samblike seenekeskkonnale. Selle näiteks võib pidada perekonda *Fusarium*, mis toodab küll ohtlikke mükotoksiine, kuid mida vähesel määral on samblikest siiski leida.

II BAKTERIKOOSLUSED SAMBLIKES

2.1 Bakterikoosluste mitmekesisus

Lisaks seenekooslustele on samblikes ka baktereid, kes ei ole obliigaatselt sümbioosis samblike biontidega (Cardinale *et al.* 2008; Grube *et al.* 2009). On näidatud, et mida suurem on eukarüootide (eelkõige endolihhenikoolsete seente) mitmekesisus sambliku talluses, seda väiksem on prokarüootide (bakterid) mitmekesisus (Bates *et al.* 2012). Arvatavasti võib seda põhjendada koosluste vahelise konkurentsiga, mis tekib näiteks piiratud ruumi ning toitainete tingimustes. Mõõtnetelt suuremad eukarüootsed rakud võivad hõivata parema elukeskkonna ning tõrjuda välja väiksemad bakterid, samas võivad bakterid muuta elukeskkonna tingimusi eukarüootidele vastuvõetamatuteks näiteks elutegevuse juures eritavate ainete (sekundaarete metaboliitide) või sobiva nišši hõivamisega.

Molekulaarsete meetodite abil on näidatud, et bakterikoosluste mitmekesisus ja rohkus samblike tallustes on tunduvalt suurem kui varem arvatud (Cardinale *et al.* 2006; Liba *et al.* 2006; Hodkinson *et al.* 2012). Bakteritega asustatud samblikke on leitud nii Antarktikas (Selbmann *et al.* 2010) kui ka troopilisest vöötmes kasvavatest samblikest (Hodkinson *et al.* 2012; Ramirez-Fernandez *et al.* 2014). Baktereid samblikest on määratud juba Alam-Devoni ajastust (415 milj. a. tagasi) pärit fossiilse sambliku *Chlorolichenomycites salopensis* talluse koorkihilt ja selle alla jäävast vetikakihist (Honegger *et al.* 2013). Nimetatud samblikust leiti arvukalt aktinomütsete (*Actinobacteria*), mis on ka tänapäeva samblikes üks enam esinevaid bakterite rühmi (Cardinale *et al.* 2008; Selbmann *et al.* 2010; Cardinale *et al.* 2012).

Baktereid oli samblikest määratud ka enne molekulaarsete meetodite arengut. Määratud bakterid kuulusid perekondadesse *Azotobacter* (Gammaproteobacteria), *Bacillus* (Firmicutes), *Beijerinckia* (Alphaproteobacteria), *Clostridium* (Firmicutes) ja *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria) (Henkel & Yuzhakova 1936; Iskina 1938, Henkel & Plotnikova 1973). On leitud, et ühes kuupmillimeetris samblikus võib esineda 10^4 kuni 10^6 bakterit ning see näitaja on liigispetsfiiline (Grube *et al.* 2009). Näiteks Grube *et al.* (2009) poolt läbi viidud uuringus määrati enim baktereid mets-põdrasamblikust *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot. ($1,2 \times 10^6 \pm 0,2$), mõnevõrra vähem samblikust *Lecanora polytropa* ($7,4 \times 10^5 \pm 1,2$) ja ripskõrvsamblikust (*Umbilicaria cylindrica*) (L.) Delise ($9,0 \times 10^5 \pm 2,0$). Bakterite hulk võib muutuda sambliku talluse vanuse kasvades, näiteks islandi käokõrva (*Cetraria islandica* (L.)

Ach.) vanast tallusest määrati $8,33 \times 10^3$ bakterit 1 g kuivkaalu kohta, kuid noorest tallusest $5,19 \times 10^3$ bakterit 1 g kuivkaalu kohta; mets-põdrasamblikust (*Cladonia arbuscula*) $5,49 \times 10^3$ vanemast tallusest ning nooremast $2,58 \times 10^3$ bakterit (Cardinale *et al.* 2012). Üheks lisateguriks, mis määrab bakterite arvukuse sambliku talluses on päikesekiirguse intensiivsus. On leitud, et varjus kasvavates samblikes on bakterite arvukus suurem, mida on seletatud sellega, et bakterid ei talu otsest päikesekiirgust ning kuumust ning hukkuksid liigse päikese ekspositsiooni juures (Cardinale *et al.* 2012). Samuti on näidatud, et kivil kasvavate samblike (*Cladonia coccifera* (L.) Wild, *Lecanora polytropa* (Ehrh.) Rabenh. ja *Umbilicaria cylindrical* (L.) Delise) tallustes on bakterite hulk väiksem, kui puudel ja maapinnal kasvavatel samblikel (Cardinale *et al.* 2012). Selle põhjuseks peetakse asjaolu, et kivil kasvavatel samblikel on kokkupuude ainult substraadi ehk kiviga, samas kui puudel ja maapinnal kasvavatel samblikel on ümbritsev keskkond mitmekesisem, näiteks võivad bakterid samblikele sattuda õhu või kõrval kasvavatelt taimedelt.

Tänapäevaste seenekultuuridest sõltumatute, eelkõige molekulaarsete, uuringute abil on proovitud leida bakterite võimalikke funktsionaalseid rolle samblikes ning hinnata bakterikoosluste mitmekesisust (Cardinale *et al.* 2008; Grube *et al.* 2009; Hodkinson & Lutzoni 2009; Bates *et al.* 2011). Samblikes olevaid bakterikooslusi uurides on kõige enam tuvastatud proteobakterite (*Proteobacteria*) hulka kuuluvate alfaproteobakteritele (*Alphaproteobacteria*) (Cardinale *et al.* 2008; Grube *et al.* 2009; Hodkinson *et al.* 2012; Muggia *et al.* 2013) ja aktinomütsetidele (*Acidobacteria*) kuuluvaid DNA järjestusi (Quaiser 2003; Cardinale *et al.* 2008; Grube *et al.* 2009; Cardinale *et al.* 2012; Grube *et al.* 2012; Muggia *et al.* 2013). Proteobakterid on gramnegatiivsed bakterid ning sellesse hõimkonda kuulub palju erinevate omadustega bakterite klasse n.o. alfa-, beeta-, gamma-, delta-, epsilonprotobakterid ning *Acidithiobacillia* (Lee *et al.* 2005). Alfaproteobakterite hulgas on rohkesti neid baktiereid, kes elavad koos eukarüootsete organismidega, sealhulgas ka samblikega. Alfaproteobakterid on heterogeenne bakterite rühm, kuhu kuulub fototroofseid (*phototrophic*) perekondi, mitmeid tainesümbionte ja lüljalgsete endosümbionte ning samuti patogeene (Ferla *et al.* 2013). Ka beetaproteobakterid kuuluvad samblikes tihti esinevate bakterite hulka (Cardinale *et al.* 2008). Beetaproteobakterite, kuhu kuulub ka patogeenne bakterite perekond *Burkholderia*, mida on leitud ka samblikest, hulka kuulub mitmeid aeroobsete või fakultatiivselt aeroobsete bakterite gruppe, samuti kemosünteesijaid ja ka mõned fototroofide perekonnad. Beetaproteobakterite klassi kuuluvad bakterid on eriti olulised lämmastiku sidumisel. Proteobakterite hulka kuuluvad

ka gammaproteobakterid, millest paljud on meditsiiniliselt, ökoloogiliselt ja teaduslikult olulised. Näiteks kuuluvad sellesse bakterite klassi salmonellat ja katku ning mitmeid taimehaigusi tekitavad bakterid. Mitmed gammaproteobakterid on suutelised oksüdeerima ka metaani (Williams *et al.* 2010). Samblikes elavates bakterikooslustes on sageli üks dominantseid rühmi *Actinobacteria* (aktinomütseedid ehk kiirikbakterid). Need bakterid on vastupidiselt proteobakteritele Grampositiivsed, neist suurim ja tuntuim siia rühma kuuluv bakterite perekond on *Streptomyces*, mida kasutatakse antibiootikumide tootmisel. Samas on enamik sellesse hõimkonda kuuluvaid baktereid patogeensed ja omavad tähtsust orgaanilise aine lagundamisel (Ventura *et al.* 2007). *Firmicutes* hõimkonna bakterid on samuti Grampositiivsed ning paljud selle hõimkonna liigid on võimelised tootma endospore. Lisaks leidub hõimkonnas *Firmicutes* patogeenseid liike ning üks perekond, *Heliobacteria*, mille liigid on võimelised fotosünteesima (Wolf *et al.* 2004).

Alfaproteobakteritest on samblikele spetsialiseerunud nn. LAR1 (ingl. k. *Lichen-Associated Rhizobiales*) rühma bakterid seltsist *Rhizobiales* (Hodkinson *et al.* 2012). LAR1 on bakterite rühm, mis on seotud põhimõtteliselt ainult samblikega, kuid kuna selle rühma esinemist on uuritud ainult mõnel üksikul samblikuliigil piiratud geograafiliselt alalt Lõuna-Ameerikast, siis ei ole veel täpselt teada, kui palju leidub seda rühma teistes biokliimaatilistes võotmetes (Hodkinson & Lutzoni 2010). LAR1 rühma suurt osakaalu uuritud samblikes näitab ka see, et 87% Hodkinson *et al.* (2012) poolt kloonitud seltsi *Rhizobiales* bakterite järjestuste langesid rühma LAR1 ja ülejäänud kuulusid samasse seltsi, kuid perekonda *Methylobacterium* (*Methylobacteriaceae*). Teised samblikes domineerivad alfaproteobakterite rühmad on *Rhodospirillales*, mis esineb tavaliselt rohevetikatega seotud samblikes ja *Sphingomonadales*, mis esineb tavaliselt tsüanobakteritega seotud samblikes (Hodkinson *et al.* 2012).

Samas alfaproteobakterite domineerimine ei pruugi olla kõikides samblikes valdav, kuna näiteks maapinnal kasval lohksamblike perekonda kuuluvast samblikust *Solorina crocea* domineeris bakterite hõimkond *Acidobacteria* (42,4 %-66,4%) ja proteobakterite, kuhu hulka kuuluvad ka muidu dominantsed alfaproteobakterid, esinemine jäi 11,1% ja 30,0% vahele (Grube *et al.* 2012). Mets-porosamblikul (*Cladonia arbuscula*) seevastu on leitud, et alfaproteobakterid moodustavad peamise osa kogu sambliku bakterikooslusest (75% ± 12%), väiksema osa moodustavad aktinomütseedid (5.7% ± 2.9%) ja beetaproteobakterid (4.4% ± 1.2%) ning väga väikese osa hõimkonda *Firmicutes* rühma kuuluvad bakterid (Cardinale *et al.* 2008). Ka kividel kasvavatel samblikes perekonnast *Ophioparma* domineerisid bakterid

hõimkonnast *Acidobacteria* (Hodkinson *et al.* 2012). Hõimkond *Acidobacteria* on suhteliselt hiljuti kirjeldatud rühm baktereid (Quaiser *et al.* 2003), keda on peamiselt leitud pinnaseproovidest. Ka näiteks Antarktikast kogutud samblikes olid domineerivateks rühmadeks aktinomütseetid (*Actinobacteria*), hõimkonda *Firmicutes* kuuluvad bakterid ning proteobakterite (*Proteobacteria*) kõrval ka hõimkonda *Deinococcus-Thermus* kuuluvaid baktereid. Viimati nimetatud bakterid on tuntud kui ekstremofiilid, mis suudavad elada äärmuslikes kuuma- ja külmatingimuses, samuti vaakumis, on vastupidavad intensiivsele kiirgusele ning on võimelised toituma tuumajäätmest ja teistest äärmiselt toksilistest ühenditest (Guo *et al.* 2014). Seevastu ei leitud Antarktika samblikest beetaproteobakterite hulka kuuluvad baktereid perekonnast *Burkholderia* (Selbman *et al.* 2010), mis muudest piirkondadest kogutud samblikes on esindatud arvukalt (Cardinale *et al.* 2012).

Antarktikas kogutud samblikest (*Lecanora fuscobrunnea* C. W. Dodge & G. E. Baker, *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr., *Usnea antarctica* Du Rietz, *Xanthoria elegans* (Link) Th.Fr.) eraldatud bakteritel testiti ka nende temperatuuri eelistusi ning vastupidavust madalatele temperatuuridele. Leiti, et enamik neist olid võimelised kasvama ainult suhtelistelt madalatel temperatuuridel, näiteks 12 bakterikolooniat olid võimelised kasvama ainult inkubeerimisel 15-25°C kraadi juures ja 10 kasvasid 0°C juures. Kõige suuremat temperatuuride vahemikku taluvad bakterid eraldati punakast korpsamblikust (*Xanthoria elegans*), kuna kolm sellest samblikust eraldatud erinevat bakterikolooniat talusid temperatuure 0°C -st kuni 35 °C-ni.

Bakterikoosluste varieerumise põhjuseid esindatuse ja koosluste taksonoomilise koosseisu osas ei ole üheselt teada, kuid arvatakse, et see võib olla seotud sambliku substraadi, sambliku talluse vanuse, päikesekiirguse intensiivsuse (Cardinale *et al.* 2012), geograafilise asukoha (Printzen *et al.* 2012) ja fotobiondi erinevustega (Hodkinson *et al.* 2012). Näiteks harilikus kopsusamblikus (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm) oli erinevates geograafilistes piirkondades ja kasvukohtades alfaproteobakterite (*Alphaproteobacteria*) suhteline esinemissagedus 47,3% ja 93,9% vahel, samas kui beetaproteobakterite (*Betaproteobacteria*) sagedus varieerus 0,2% ja 0,6% juures. Erinevates geograafilistes piirkondades olid ka erinevused alfaproteobakterite taksonoomilises koosseisus, kuid samasugust tendentsi ei täheldatud beetaproteobakterite hulka kuulavas perekonnas *Burkholderia*. Kuigi varasemates uurimustes pole leitud geograafial erilist mõju bakterikoosluste koosseisule (Humbert *et al.* 2009; Chu *et al.* 2010), siis selles uurimuses leiti, et samblikega seotud bakteritel on geograafiast ja biokliimatilistest erinevustest tingitud koosluste muutused. Seega geograafial pole küll mõju kohalikul skaalal mõõdetuna, kuid

suurematel skaaladel, kus levimine on piiravaks faktoriks, on selle mõju küllaltki suur (Hodkinson *et al.* 2012). Mitmed tööd on keskendunud alfaprotobakterite mitmekesisuse uurimisele erinevates geograafilistes piirkondades (Grube *et al.* 2009; Printzen *et al.* 2012). Näiteks sarv-käosamblikul (*Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr.) uuriti alfaproteobakterite kooslusi geograafiliselt kaugetes sambliku populatsioonides (Printzen *et al.* 2012). Uuringupiirkond hõlmas samblike populatsioone Antarktikast, Islandilt, Hispaaniast ja Saksamaalt. Leiti, et suurem osa baktereid kuulus seltsi *Rhodospirillales*, sugukonda *Acetobacteraceae*, vähem oli esindatud seltsid *Rhizobiales* ja *Sphingomonadales*. Leiti, et kuigi bakterikooslused on erinevatest geograafilistes piirkondades kasvanud samblikes sarnased, esineb siiski mõningaid erinevusi. Näiteks Islandilt ja Antarktikast korjatud samblikute bakterikooslused olid liigiliselt koosseisult omavahel väga sarnased (koosluste piirkonnasisene ja –vaheline varieeruvus oli väga väike), samal ajal kui Hispaaniast korjatud samblikel olid mõlemad nimetatud näitajad väga kõrged (Printzen *et al.* 2012). See võib olla seotud keskkonna mõjuga geneetilisele varieeruvusele ning samuti inimkeskkonna mõjuga bakterikooslustele.

Oluliseks bakterite kooslusi määravaks teguriks on peetud sambliku tallus vanust (Cardinale *et al.* 2012). Uuritud kuuest liigi (*Cetraria islandica*, *Lobaria pulmonaria*, *Lecanora polytropa*, *Cladonia arbuscula*, *Umbilicaria cylindrica*, *Cladonia coccifera*) puhul osutus kõige olulisemaks bakterite koosluste koosseisu määravaks teguriks sambliku talluse vanus, kusjuures kõige liigirikkamaks osutusid hariliku kopsusambliku (*Lobaria pulmonaria*) ja mets-põdrasambliku (*Cladonia arbuscula*) talluse vanemad osad. See viitab sellele, et vanades talluse osades on suurem hulk erinevaid bakterite rühmi, kuna seal on bakteritele suurem valik kasvamiseks vajalikku ruumi, kuna vanades talluseosades müko- ja fotobiont ei arene enam nii aktiivselt (kasv ja areng on pidurdunud ning suunatud noorematesse struktuuridesse). Seetõttu kaob ruumi- ja toitainete konkurents ja saavad areneda ka suuremate nõudmistega ja vähem kohastunud bakterite rühmad. Seevastu nooremates talluse osades esinevad konkurentsi tõttu just ainult paremini kohastunud bakterikooslused. Enamus samblike talluste noorematest osadest leitud bakteritest kuulus alfaproteobakterite (*Alphaproteobacteria*) hulka. Vanuse kasvades vähenes nende hulk vähenes ning kasvas teiste bakterirühmade, näiteks aktinomütsetide (*Actinobacteria*), gammaproteobakterite (*Gammaproteobacteria*) ja beetaprotobakterite (*Betaproteobacteria*) hulk. See viitab sellele, et alfaprotobakterid (*Alphaproteobacteria*) vajavad kasvamiseks selliseid tingimusi, mis tõenäoliselt võivad olla seotud sambliku füsioloogilise aktiivsusega.

Fotobionti võib pidada oluliseks bakterite koosluste koosseissu mõjutavaks teguriks kuna C-fikseerimisel saadavad produktid on erinevat fotobionti omavatel samblikel erinevad, rohevetikatel erinevate suhkuralkoholidena, tsüanobakteritel glükoosina (Palmqvist 2002; Adams *et al.* 2006). Lisaks on tsüanobakterid võimelised siduma õhulämmastikku tagades N-ühendite kättesaadavuse (Belnap 2001; Rai 2002). Samblikus, kus mükobiondina on rohevetikas, esineb enamasti koos teiste domineerivate liikidega seltsi *Rhodospirillales* kuuluvad bakterid, kuid tsüanobaktereid fotobiondina kasutavates bakterites on domineerivaks bakterid seltsis *Sphingomonadales*.

Välisdamaks samblikuliikide ja fotobiondi (vetikas või tsüanobakter) erinevuste mõju bakterikoosluste ja keskkonnategurite seoste uurimisel viisid Ramirez *et al.* (2014) läbi analüüsi, kus hinnati ainult neid perekonna kilpsamblik (*Peltigera*) liike, kes elavad sümbioosis tsüanobakteriga *Nostoc*. Uuriti erinevaid kasvukohti, mis esindasid kolme tüüpi, n.o küps looduslik mets, noor looduslik mets ja rohumaa. Kõik kasvukohad valiti Tšiili Karukinka looduspargist. Võrreldes sambliku talluses kasvavat bakterikooslust sellega, mis kasvab tema substraadil, leiti, et erinevate kasvukohtade substraadil olevad kooslused on omavahel sarnasemad, kui samblike talluste sees olevad kooslused. Sellest võib järeldada, et samblikud on kas suutelised mõjutama enda substraadi bakterikooslusi keemiliste vahenditega, näiteks sekundaarsete metaboliitidega või muude elutegevuse käigus eritatavate ainetega, või hoopis vastupidi, ei oma suurt mõju vahetule substraadile.

Kuidas bakterid levivad samblikult samblikule, sellest on teada väga vähe. Vaid vegetatiivselt paljuneva hariliku kopsusambliku (*Lobaria pulmonaria*) näitel on leitud, et vähemalt alfaproteobakterite kooslused levivad koos sambliku tallusega, samas kui beetaproteobakterite hulka kuuluv *Burkholderia* ja lämmastikku siduvad bakterid saadakse keskkonnast (Cardinale *et al.* 2012).

2.2 Bakterikoosluste paiknemine sambliku tallusel

Bakterikoosluste paiknemine samblike tallustes ei ole samblike erineva funktsionaalsusega kihtides (koor-, vetika-, südamikukiht) ühetaoline (Grube *et al.* 2009; Selbman *et al.* 2010). Näiteks on leitud, et üldiselt on samblike talluste sees olev bakterite kooslus spetsiifilisem kui see, mis on sambliku talluse peal ja samblike kasvupinnal (Grube *et al.* 2009). Sageli moodustavad bakterikooslused sambliku talluse hüdrofiilsetel pindadel biokile (Bates *et al.* 2011; Hodkinson *et al.* 2012). Arvatavasti suudavad samblikud aktiivselt mõjutada bakterikoosluste paiknemist samblikutallustes, aga ka samblikke ümbritsevas keskkonnas kasvearežiimi muutmise või näiteks sekundaarsete ainevahetusproduktide (samblikuainete) abil (Muggia *et al.* 2012). Bakterite paiknemine samblike tallustes on enamasti liigi- ja rühmaspetsiifiline (Muggia *et al.* 2013). Näiteks porosamblikel (*Cladonia*) moodustavad bakterikooslused silinderjaid mütseele (*mycelial cylinders*) sambliku vetikast fotobiondiga talluse välimisele kihile, kuid nende silindrite sisemuses moodustavad bakterite kolooniad biokile sarnaseid kooslusi (Grube *et al.* 2009). Fossiilsest samblikust *Chlorolichenomycites salopensis* leiti baktereid peamiselt sambliku koorkihi pinnalt ja samblikus olevalt vetikakihilt (Honegger *et al.* 2013). Ka erinevate bakteriterühmade paiknemises on tuvastatud erinevusi. Näiteks maapinna eluskoorikut (ingl. k. *biological soil crust*) moodustavatel samblikel (*Arthrurhaphis citronella* (Ach.) Poelt, *Baeomyces rufus* (Huds.) Rebent, *Icmadophila ericetorum* (L.) Zahlbr., *Trapeliopsis granulosa* (Hoffm.) Lumbsch) domineerivad aktinomütseedid talluse alaosades ja nn. hüpotallosfääris (ingl. k. *hypothallosphere* - kivialune substraat) ja alfaprotobakterid talluse teistes osades (Muggia *et al.* 2013).

Samblikega on seotud ka näiteks maapinna eluskoorikut moodustavate samblike (*Arthrurhaphis citronella*, *Baeomyces rufus*, *Icmadophila ericetorum*) all olevas mullakamaras elavad bakterid, kes on samblike talluste all rohkem-või-vähem homogeenselt jaotunud moodustades nn. hüpotallosfääri. Liikide *B. placophyllus* ja *I. ericetorum* näitel suureneb bakterite arvukus sambliku südamikukihist mullakamara poole. Lisaks jaotumisele maapinna eluskoorikul on bakterite kolooniatel ka samblike sees erinev paiknemine ning bakterid võivad olla ka nähtavalt seotud seenehüüfidega, näiteks samblikel *Icmadophila ericetorum* ja *Psora decipiens*. (Muggia *et al.* 2013)

2.3 Bakterikoosluste tähtsus samblikes

Paljud samblikud võivad elada ekstreemsetes keskkonnatingimustes, mis teistele organismide pole sobilikud ning võivad taluda äärmusliku põua, külma, toitainete vaeguse jm. tingimusi, mistõttu ilma täiendava orgaaniliste aineta sellistes tingimustes organismid elada ei saa. Seetõttu moodustavad samblikud suhteid enda jaoks kasulike organismidega, mis seovad lämmastikku (Liba *et al.* 2006; Grube *et al.* 2009). Seetõttu ongi uuritud bakterikoosluste mõju orgaanilise aine kättesaadavusele ning muudele elutegevuseks vajalikele protsessidele. Bakterite puhul on uuritud eelkõige nende õhulämmastiku sidumise võimet (Grube *et al.* 2009) ning arvatakse, et kuna samblikud suudavad elada väga toitainevaestel pinnastel, siis on tõenäoline, et bakterid, kes elavad samblikes, kuid ei ole fotobiondid, on samblikele eluliselt olulised N-ühendite allikateks (Cardinale *et al.* 2006; Liba *et al.* 2006). Grube *et al.* (2009) uurisid *NifH* geeni, mis vastutab õhulämmastiku sidumises osaleva nitrogenaasi ensüümi tootmise eest, et hinnata õhulämmastiku sidumist samblike bakterikooslustes. *NifH* geenid esinesid alfaproteobakterites ja gammaproteobakterites ning hõimkonda *Firmicutes* kuuluvates bakterites.

Maapinnal kasvavad samblikud on võimelised siduma mulda suuremateks osakesteks osaledes niimoodi maapinna eluskooriku moodustamises, mis aitab vältida tuule- ja vihmaerosiooni (Asta *et al.* 2001; Belnap *et al.* 2003; Muggia *et al.* 2013). Lisaks mullakamara sidumisele on samblikud võimelised panustama ka mulla mineraalsesse toitainete ringlusesse tänu samblike fotobiondile, aga väiksemal määral ka keskkonnas ja samblikes elavatele bakteritele, kes suudavad õhulämmastikku ja süsinikku fikseerida (Harper & Belnap 2001). Seega valmistavad samblikud oma elutegevusega kasvupinda ette teistsuguseid tingimusi nõudvatele organismidele, viies mulda mineraalaineid (Muggia *et al.* 2013) ning samblikes elavad bakterid aitavad näiteks kivil kasvavatel samblikel lagundada oma substraati (Honegger 2012). Kui suur roll nendes protsessides on samblikes kasvavates bakterikooslustes vajab veel selgitamist.

Bates *et al.* (2012) leidis, et lüütilise aktiivsusega bakterite hulk samblikes oli suurem, kui sarnaste omadustega bakterite hulk taimedel, kuid seentevastase (fungitsiidse) toimega bakterite hulk oli samblikes väiksem. Seentevastase toimega bakterite hulk samblikes võib olla väiksem, kuna sellist toimet omavad bakterid võiksid mõjutada ka sambliku mükobionti. Arvatakse, et bakterikooslustel, eriti lüütilist aktiivsust omavatel, on oluline roll toitainete ringluses samblike tallustes osaledes näiteks vajalike ensüümide tootmises või jääkainete

lagundamises. Samas on samblikes elavate bakterite poolt eritavate metaboliitide uuringud üsna algusjärgus (Grube *et al* 2009).

KOKKUVÕTE

Samblikud on sümbiontsed organismid, mis moodustuvad mikrokoopiliste rohkevetikate (*Chlorophyta*) ja/või tsüanobakterite ning seente, valdavalt kottseente, sümbioosi tulemusena. Peale samblikku moodustavate biontide on samblikega seotud ka sümptomaatilisi (lihhenikoolsed seened) ja asümptomaatilisi seeni (endolihhenikoolsed seened) ning baktereid, samuti mitmeid muid organisme. Nende koosluste mitmekesisus on suurem, kui seni arvatud.

Samblikke asustavad endolihhenikoolsed seened moodustavad fülogeneetiliselt heterogeense rühma, mille taksonid kuuluvad valdavalt kottseente hõimkonna kolme klassi n.o. *Dothideomycetes*, *Sordariomycetes* ja *Eurotiomycetes*. Endolihhenikoolsete seente kooslused ei ole enamasti peremehe spetsiifilised, vaid sõltuvad pigem geograafilisest laiuskraadist ja kliimatilistest tingimustest, mistõttu kooslused, mis on määratud erinevatelt peremeesliikidelt, kuid samast geograafilisest piirkonnast, on omavahel sarnasemad, kui samade peremeeste erinevast piirkonnast määratud kooslused. Endolihhenikoolsed seened levivad horisontaalselt – isendilt isendile ning on peremeesorganismidele kasulikud, tootes bioloogiliselt aktiivseid aineid, tagades sellega parema kaitse patogeenide ja herbivooride vastu või mõjutades taime reageeringut abiootiliste stressitekitajate vastu. Lisaks erinevate ainete tootmisele on neil võime ka lagundada orgaanilisi aineid, nagu tselluloos, tärklis, ligniin ja pektiin ning sellega tõstavad endolihhenikoolsed seened talluse vastupanuvõimet patogeenidele. Kuigi endolihhenikoolsete seente mõju samblikele pole veel täpselt teada, on neil siiski märgatav mõju kogu talluse eluea jooksul muutes oma rolli antagonistlikust kaitsjast ning samblike elutegevusele kaasaaitajast esmaseks lagundajaks.

Lisaks seenekooslustele on samblikes ka baktereid, kes ei ole obligaatset sümbioosis samblike biontidega. Bakterikooslustes domineerivad erinevad proteobakterite rühmad, aktinomütseedid ja hõimkonna *Firmicutes* esindajad. Proteobakteritest levinuim on alfabroteobakterid ja spetsiaalselt samblikele spetsialiseerunud on nn. LAR1 rühma bakterid seltsist *Rhizobiales*. Bakterikoosluste liigilist koosseisu ja arvukust määravateks teguriteks on sambliku substraat, talluse vanus, fotobiondi tüüp (rohevetikas või tsüanobakter), aga ka geograafiline piirkond. Bakterikoloniate paiknemine tallustes erineb samblike erinevates funktsionaalsetes kihtides ning sageli moodustavad bakterid samblike hüdrofiilsetel pindadel nn. biokile. Bakterite roll samblikes ei ole üheselt selge, kuid arvatakse, et eelkõige on bakterid olulisteks lämmastikuühendite allikateks samblikele. Samuti on teada, et tänu mitmete erinevate

ensüümide tootmise võimele on bakteritel oluline roll ka toitainete ringluses, näiteks jääkainete lagundamises.

Kokkuvõtvalt on endolihtenikoolsete seente ja bakterite roll peremeesorganismile üsna ebaselge, kuid on kindel, et nad mõjutavad oma peremeesorganismi võimet kasvada stressirohketes piirkondades ning aitavad kaasa muidu aeglaselt kasvavate talleluste ellujäämisele.

SUMMARY

Lichens are symbiotic organisms that are formed in a combination of microscopic green alga (*Chlorophyta*) and/or cyanobacteria and fungi. There are other non-symbiotic organisms associated with lichen thalli including lichenicolous and endolichenic fungi, bacteria and other organisms. The diversity of those communities is greater than it was assumed before.

Endolichenic fungi that colonise lichens form a phylogenetically heterogeneous group of fungi, which mainly belong to three classes of Ascomycota: *Dothideomycetes*, *Sordariomycetes* and *Eurotiomycetes*. The communities of endolichenic fungi are mainly not host-specific, but depend on geographical latitude and climatical conditions, which means, that communities that are collected from different hosts, but from the same district are more alike than communities from the same hosts but from different regions. Endolichenic fungi are transmitted horizontally - from specimen to specimen - and are beneficial to their host lichens. These fungi are able to produce bioactive substances, providing better protection against pathogens and herbivores or having an effect on plants reaction to abiotic stressors. In addition endolichenic fungi are also able to decompose organic matters like cellulose, starch, pectin and lignin, and in that they also improve lichens ability to stand against pathogens. Although the effect of endolichenic fungi to their hosts remains unknown, they affect lichens throughout its lifetime changing from antagonistic protector against pathogens to decomposer after lichen senescences.

In addition to fungal communities there are also bacteria inside lichen thalli, that are not obligately symbiotic to lichen bionts. Proteobacteria, actinomycetes and bacteria from phylum *Firmicutes* dominate in bacterial communities in lichens. From proteobacteria the most common group is alphaproteobacteria, and specifically a lichen associated group of bacteria is so-called LAR1 group of *Rhizobiales*. The lichen substratum, age of thallus, intensity of sunlight, and photobiont type (green alga or cyanobacteria) are the most important factors that affect bacterial composition and species richness but communities are also affected by geographicity. Localization of bacteria varies in different functional layers and typically bacteria form a biofilm-like assemblages on the hydrophilic surfaces of the thalli. The role of bacteria in lichens remains unknown but it is believed that they are a crucial in fixation of nitrogen. Bacteria in lichens have also a role in nutrient cycling, for example in decomposing residues.

In conclusion the role of endolichenic fungi and bacteria in lichens is rather unknown, but it is certain that they affect their hosts ability to grow in stressful conditions and they help very slowly growing organisms to survive.

TÄNUAVALDUSED

Soovin südamest tänada oma juhendajat Ave Suijat mitmekülgse abi ning toetava ja motiveeriva suhtumise eest kogu töö kirjutamise vältel.

KIRJANDUSE LOETELU

- Adams D.G., Bergman B., Nierzwicki-Bauer S.A., Rai A.N., Schübler A. 2006 Cyanobacterial-plant symbioses. In: Dwoekin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. (eds.) *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria*. 3rd edn. Vol. 1: Symbiotic associations, biotechnology, applied microbiology. New York USA: Springer, pp. 331-363
- Agrios G.N. 2005 Plant pathology Elsevier Academic Press, Burlington, Massachusetts, USA 5th ed
- Aptroot A., Alstrup V. 1999 Three hyphomycetes isolated from the necrotic lichen *Cladonia rangiformis*. *Cryptogamie, Mycologie* 20: 189–191
- Arnold A.E 2002 Fungal endophytes in Neotropical trees: Abundance, diversity, and ecological interactions. Ph.D. dissertation, University of Arizona, Tuscon, Arizona, USA.
- Arnold A. E. & Engelbrecht 2007 Fungal endophytes nearly double minimum leaf conductance in seedlings of Neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology* 23: 369-372
- Arnold A.E., Miadlikowska J., Higgins K.L., Sarcate S.D., Gugger P, Way A., Hofstetter C., Kauff F., Lutzoni F. 2009. A phylogenetic estimation of trophic transition Network for ascomycetous fungi: are lichens cradels of symbiotrophic fungal diversification? *Systematic biology* 58(3): 283-297
- Asta J., Orry F., Toutain F., Souchier B., Villemin G. 2001 Micromorphological and ultrastructural investigation of the lichen-soil interface. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 323-337
- Bartels P.J. & Nelson D.R. 2007 An evolution of species richness estimators for tardigrades in the Great Smoky Mountains National Park. *Journal of Limnology* 66(1): 104-110
- Bates S., Nash III T.H., Sweat K.G., Garcia-Pichel F., 2011 Fungal communities of lichen-dominated biological soil crust, diversity, relative microbial biomass and their relationship to disturbance and crust cover. *Journal of Arid Environments* 74: 1192-1199.

- Bates S.T., Berg-Lyons D., Lauber L.C., Walters A.W., Knight R., Fierer N. 2012. A preliminary survey of lichen associated eukaryotes using pyrosequencing. *The Lichenologist* 44 (1): 137-146.
- Bates S.T., Cropsey G.W.G., Caporaso J.G., Knight R., Fierer N. 2011 Bacterial communities associated with lichen symbiosis. *Applied Environmental Microbiology* 77:1309-1314
- Belnap J. 2001. Factors influencing nitrogen fixation and nitrogen release in biological soil crusts. In: Belnap J. & Lange O.L. (eds) *Biological Soil Crusts: Structure, Function and Management*. Springer-Verlag, New York, USA, pp. 325-249
- Belnap J. 2002 Impacts of off-road vehicles on nitrogen cycles in biological soil crusts, resistance in different U.S. deserts. *Journal of Arid Environments* 52: 155-165
- Burbank M.P. & Platt R.B. (1964) Granite outcrop communities of the Piedmont plateau in Georgia. *Ecology* 45: 292-306
- Cardinale M., Castro Jr. J.V., Müller H., Berg G., Grube M. 2008 *In situ* analysis of the bacterial community associated with reindeer lichen *Cladonia arbuscula* reveals predominance of *Alphaproteobacteria*. *FEMS Microbiology ecology* 66(1):63-71
- Cardinale M., Grube M., de Castro J., Müller H. 2012. Bacterial taxa associated with the lung lichen *Lobaria pulmonaria* are differentially shaped by geography and habitat. *FEMS Microbiology ecology* 329:111-115
- Cardinale M., Müller H., Berg G., de Castro J., Grube M. 2006 Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiology ecology* 66: 63-71
- Cardinale M., Puglia A.M., Grube M. 2006 Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology* 57: 484-495
- Cardinale M., Steinoca J., Rabensteiner J., Berg G., Grube M. 2012 Age, sun and substrate: triggers of bacterial communities in lichens. *Environmental microbiology reports* 4(1): 23-28
- Chu H., Fierer N., Lauber C.L., Caporaso J.G., Knight R., Grogan P. 2010 Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes. *Environmental Microbiology* 12: 2998-3006

- Costa-Pinto L.S., Azeved J.L., Pereira J.O., Carneiro Vieira M. L., Labate C.A. 2000 Symptomless infection of banana and maize by endophytic fungi impairs photosynthetic efficiency. *The New Phytologist* 147:609-615
- Farrar J.F. 1976 The lichen as an ecosystem: observation and experiment. *Lichenology: Progress and problems.* :385-406
- Ferla M.P., Thrash J.C., Giovannoni S.J., Patrick W.M. 2013 New rRNA gene-based phylogenies of *Alphaproteobacteria* provide perspective on major groups, mitochondrial ancestry and phylogenetic instability. *PLoS ONE* (8)12 Article number e83383
- Foster D.R. 1958 Vegetation development following fire in *Picea mariana* (black spruce)-*Pleurozium* forests of south-eastern Labrador, Canada. *Journal of Ecology* 73: 517-543
- Garcia-Pichel F., Johnson S.L., Youngkind D., Belnap J., 2003. Small-scale vertical distribution of bacteria biomass and diversity in biological soil crusts from arid lands in the Colorado Plateau. *Microbial Ecology.* 46: 312-321
- Gerson U. 1973 Lichen-arthropod associations. *Lichenologist* 5:434-443
- Girlanda M. Iscrono D., Bianco C., Luppi-Mosca A.M. 1997 Two foliose lichens as microfungus ecological niches. *Mycologia* 89(4): 531-536
- Guo Y., Fujimura R., Sato Y., Suda W., Kima S.-W., Oshima K., Hattori M., Kamijo T., Narisawa K., Ohta H. 2014 Characterization of early microbial communities on colcanic deposits along a vegetation gradient on the Island of Miyake, Japan. *Microbes and Environments* 29(1): 38-49
- Grube M., Cardinale M., Castro Jr. J.V., Müller H., Berg M. 2009. Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *The ISME Journal* 3: 1105-1116
- Grube M., Köberl M., Lackner S., Berg C., Berg G. 2012 Host-parasite interaction and microbiome response: effects of fungal infections on the bacterial community of the Alpine lichen *Solorina crocea*. *FEMS Microbiology ecology* 82: 472-481

- Harper K.T., Belnap J. 2001 The influence of biological soil crusts on mineral uptake by associated vascular plants. *Journal of Arid Environments* 47: 347-357
- Henkel P. A. & Yuzhakova L.A. 1936 On the role of *Azotobacter* in lichen symbiosis. *Bulletin of the Perm (Molotov). Biological Research Institute* 10: 315
- Henkel P.A. & Plotnikova T.T. 1973 Nitrogen-fixing bacteria in lichens. *Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR: Biology Series* 6: 807-813
- Honegger, R 2000: Simon Schwendener (1829-1919) and the dual hypothesis of lichens. - *The Bryologist* 103(2): 307-313.
- Honegger, R. 2014, Lichen thalli: Consortia with Unknown Numbers of Participants. pp. 296-300
- Hodkinson B.P., Gottel N.R., Schadt C.W., Lutzoni F. 2012 Photoautotrophic symbiont and geography are major factors affecting highly structured and diverse bacterial communities in the lichen microbiome. *Environmental Microbiology* 14(1): 147-161
- Hodkinson B.P. & Lutzoni F. 2009 A microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the *Rhizobiales*. *Symbiosis* 49: 163-180
- Honegger R., Axe L., Edwards D. 2013 Bacterial epibionts and endolichenic actinobacteria and fungi in the Lower Devonian lichen *Chlorolichenomycites salopensis*. *Fungal Biology* 117:512-518
- Humbert J.F., Dorigo U., Cecchi P., Berre B.L., Deboras D., Bouvy M 2009 Comparison of the structure and composition of bacterial communities from temperate and tropical freshwater ecosystems. *Environmental Microbiology* 11: 2339-2350
- Iskina R.Y. 1938 On nitrogen-fixing bacteria in lichens. *Bulletin of the Perm (Molotov) Biological research institute* 11: 113
- Kannangara B.T.S.D.P., Rajapaksha R.S.C.G., Paranagama P.A. 2009 Nature and bioactivities of endolichenic fungi in *Pseudocyphellaria* sp., *Parmotrema* sp. and *Usnea* sp. at Hakgala montane forest in Sri Lanka. *Letters applied in Microbiology* 48: 203-209
- Lawrey J.D. 1995 The chemical ecology of lichen mycoparasites- a review. *Canadian Journal of Botany* 73: S603-S608

- Lawrey, J.D., Diederich, P. 2003. Lichenicolous Fungi: Interactions, Evolution, and Biodiversity. *The Bryologist* 106(1): 80-120.
- Lee K.-B., Liu C.-T., Anzai Y., Kim H., Aono T., Oyaizu H. 2005 The hierarchical system of the “*Alphaproteobacteria*”: Description of *Hyphomonadaceae* fam. nov., *Xanthobacteraceae* fam. nov and *Erythrobacteraceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 5:1907-1919
- 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
- Liba C., Ferrera F., Manfio G., Fantinatti-Garboggini F., Albuquerque R., Pavan C., Ramos P.L., Moreira-Filho C.A., Barbosa H.R. 2006. Nitrogen-fixing chemo- organotrophic bacteria isolated from cyanobacteria-deprived lichens and their ability to solubilize phosphate and to release amino acids and phytohormones. *Journal of Applied Microbiology* 101: 1076-1086
- Lindsay, W. L. 1869. Observations on new lichenicolous micro-fungi. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 6: 534-536
- Lumyong S., Lumyong P., McKenzie H., Hyde K.D. 2002 Enzymatic activity of endophytic fungi of six native seedling species from Doi Suthep-Pui National Park, Thailand. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 1109-1112
- Marques L. M., Redman R.S., Rodriguez R.J., Roossinch M.J. 2007 A virus in fungus plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science* 315: 513-515
- Mejia L.C., Rojas E.I., Maynard Z., Van Bael S., Arnold A.E., Hebbbar P., Samuels G.J. Robbins N., Herre E.A. 2008 Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological control* 46: 4-14
- Muggia L., Klug B., Berg G., Grube M. 2013 Localization of bacteria in lichens from Alpine soil crusts by fluorescence *in situ* hybridization. *Applied Soil Ecology* 68:20-25
- O’Donnell J., Dickinson C.H. 1980 Pathogenicity of *Alternaria* and *Cladosporium* isolates on *Phaseolus* *Transactions of the British Mycological Society* 74: 335-342

- Palmqvist K. 2002. Cyanolichens: Carbon metabolism. In: Rai A.N., Berman B., Rasmussen U. (eds). *Cyanobacteria in symbiosis*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 73-96
- Paranagama P.A., Wijerante E.M.K., Burns A.M., Marron M.T., Gunatilaka M.K. Arnold A.E., Gunatilaka A.A.L. 2007 Heptaketides from *Corynespora* sp. Inhabiting the Cavern Beard Lichen, *Usnea cavernosa*: first report of metabolites of an endolichenic fungus. *Journal of Natural Products* 70: 1700-17005
- Peršoh D. & Rambold G. 2012 Lichen-associated fungi of the *Letharietum vulpinae*. *Mycological Progress* 11: 753-760
- Petrini O. 1986 Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. *Microbiology of the phyllosphere*: 175-187
- Petrini O. 1996 Ecological and physiological aspects of host-specificity in endophytic fungi. In S.C. Redlin and L.M. Carris[eds.] *Endophytic fungi in grasses and woody plants*. APS Press, St Paul, Minnesota 87-100
- Petrini O., Hake U., Dreyfuss M.M. 1990 An analysis of fungal communities isolated from fruticose lichens. *Mycologia* 82(4): 444-451
- Printzen C., Fernandez-Mendoza F., Muggia L., Berg G., Grube M. 2012 Alphaproteobacterial communities in geographically distant populations of the lichen *Cetraria aculeate*. *FEMS Microbiology Ecology* 82: 316- 325
- Quaiser A., Ochsenreiter T., Lanz C., Schuster S.C., Treusch A.H., Eck J., Schleper C. 2003. Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. *Molecular Microbiology* 50 (2): 563–575
- Rai A.N. 2002. Cyanolichens: Nitrogen Metabolism. In: Rai A.N., Berman B., Rasmussen U. (eds.) *Cyanobacteria in Symbiosis*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 97-115
- Ramirez-Fernandez L., Zuniga C., Caru M,m Orlando J. 2014 Environmental context shapes the bacterial community structure associated to *Peltigera* cyanolichens growing in Tierra del Fuego, Chile. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 30: 1141-1144

- Redfield E., Barns S.M., Belnap J., Daane L.L., Kuske C.R. 2002 Comparative diversity and comparison of cyanobacteria in three predominant soil crusts of Colorado Plateau. *FEMS Microbiology Ecology*. 40:55-63
- Schwendener S. 1868 Ueber die Beziehungen zwischen Algen und Flechtengonidien. *Botanische Zeitung* 26:289-292
- Selbman L., Zucconi L., Ruisi S., Grube M., Cardinale M., Onofri S. 2010 Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar Biology* 33:71-83
- Sheridan R.P. 1991 Nitrogenase activity by *Hapalosiphon flexuosus* associated with *Sphangum erythrocalyx* mats in the cloud forest of the volcano LA Soufriere, Guadeloupe, French West Indies. *Biotropica* 23: 134-140
- Stubbs C.S. 1989 Patterns of distribution and abundance of corticolous lichens and their invertebrate associates on *Quercus rubra* in Maine. *Bryologist* 92: 453-460
- Suryanarayanan T.S., Thirunavukkarasu N., Hariharan G.N., Balaji P. 2005 Occurrence of non-obligate microfungi inside lichen thalli. *Sydowia* 57(1): 120-130
- Torzilli A.P. & Lawrey J-D- 1995 Lichen metabolites inhibit cell wall-degrading enzymes produced by the lichen parasite *Nectaria parmeliae*. *Mycologia* 87:841-845
- Türk R., Gärtner G. 2003 Biological soil crusts of the subalpine, Alpine and nival areas in the Alps. In: Belnap J., Lange O.L. (eds.). *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*.- Springer Berlin: 67-73
- 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: 340-353
- U'Ren J.M., Lutzoni F., Miadlikowska J., Laetsch A.D., Arnold A.E. 2012 Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at continental scale. *American Journal of Botany* 99(5): 898-914

- Ventura M., Canchya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F., Sinderen v. D. 2007 Genomics of *Actinobacteria*: Tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews* 71 (3): 495-548
- Williams K.P., Gillespie J.J., Sorbal B.W.S., Nordberg E.K., Snyder E.E., Shallom J.M., Dickerman A.W. 2010 Phylogeny of Gammaproteobacteria. *Journal of Bacteriology*: 192(9): 2305–2314
- Wolf M., Müller T., Dandekar T., Pollak J. D. 2004 Phylogeny of *Firmicutes* with special reference to *Mycoplasma (mollicutes)* as inferred from phosphoglycerate kinase amino acid sequence data. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology* 54 (3): 871-875

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Sandra Mark,

(autori nimi)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Endolihhenikoolsete seente ja bakterite kooslused samblikes,

(lõputöö pealkiri)

mille juhendaja on Ave Suija,

(juhendaja nimi)

- 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **27.05.2014**