

TARTU ÜLIKOOL  
Loodus- ja täppisteaduste valdkond  
Ökoloogia ja maateaduste instituut  
Botaanika osakond

Mihhail Brodski

**Suurendatud õhu- ja mullaniiskuse mõju arukase ja hariliku kuuse lehestiku ja  
arukase peenjuurte seenekooslustele**

Magistritöö (30 EAP)  
Bioloogia ja ökoinnovatsioon

Juhendajad: kaasprofessor Arvo Tullus  
nooremteadur Ahto Agan

Tartu 2023

## **Infoleht**

### **Suurendatud õhu- ja mullaniiskuse mõju arukase ja hariliku kuuse lehestiku ja arukase peenjuurte seenekooslustele**

Arukask *Betula pendula* Roth ja harilik kuusk *Picea abies* (L.) H. Karst. on ühed enamlevinud ja ökoloogiliselt tähtsamad puuliigid Eestis ja Põhja Euroopas. Nende koed on elupaigaks seenekooslustele, mis on liigilise koosseisu ja oma funktsionaalsuse poolest väga mitmekesised. Kliimamuutuste tagajärjena ennustatakse Eesti piirkonnas tulevikus sademete hulga ja õhuniiskuse suurenemist. Magistritööks koguti kase lehtede ja juurte ning kuuseokaste proove kliimamuutuste võimaliku mõju uurimiseks metsaökosüsteemi õhu- ja mullaniiskuse manipuleerimiskatsealalt (FAHM) ja võrdluseks lähedastelt metsaaladelt. Proovid sekveneeriti kõrge läbilaskevõimega DNA sekveneerimismeetoditega. Selgus, et FAHM katseala ja metsaalade puude seenekooslused erinevad liigiliselt koosseisult, kuid mitte liigirikkuselt ja mitmekesisuselt. FAHM katsealal omakorda erineb teistest töötlustest suurendatud õhuniiskusega töötlus.

Märksõnad: arukask, harilik kuusk, kliimamuutused, mükobioom, niiskustingimused

CERCS: B230 Mikrobioloogia, bakterioloogia, viroloogia, mükoloogia; B270 taimeökoloogia; B430 Metsakasvatus, metsandus, metsatehnoloogia

### **The effects of increased air- and soil humidity on the mycobiomes of silver birch and norway spruce phyllosphere and of fine roots of silver birch**

Silver birch *Betula pendula* Roth and norway spruce *Picea abies* (L.) H. Karst. are some of the most abundant and ecologically important tree species in Estonia and Northern Europe. Their tissues facilitate fungal communities which are very diverse in both species composition and ecological functions. As a consequence of climatic changes, elevated precipitation and air humidity is predicted for the region. For this master's thesis samples of birch leaves and roots and spruce needles were collected from the forest ecosystem Free Air Humidity Manipulation experiment (FAHM) and nearby forest areas, in order to investigate the potential effects of climate change on these fungal communities. The samples were sequenced using high-throughput DNA sequencing. It turned out that the composition of fungal communities of trees in FAHM differ from those in forest areas, but there were no differences in species richness. Inside the FAHM, the elevated air humidity treatment differs from the rest.

Key words: silver birch, norway spruce, climate change, mycobiome, environmental humidity

CERCS: B230 Microbiology, bacteriology, virology, mycology; B270 Plant ecology; B430 Silviculture, forestry, forestry technology

## Sisukord

|  |    |
|--|----|
| 1. Sissejuhatus.....   | 5  |
| 1.2. Endofüütide ökoloogia ja mitmekesisus.....                | 5  |
| 1.3. Patogeenid ja saprotroofid.....                           | 6  |
| 1.4. Kliimamuutused.....                                       | 7  |
| 1.5. Seos metsandusega.....                                    | 7  |
| 1.6. Vaadeldav kasvukohatüüp.....                              | 8  |
| 1.7. Tähtsaimad patogeensed seened kasel ja kuusel.....        | 9  |
| 1.7.1. Arukask.....  | 9  |
| 1.7.2. Harilik kuusk.....                                      | 11 |
| 1.8. Töö eesmärgid.....  | 12 |
| 2. Metoodika.....  | 13 |
| 2.1. Katseala ja proovide kogumine.....                        | 13 |
| 2.2. Molekulaarne analüüs.....                                 | 14 |
| 2.3. Bioinformaatika.....                                      | 15 |
| 2.4. Statistiline analüüs.....                                 | 15 |
| 2.5. Magistrandi osa töö valmimises.....                       | 16 |
| 3. Tulemused.....  | 17 |
| 3.1. Seeneliikide koguarv katsevariantides.....                | 17 |
| 3.2. Katsetöötuse mõju seente OTUde arvule.....                | 17 |
| 3.2.1. Arukask.....  | 17 |
| 3.2.2. Harilik kuusk.....                                      | 18 |
| 3.3. Shannoni mitmekesisus.....                                | 19 |
| 3.3.1. Arukask.....  | 19 |
| 3.3.2. Harilik kuusk.....                                      | 20 |
| 3.4. Töötluste mõju funktsionaalsete rühmade osakaaludele..... | 20 |
| 3.4.1. Arukask.....  | 20 |
| 3.4.2. Harilik kuusk.....                                      | 21 |
| 3.5. NMDS analüüs.....   | 22 |
| 3.5.1. Arukask.....  | 22 |
| 3.5.2. Harilik kuusk.....                                      | 24 |
| 3.6. Enamlevinud taksonid puude lehestikes.....                | 25 |
| 3.6.1. Arukask.....  | 25 |
| 3.6.2. Harilik kuusk.....                                      | 29 |
| 3.7. Indikaatorliikide analüüs.....                            | 31 |
| 3.7.1. Arukask.....  | 31 |
| 3.7.2. Harilik kuusk.....                                      | 32 |

|   |    |
|---|----|
| 4. Arutelu.....   | 34 |
| 4.1. Katsetöötluste mõju kaselehtede ja kuuseokaste seenekooslustele..... | 34 |
| 4.2. Enamlevinud liigid proovides ja patogeenide osakaal.....             | 35 |
| 4.3. Katsetöötluste mõju kase peenjuurte seenekooslustele.....            | 36 |
| Kokkuvõte.....  | 39 |
| Summary.....  | 40 |
| Tänuavaldused.....  | 41 |
| Kasutatud kirjandus.....  | 42 |
| Lisa 1. Peatükis 3.6. nimetatud taksonid ja nende autorite nimed.....     | 49 |

## 1. Sissejuhatus

Seened moodustavad taimedes äärmiselt mitmekesised kooslused koos teiste mikroorganismidega. Seente suhted taimedega on väga mitmekesised ja varieeruvad sümbioosist antagonismini. Metsad katavad pea kolmaniku maismaa pindalast (Lindquist jt, 2012) ja on ühed mitmekesisemad elupaigad nii taimedele kui seentele. Ennustatakse, et kliimamuutused tekitavad metsas kasvavatel puudel sagedamini stressi, mille põhjused võivad olla nii abiootilised (nt. põuad, tulekahjud) kui biootilised (nt. patogeenide epideemiad ja herbivooride puhangud) (Anger-Kraavi jt, 2021). Seened on üks liigirikkamaid organismide rühmi Maal (Tedersoo jt, 2014) ning sõltuvalt oma eluviisist täidavad nad mitmekesiseid funktsioone nii ökosüsteemi tasemel kui ka üksiku taime sees. Endofüütsed seened võivad mõjutada peremeestaimede tervist ja leevendada stressi mõju kooslustele, näiteks läbi antagonismi patogeenidega (Busby jt, 2022). Endofüütide mõju taimede tervislikule seisundile on muutunud tähtsaks uurimisalaks (Witzell ja Martín, 2018). Oluliseks on peetud ka nn mikrobioomi tuumiku leidmist, see tähendab taksoneid, mis teatud liigi hea tervisega puul pea alati esinevad (Shade ja Handelsman 2012). Mikrobioomi tuumiku teadmine aitaks paremini uurida ja hiljem ennustada koosluste reaktsiooni häiringutele ja annaks võimaluse selgitada, kas endofüütseid seenekooslusi on võimalik puistu tasemel mõjutada ja muuta (Witzell ja Martín, 2018). Endofüütide koosluste mõjutamist oleks võimalik kasutada puistute tervisliku seisundi parandamiseks ning patogeenide biokontrolliks ja biomassi toodangu suurendamiseks võimalikult keskkonnasõbralike meetoditega. Praegusel ajal on taimedega seotud seente ökoloogilised funktsioonid paljudel juhtudel teada vaid üldjoontes (Pölme jt, 2020).

Üleilmsete kliimamuutuste ühe tagajärjena ennustatakse sademete ja õhuniiskuse tõusu mõnedes piirkondades (IPCC, 2022). Niiskuse tõus oleks suurim boreaalsetes metsavööndites (Vautard jt, 2014; Kjellström jt, 2018; Anger-Kraavi jt, 2021) ning võiks enam mõjutada metsa ökosüsteeme, kus kõrge õhuniiskuse tase pärast vihma kõige kauem püsib. Sademete tõusuga seotud muutuste uurimine puudega seotud seentele võib lubada paremini ennustada metsaökosüsteemide reaktsiooni kliimamuutustele, seda eriti juhul kui on võimalik täpselt kirjeldada nende osa puude elutegevuses (Witzell ja Martín, 2018). Alates 2008. aastast Eestis Rõka külas läbi viidava metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise (FAHM) katse senised tulemused on näidanud, et suurendatud õhuniiskus põhjustab noortel puudel stressi (Sellin jt, 2017)

### 1.2. Endofüütide ökoloogia ja mitmekesisus

Seeneliike on maailmas ennustatavalt üle miljoni (Hawksworth ja Lücking, 2017) ja nad elavad igal pool, paljud seened on eluviisilt taimedega seotud. Taimekudedes kasvavaid seeni on uuritud

võrdlemisi vähem kui mullas elavaid seeni (Baldrian jt, 2022). Vastavalt DNA sekveneerimisandmetele on kirjeldamata seeneliike kõige rohkem just taimekudedes ja samblikes (Baldrian jt, 2022). Taimekudedes elavad seened ja muud mikroorganismid moodustavad mitmekesiseid kooslusi mille uurimine ja kirjeldamine on alles hoogu sisse saamas.

Arvatavasti aitavad paljud endofüüdid taimedel end kaitsta patogeenide vastu, kuid vastavaid uuringuid on veel võrdlemisi vähe läbi viidud. Samuti mõjutavad endofüüdid taime füsioloogiat ja stressitaluvust. Sellega nad soodustavad taimede kasvamist ja ka näiteks raiesmike taasmetsastamist metsanduse kontekstis. Endofüüdid on tähtsad ka loodusliku mitmekesisuse säilitamisel (Busby jt, 2022). Osa lehtedes kasvavaid endofüütseid seeni on pärast lehe langemist esimesed lagundajad soodustades sellega süsiniku ringlust. Üldiselt on piirid sümbiontide, mutualistlike endofüütide, saprotroofide ja patogeenide vahel üsna hägusad ning viimased kaks võivad ka kahjutute endofüütidena taimes elada (Naranjo-Ortiz ja Gabaldón, 2019).

### **1.3. Patogeenid ja saprotroofid**

Paljud parasiitsed seened on võimelised lagundama ja toiduks tarbima nii elus kui surnud taimekudesid. Juhtub ka vastupidiseid olukordi, kui saprotroofse eluviisiga seen muutub taimele patogeenseks. Reeglina in sellisel juhul taime immuunsüsteemi vastupanuvõime seente rünnete langemine mingi stressifaktori tõttu. Parasiitsete seente puhul erineb ka nende toime koloniseeritud taimekoele. Sõltuvalt väljakujunenud elustrateegiatest püüab osa patogeene substraatkude surmata, eelistades toituda surnud koest, selliseid seeni nimetatakse nekrotroofseteks. Kuna nekrotroofsed seened suudavad, erinevalt saprotroofsetest, surmata hea tervisega taime kudesid vaatamata taime immuunsüsteemi vastupanule, peetakse neid evolutsiooniliselt rohkem spetsialiseerunuks kui lihtsalt saprotroofe (Asiegbu ja Kovalchuk, 2021). Teised, biotroofsed, nt kaseluudik, püüavad oma substraati elus hoida, toituda elus taimekoel (Suzuki ja Sasaki, 2019). On olemas ka hemibiotroofsed organismid, mis on võimelised toituma elus peremehel, kuid jätkavad samas kohas kasvamist ka pärast tema surma. Selline varieeruvus ja võimalik ebapüsivus seente toitumistüüpides võib raskendada osade seente paigutamist kindlasse funktsionaalsesse rühma. Seente toitumisviiside evolutsioonilisi muutusi on uuritud mõningal määral, kuid ei ole võimalik ennustada, kuidas üks patogeenne või potentsiaalselt patogeenne seen võiks muutuvates kliimatingimustes oma käitumist muuta.

Seened, mis on pikka aega oma peremeestaimega koos evolutsioneerunud üldjuhul ei ole tugevalt patogeensed (Sieber, 2007). Kõige suuremat kahju tekitavad sageli uudsed patogeenid, kellega peremeestaim ei ole suutnud kohastuda. Kui patogeense seene ja peremeestaim

populatsioonidünaamika on stabiilne, soosib looduslik valik madalama virulentsusega seene genotüüpe (Suzuki ja Sasaki, 2019). Seene virulentsus langeb ka juhul, kus ei esine lõivsuhet seene virulentsuse ja levimisvõime, või mõne muu elukäigu parameetri vahel.

#### **1.4. Kliimamuutused**

Valitsustevahelise kliimamuutuste paneeli (IPCC, 2022) poolt avaldatud keskmine kliimamuutuste stsenaarium ennustab 1,5-2 kraadist keskmise temperatuuri tõusu võrreldes industriaalajastu eelse tasemega. Eestis ja lähipiirkondades on temperatuuri tõus sellest märgatavalt suurem (Anger-Kraavi jt, 2021). See toob endaga kaasa ka sademete hulga tõusu, mis on suurim kevadel ja sügisel, suved muutuvad põuasemaks. Metsavöönditest kõige enam tõuseb sademete hulk eeldatavasti boreaalses metsas; temperatuur tõuseb neis 4-11 kraadi (Gauthier jt, 2015). Kjellström jt (2018) järgi tõuseb keskmine sademete hulk Skandinaavias 4% ja Ida-Euroopa piirkonnas 6% 1,5°C stsenaariumi korral; 2°C stsenaariumi korral on ennustatud kuni 20% sademete hulga tõusu (Vautard jt, 2014; Christensen jt, 2021). Boreaalse metsa produktiivsus on viimastel kümnenditel suurenenud pikenenud kasvuhooaja tagajärjel. Eeldatakse, et kliimamuutuste tõttu suureneb nii biotiliste kui abiotiliste häiringute sagedus ja mõju metsaökosüsteemidele (Anger-Kraavi jt, 2021).

Kliimamuutustel on otsene mõju nii metsadele läbi kasvuperioodi pikenemise kui ka puudel kasvavatele seentele. Ennustatakse, et kliimamuutuste tagajärjena suurenevad metsades patogeensete seente tekitatud kahjud (Anger-Kraavi jt, 2021). Näiteks juurepessu spooride tootmine aktiveerub temperatuuridel üle 5°C ning on näidatud, et eoste tootmine on positiivses korrelatsioonis õhutemperatuuriga (La Porta jt, 2008). Kevaded on paiguti 3-5°C kraadi soojemad kui sajand tagasi (Anger-Kraavi jt, 2021). Okaspuud on nakkusele vastuvõtlikumad kuivemates kasvukohtades pärast põuda ja vähem vastuvõtlikud parasniiskes kasvukohas. Lühemad talved soodustavad juurepessu levikut ja edukust (Mattila ja Nuutinen, 2007). Keskkonnatingimuste mõju kõigile puudega seotud seente liigirikkusele varieerub sõltuvalt substraadist (Marčiulynas jt, 2022; Marčiulynienė jt, 2022) ning tõenäoliselt ka kliimamuutused mõjutavad seente liigirikkust erinevalt sõltuvalt substraadist.

#### **1.5. Seos metsandusega**

Endofüütidel on taimedes olulised funktsioonid, mis aitavad tagada taime hea tervise. Mõned taimetele soodsates tingimustes kasulikud endofüüdid võivad taime kasvutingimuste halvenemisel muutuda taimetele kahjulikeks patogeenideks (Kovalchuk jt, 2018). Muutused taimel kasvavate seente koosseisus võivad samuti taime tervisele mõju omada ja näiteks mõjutada juba kulgeva

nakkuse avaldumist (Kovalchuk jt, 2018). Võrdlemisi vähe on teadmisi sellest, millised faktorid mõjutavad endofüütsete seenekoosluste koosseisu. Leedu kuuse enamusega puistutes läbi viidud uuring näitas, et mulla tüüp ega ka kasvukohatüüp ei mõjuta mulla seenekooslusi, kuid võivad mõjutada kuuse okaste, võrsete ja juurte mükobioomi, põhjuseks oletatavasti erinev vee ja toitainete kättesaadavus eri kasvukohtades (Marčiulynas jt, 2022). Samas uuringus näidati, et kõrgema aastase sademete hulga korral on juurtes ja mullas seeneliike rohkem, kuid okastes vähem; kõrgema õhutemperatuuri korral tõuseb seeneliikide hulk juurtes, kuid langeb teistes substraatides. On võimalik, et kliimamuutuste tõttu tekitavad tulevikus probleeme mõned uued invasiivsed patogeenid, keda praegu hariliku kuuse ega arukase levilas ei esine.

Kliimamuutuste potentsiaalne mõju puude seenekooslustele võib olla ka metsamajanduslikult oluline, sõltuvalt sellest, kuidas võiksid nendele reageerida erinevad patogeenid või ka sümbiondid, millistele liikidele tekiksid kasvuks soodsamad tingimused ja millistele halvemad. Patogeensete seente tekitatud kahjustused metsadele oletatavasti suurenevad. Näiteks tõusev keskmine õhutemperatuur ilmselt soodustab juurepessu kasvamise kiirust ja nakatamise edukust (Trishkin jt, 2016) ning ka teisi puitu lagundavaid seeni (Müller jt, 2014).

Metsa majandamisel on oluline mõju kohalikele seenekooslustele. Metsamajandamisstrateegiad, mille ainus eesmärk on suurendada kasvava puidu biomassi võivad vähendada metsa taime- ja seenekoosluse elurikkust ja mitmekesisust (Anger-Kraavi jt, 2021). Raie on tõsine häiring, mis muudab mükobioomi liigilist koosseisu ja arvukust ning funktsionaalsust. Nii harvendus- kui lageraie vähendavad tavaliselt ektomükoriisete seente mitmekesisust, põhjusteks peremeespuude kadumine ja muutunud keskkonnatingimused. Seente liigiline mitmekesisus on kõrgem metsades mida ei majandata. Majandatavates metsades liigirikkuse tõstmiseks on soovitatav raietel alles jätta võimalikult palju säilikipuid, maha jätta lamapuitu lagundamiseks, suurendada kasvavate metsaeraldiste sidusust ja kasutada keskkonnasõbralikumaid raiemeetodeid (Tomao jt, 2020).

## **1.6. Vaadeldav kasvukohatüüp**

Käesoleva magistritöö ühe osana viidi läbi noortel puudel kasvavate seente uuring jänesekapsa metsakasvukohatüübi (kkt) metsaeraldistel, kus mõni aasta tagasi oli tehtud lageraie. Noortes metsades on seente mitmekesisus üldjuhul väiksem kui küpsetes metsades (Tomao jt, 2020). Eestis on Valgepea jt (2023) andmetel 324,7 tuhat hektarit jänesekapsa kkt metsa, mis on 14% kogu metsamaa pindalast. Jänesekapsa kasvukohatüüp on enamlevinud Lõuna-Eestis, vähemal määral Kesk- ja Ida-Eestis. Domineerivaks puuliigiks on sellises metsas kuusk, tähtsaim taimekooslus on



jänesekapsa-kuusik, harvem domineerib arukask, majandatavas metsas mõnikord mänd, pärast raiet ka haab (Paal, 1997). Sagedased on kase-kuuse segapuistud.

Jänesekapsa kkt võib kasvada näivleetunud ehk kahkjäl mullal (Eesti mullaliikide tüpoloogias kood LP) või erineval tasemel leetunud muldadel (LkI, LkII, LkIII) (Asi, 2021). Need mullad on üldjuhul parasniisked, nõrgalt happelised ja nendel kasvavad puistud on kõrge boniteediga (I või II boniteediklass). Näivleetunud mullal kasvav mets on pea eranditult jänesekapsa kkt. Mainitud muldadel kujuneb jänesekapsa kkt mets looduslikul metsastumisel või endiste põllumaade metsastamisel (Asi, 2021).

## **1.7. Tähtsaimad patogeensed seened kasel ja kuusel**

### **1.7.1. Arukask**

Enamlevinud patogeensed seened kaskedel on kasekäsnak *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, tuletaelik (ebatuletael) *Phellinus igniarius* (L.) Quél., tuletael *Fomes fomentarius* (L.) Fr., must pässik *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát ja kaseluudik *Taphrina betulina* Rostr. Must pässik, tuletaelik ja tuletael tekitavad puidus valgemädanikku, kasekäsnak pruunmädanikku ning kaseluudik nakatab pungasid või noori võrseid (Bennell ja Millar, 1984). Üldjuhul peetakse kaseliike hea tervisega puudeks, mis on igasugustele patogeenidele vähem vastuvõtlikud kui teised puud (Dubois jt, 2020).

Must pässik on levinud üle Põhja-poolkera, kus kasvab peamiselt erinevatel kaseliikidel, kõige rohkem sookasel (Miina jt, 2021), vähemal määral teistel lehtpuudel. Seen on Eestis tavaline, eElurikkus andmebaasis on tema kohta Eestis 357 kirjet, millest 90 teaduskogudes. Seen tekitab puudel valgemädanikku, alustab lagundamist puu keskosast, säsist. Seen on võimeline levima piki tüve kuni 35 cm aastas, väljapoole aeglasemalt. Nakatuse sümptomiks puul on iseloomulik steriilne must kasvaja, pässik (tuntud ka paljude teiste nimede all, nende seas ka kasekäsn ja tšaaga), mis koosneb väga tihedast seeneniidistikust ja tekib puutüves olevate pikilõhedele. Erinevatel andmetel võivad pässikud koorele tekkida 1 kuni 7 aastat pärast puu nakatumist. Muid sümptomeid, sealhulgas nähtavat puidumädanikku, ei teki kuni nakatumise lõppfaasini kui puu on juba hukkumas. Seene elutsükkel, alates puu nakatamisest ja lõpetades viljakehade tekkimisega juba surnud puu tüvel koore all kestab umbes 20 aastat. Elus puudelt on seene viljakeha leitud vaid üksikutel juhtudel, tavaliselt peab must pässik elutsükli edukaks lõpetamiseks oma peremeespuu tapma. Pässikut peetakse majanduslikult tähtsaks patogeeniks, kes tekitades valgemädanikku vähendab toodetava puidu kvaliteeti; näiteks kasetüve esimesed 3 meetrit muutuvad pässiku nakkuse tulemusena tarbepuiduna kasutuskõlbmatuks (Drenkhan ja Adamson, 2020). Pässiku

nakatamise ulatuse kohta on erinevaid andmeid. Kõrge nakatumistasemega kaasikutes Tšehhis on kuni 38% puudest määratud pässikuga nakatunuks, muudes kaasikutes on nakatumistase väiksem. Neist vaid väikesel osal esineb koorel kasekäsnaid (Drenkhan ja Adamson, 2020). Samuti on vähe teada sellest, millistes keskkonnatingimustes võiks must pässik olla rohkem või vähem edukas, kuid on pakutud, et üheks nakatumist soodustavaks teguriks võib olla kõrge mulla niiskus. Musta pässikut on inimesed pikka aega kasutanud ravi eesmärkidel, tänapäeval toimuvad uuringud pässiku meditsiinilise kasutamise võimalikkusest näiteks vähkkasvajate või hüpoglükeemia vastu (Duru jt, 2019); uuritakse ka pässiku kultiveerimise majanduslikku otstarbekust (Miina jt, 2021).

Tuletael eelistab samuti peremehena kaske, mõnikord leppasid, haaba, harva ka teisi lehtpuid. Nakatab sageli vanu ja nõrgenenud puid läbi koorekahjustuste ja oksaarmide (Schwarze jt, 2000). Pärast puu surma jätkab saprotroofina (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Tuletaela on võimalik määrata tema viljakeha järgi, mis võib kasvada mitu aastat (Kalamees jt, 2000; Schmidt ja Czeschlik, 2006). Viljakeha tekib tavaliselt surnud puidule (Schwarze jt, 2000). Andmebaasis eElurikkus on tuletaela kohta Eestis 880 kirjet.

Kasekäsna, *Fomitopsis betulina* (varem *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst.), on üks sagedasemaid kasel pruuni mädanikku tekitavaid seeni (Kalamees jt, 2000; Schmidt ja Czeschlik, 2006). Seen esineb nii aru- kui sookasel. Andmebaasis eElurikkus on nimega *Piptoporus betulinus* Eestis 488 kirjet ja nimega *Fomitopsis betulina* 16. Seen on nekrotoorne, lagundab aktiivsemalt juba eelnevalt stressis puid, võib põhjustada surma ja jätkab siis saprotroofina (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Viljakehad esinevad surnud puidul. Metsamajanduslikult oluliseks seda seent ei loeta (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Andmebaas FungalTraits loeb perekonna *Piptoporus* patogeenseks (Põlme jt, 2020).

Lehehaigusi põhjustavaid seeni on arvukalt. Neist sagedaseimaks peetakse *Melampsorium betulinum* (Pers.) Kleb. 1899 (Bennell ja Millar, 1984, Schmidt ja Czeschlik, 2006), mis peaks küll Eestis vähe levinud olema, sest see seen on edukam metsades, kus esineb ka lehiseid; samuti Suurbritannias levinud *Anisogramma virgultorum* (Fr.) Theiss. & Syd. ja *Marssonina betulae* (Lib.) Magnus (Silva jt, 2008). Nad põhjustavad kase lehtede laiksust ja on võimelised puu kasvu aeglustama ja vähendama vastupanuvõimet teistele patogeenidele. Laialdase nakkuse korral soodustavad nad ka võrselaiksuse teket *Godronia multispora* J.W. Groves poolt (Kurkela, 1974) ning ka ise põhjustada võrsete mädanikku ja kuivamist (Silva jt, 2008).

### 1.7.2. Harilik kuusk

Enamlevinud patogeensed seenteks kuusel peetakse kuuse-juurepessi *Heterobasidion parviporum* Niemelä & Korhonen, männi-juurepessi *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., külmaseeni *Armillaria spp.* ja *Endoconidiophora polonica* (Siemaszko) Z.W. de Beer, T.A. Duong & M.J. Wingf., mis on seotud kuuse-kooreüraskiga (Axelsson jt, 2020). Neist esimesed kolm tekitavad puudel juurekaela mädanikku. Kuuse- ja männi-juurepessi loetakse mõnikord ka ühe liigikompleksi esindajateks, *Heterobasidium annosum sensu lato*, kuid nad ei suuda siiski omavahel ristuda (Kalamees jt, 2000; Schmidt ja Czeschlik, 2006.). Kuusel esineb ka mitmeid seeni, mis põhjustavad okkahaigusi (Kaitera jt, 2010).

Kuuse patogeenidest kõige suuremat ökoloogilist ja majanduslikku kahju põhjustab juurepess (Müller jt, 2014). Juurepess on lihtsamini määratav iseloomuliku viljakeha järgi (Asiegbu jt, 2005). Juurepessu jaoks on välja töötatud biokontrolli preparaate, neist kõige tuntum *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich põhinev RotStop (Asiegbu jt, 2005; Vasiliaskas jt, 2005) ja püütakse leida ka nakkusele vastupidavamaid kuuse kloone (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Kuuse- ja männi-juurepess on saanud nime oma eelistatud peremeesliigi järgi, kuid tegelikult suudavad nad nakatada kõiki Eestis esinevaid okaspuid, kokku on neil peremeesliike umbes 200 (Schwarze jt, 2000). Kuuse-juurepessust on eElurikkuses Eestis 260 kirjet, männi-juurepessust 78. Juurepess on võimeline mõjutama metsa liigilist koosseisu, puistu tihedust, liigirikust ning metsa suksessiooni (Asiegbu jt, 2005). Juurepess kahjustab kõige enam majandatavaid metsi, looduslikes metsades esineb teda palju vähemal määral. Euroopas tekitatud majanduslikku kahju hinnatakse vähemalt 800 miljoni euro suuruseks (Müller jt, 2014). Metsaraie, ka hooldus- ja harvendusraie soodustavad juurepessu levikut, kuna juurepessu eosed levivad kasvavatele puudele pärast raiet maha jäänud kändude kaudu. Esimesed kändud nakatuvad tavaliselt õhu või putukatega kaasabil levivate eostega (Schwarze jt, 2000). Palju harvem nakatuvad eostega koorehaavanditega puud. Nakatunud puistus levib juurepess ühelt puult teisele eelkõige juurkontaktide kaudu (Kalamees jt, 2000; Schwarze jt, 2000). Ükskord juurepessuga nakatunud puistu jääb ka pärast lageraiet haiguse koldeks (Hanso ja Hanso, 1999). Juurepessu levimist soodustavad ka mulla läbikuivamine suvekuudel ja väga tihedalt kasvavad puud. Ohustatud on ka metsad, mis istutatakse endistele põllumaadele (Hanso ja Hanso, 1999). Põllumullas puuduvad sageli need mükoriisaseened, mis on omased metsamuldadele ja on võimelised haiguse levikut mõningal määral takistama (Swedjemark ja Stenlid, 1993). Juurepessu levikut takistavad kõrge põhjaveetase mullas ja teiste puuliikide esinemine metsas (Hanso ja Hanso, 1999). Juurepess on nekroroof, mis tähendab, et ta tapab taimekoe, millel toituma hakkab. Juurepess tekitab puidus valget mädanikku, lagundades nii hemitselluloosi kui ligniini (Schwarze jt,

2000). Nakatumise sümptomid on sarnased teiste mädanikega, esineb võra harvenemine ja vaigujooks.

Kuuski kahjustavaid külmaseeni on Euroopas mitu liiki. Andmebaasis eElurikkus on Eestis perekonnast *Armillaria* 368 kirjet, neist enamus liigini määramata. Tšehhis tehtud uuring leidis, et seal on majandatavates kuusikutes sagedasemad tõmmu külmaseen *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink ja tutt-külmaseen *A. cepistipes* Velen., harvem esines mugul-külmaseen *A. gallica* Marxm. & Romagn. (Holuša jt, 2018). Kõik need kolm liiki on Euroopas laialt levinud, neist esimest kahte peetakse oluliseks patogeeniks stressis puudel, viimast pigem oportunistlikuks seeneks, kes tavaliselt eelistab lehtpuid (Holuša jt, 2018). Külmaseened elavad kändudel ja mullas puidu jäänustel saprotroofidena (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Elus puid nakatavad nad tavaliselt siis, kui puud kannatavad stressi all, mis võib tuleneda nt. põuast, liigniiskusest, reostusest või mõne patogeeni nakkusest. Elus puude nakatumine toimub tavaliselt läbi juurte kokkupuutekohtade (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Külmaseened nakatavad kõige sagedamini puitu juurekaela piirkonnas või kambiumi. Kambiumi nakatumine tapab puu kiiremini (Schmidt ja Czeschlik, 2006). Külmaseenega nakatunud puu koore all võib leida risomorfe, valgeid seeneniidistiku kihte, puu läheduses võib õigel aastaajal tekkida hulgaliselt pruune viljakehi. Külmaseen eelistab kõige enam orgaanikarikkaid nõrgalt happelisi muldi ja kõrget õhuniiskust (Schmidt ja Czeschlik, 2006).

### **1.8. Töö eesmärgid**

Käesoleva magistr töö põhiliseks eesmärgiks on selgitada, kuidas kasvukoha niiskustingimused mõjutavad seenekooslusi, mis kasvavad arukase lehtedel ja peenjuurtel ning hariliku kuuse okastel. Katseandmed kogutakse vabaõhu manipulatsioonikatsest (FAHM), kus uuritakse meie regionile ennustatud kliimatrendide (sademete suurenemisega kaasnev õhu- ja mullaniiskuse tõus) mõjusid puudele. Võrdlusmaterjaliks kogutakse proove ka ümberkaudsetest noortest metsadest, kus oli hiljuti teostatud lageraie. Töös püstitati järgmised hüpoteesid:

- 1) FAHM katsealal on metsaaladega võrreldes madalam liigirikkus ja erinev mükobioomi koosseis;
- 2) Madalaim seenekoosluste liigirikkus ja mitmekesisus on suurendatud õhuniiskusega töötlustes;
- 3) Suurendatud õhu- ja mullaniisutusega töötlustes on suurem patogeensete liikide osakaal.

Magistr töö tulemusel selgub, kuidas FAHM katse töötlustes (õhu niisutamine ja mulla kastmine) mõjutavad kasel ja kuusel kasvavate seente mitmekesisust ja koosseisu. Kask ja kuusk on väga olulised liigid nii majanduslikus kui ka ökoloogilises mõttes. Eesti metsatagavaradest moodustavad nad vastavalt 22,4 ja 26% (Valgepea jt, 2023).

## 2. Metoodika

### 2.1. Katseala ja proovide kogumine

Metsaõkosüsteemi õhu- ja mullaniiskuse manipulatsiooni (FAHM) katsealal paikneb üheksa väiksemat eksperimendiala ehk katseringi, kus alates 2020. aasta kevadest kasvavad harilik kuusk (*Picea abies*) ja arukask (*Betula pendula*). Katseala kolmel kontrollringil (lühendina: C) õhuniiskusega ei manipuleerita, kolmel katseringil on suhteline õhuniiskus tõstetud 5-7% võrra (H töötlus) ja kolmel katseringil on mullaniiskus tõstetud 15% võrra (I töötlus). Iga katsering on jaotatud neljaks veerandiks, millest ühes kasvatatakse ainult arukaske, ühes ainult kuuske ja kahes kasvatatakse kuuse ja kase 50:50 suhtega segapuistut.

Magistritöös analüüsitavate proovide kogumine toimus 2020. ja 2021. aastal (tabel 1). 2020. aastal koguti ainult võrsete proovid, juulis ja septembris. 2021. aastal koguti nii võrsete kui ka juurte proovid, võrsete proovid juulis ja septembris, juurte proovid ühel korral oktoobris. Võrse lõigati võra keskosast ning selle küljes kasvanud lehed või jooksva aasta okkad töödeldi molekulaarselt kasutades spetsiifilisi meetodeid mükobioomi analüüside teostamiseks (täpsemalt peatükis 2.2). Võrseid võtsime igas veerandis kahe kase ja kahe kuuse küljest, igast katseringist koguti seega kokku kuus kuuse ja kuus kase võrseproovi. Kogu FAHM katsealalt tuli seega kokku 54 kuuse ja 54 kase võrseproovi ning iga töötluse kohta 18 proovi. Erinevate FAHM katsetöötluste peale võeti kahel aastal (kaks korjet aastas) kokku 432 proovi. Lisaks võeti võrseproovid veel viiest Järvelja ümbruses paiknevast noorest kase-kuuse segapuistust, igalt alalt kuus kase ja kuus kuuse võrseproovi, kokku 30 proovi mõlemalt liigilt, kaks korjet aastas, kahe aasta peale kokku 240 proovi. Nendel aladel on FAHM katsealaga sarnane näivleetunud muld, kuid erinev alustaimetik. Proovide kogumise eesmärgiks oli võrrelda FAHM katseala puude seenekooslusi katseala puistuga sarnastes kasvukohatüüpides kasvavate puistute seenekooslustega. Proovid külmutati koheselt pärast korjamist -20°C juures.

Juurte proovid koguti 2021. aasta oktoobris. Juuri koguti ainult kaskedelt, kuna leiti, et FAHM katsealal kasvavad kuused on veel nii väikesed, et nendelt juurte eemaldamine võib puud väga tõsiselt kahjustada. Juured koguti otsides üles mõni suurem juur, mis lõigati ära ja kaevati koos ümbritseva mullaga välja, et kätte saada võimalikult suures koguses alla 2 mm diameetriga peenjuuri ja imijuuri, mis olid sobilikud antud analüüsiks. Juuri koguti igas katseringis igas veerandis ühelt kaselt, kokku kolm juureproovi katseringi kohta, üheksa proovi töötluse kohta ning 27 proovi kogu FAHM katsealalt. Võrdluseks koguti veel üheksa kasejuurte proovi läheduses asuvast noorest kase-kuuse segapuistust sarnase kasvukohatüübi ja näivleetunud mullaga. Kokku

analüüsiti 36 juureproovi. Tartusse saabumisel pesti juurtelt maha kogu muld, eraldati analüüsiks vajalikud alla 2 mm läbimõõduga juured, kuivatati 40 kraadi juures ja külmutati -20° C juures.

**Tabel 1.** Ülevaade mükobioomi proovide kogumisest

| Korje          | Korje kuupäev | Ala      | Substraat   | Proovide arv |       |
|----------------|---------------|----------|-------------|--------------|-------|
|                |               |          |             | Arukask      | Kuusk |
| 2020, 1. korje | 7.07          | FAHM-C   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 1. korje | 7.07          | FAHM-H   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 1. korje | 7.07          | FAHM-I   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 1. korje | 10.07         | Metsamaa | lehed/okkad | 30           | 30    |
| 2020, 2. korje | 21.09         | FAHM-C   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 2. korje | 21.09         | FAHM-H   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 2. korje | 21.09         | FAHM-I   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2020, 2. korje | 21.09         | Metsamaa | lehed/okkad | 30           | 30    |
| 2021, 1. korje | 6.07          | FAHM-C   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 1. korje | 6.07          | FAHM-H   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 1. korje | 6.07          | FAHM-I   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 1. korje | 6.07          | Metsamaa | lehed/okkad | 30           | 30    |
| 2021, 2. korje | 16.09         | FAHM-C   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 2. korje | 16.09         | FAHM-H   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 2. korje | 16.09         | FAHM-I   | lehed/okkad | 18           | 18    |
| 2021, 2. korje | 16.09         | Metsamaa | lehed/okkad | 30           | 30    |
| 2021           | 14.10         | FAHM-C   | juured      | 9            |       |
| 2021           | 14.10         | FAHM-H   | juured      | 9            |       |
| 2021           | 14.10         | FAHM-I   | juured      | 9            |       |
| 2021           | 14.10         | Metsamaa | juured      | 9            |       |
|                |               |          | KOKKU       | 372          | 336   |
|                |               |          |             |              | 708   |

## 2.2. Molekulaarne analüüs

Kogutud proovidest eraldati DNA kasutades GeneJET Genomic DNA eraldamise Kit-i (Thermo Fischer Scientific Vilnius, Leedu) Drenkhan jt (2017) järgi. Seente DNA amplifitseerimiseks kasutati universaalseid seenepriimereid ITS1catta (Tedersoo ja Anslan, 2019) ning ITS4ngsUni

(Tedersoo jt, 2014). Kõik proovid mass-sekveneriti kasutades PacBio sekveneerimisplatvormi. Primer ITS1catta on mõeldud eelkõige seeneliikide tuvastamiseks okka- ja lehekudedest (Agan jt, 2020; 2021; Hietala jt, 2022). Mõlemad praimerid (ITS1catta ja ITS4ngsUni) olid varustatud ka MID 10-12 aluspaari pikkuse identifikaatoriga, mis võimaldavad hilisemates bioinformaatilistes töötlustes proovid teineteisest eraldada.

Konventsionaalne PCR viidi läbi kahes korduses iga proovi kohta. PCR produkti kogus oli 25 µl, millest mõlemad primereid 0,5 µl, 5µl HOT FIREPol Blend Master Mix-i (Solis BioDyne, Tartu, Eesti), 1µl DNA-d ning 18µl vaba vett. Konventsionaalne PCR teostati Agan jt (2020) järgi.

### 2.3. Bioinformaatika

Bioinformaatiline analüüs viidi läbi, kasutades erinevaid programme, mis on saadaval rakenduses Pipecraft 1.0 (Anslan jt, 2017). Kasutades mothurit (Schloss jt, 2009), eemaldati andmestikust sekventsidsid, mis olid lühemad kui 100 aluspaari, pikemad sekventsidsid demultiplekseeriti, kusjuures oli lubatud ühenukleotiidne erinevus indeksites ja kahenukleotiidne erinevus kasutatud primerites. Kimäärsed sekventsidsid eemaldati andmestikust kasutades de novo kimäärsete sekvensside filtreerimise programmi uchime (Edgar jt, 2011). Programmi ITSx (Bengtsson-Palme jt, 2013) abil eraldati sekvenssidsid täispikk ITS rDNA geeniregioon. Järelejäänud OTU-d (Operational Taxonomic Units) identifitseeriti kasutades UNITE v.7 andmebaasi (Kõljalg jt, 2013). OTU-d loeti seente riiki kuuluvaks kui nende väärtused vastasid andmebaasi sekvenssidsidele e-väärtuse <e-50 juures. Esindussekvenssidsidele, mis kattusid andmebaasi sekvenssidsidega rohkem kui 50% ulatuses määrati UNITE andmebaasi põhjal liigihüpotees (*species hypothesis*, SH). Liigid jaotati seejärel funktsionaalssetesse rühmadesse kasutades andmebaasi FungalTraits (Põlme jt, 2020).

### 2.4. Statistiline analüüs

OTUde kogus proovi kohta ja nende funktsionaalne jaotumine arvutati kasutades Microsoft Exceli tarkvara. Statistiline analüüs tehti R versiooniga 4.2.3 (R Core Team, 2023). Katsetöötluste, proovide kogumise kuu ja -aasta mõju OTUde hulgale, funktsionaalssetesse rühmadesse jaotumisele, Shannoni mitmekesisusindeksile testiti lineaarse segamudeliga paketi lme4 (Bates jt, 2015), funktsiooniks lmer, juhusliku faktorina kaasati analüüsi katseringi ja metsaala nimi, sest igalt ringilt ja alalt analüüsiti mitme proovi andmeid. Mudelite  $r^2$  väärtused leiti paketi MuMIn abil (Bartoń, 2023). Shannoni mitmekesisusindeksi, samuti proovide NMDS analüüsi, katsetöötluste mõju sellele ning võimalikud korrelatsioonid puu kõrguse ja Shannoni mitmekesisusindeksiga testiti vegan paketi abil (Oksanen jt, 2022) ning joonised kujundati paketi ggplot2 abil (Wickham, 2016).

Indikaatorliigid (liigid, mis esinevad teatud katsetöötluses oluliselt sagedamini kui mõnes teises) leiti paketi `indicspecies` abil (De Cáceres ja Legendre, 2009). Indikaatorliikide analüüsi kaasati OTUd, mille sekventsids moodustasid vähemalt 0,2% kõigist leitud sekventsidest. Mudelite eeldusi kontrolliti jääkide diagnostiliste graafikute alusel. Mõjude statistilise olulisuse hindamisel rakendati olulisuse nivood  $\alpha=0,05$ .

## **2.5. Magistrandi osa töö valmimises**

Töö autori osaks oli koos põhijuhendajaga vajalike proovide kogumine; statistiline analüüs ja kirjutamine. Proovide molekulaarset analüüsi, toorandmete bioinformaatilist töötlemist ja vastavate meetodika alapeatükkide kirjutamise teostas kaasjuhendaja Ahto Agan koostöös töö autoriga.



### **3. Tulemused**

#### **3.1. Seeneliikide koguarv katsevariantides.**

2020. aastal kogutud proovides sekveneriti kokku 1279 OTU-t, nendest 517 said määratud liigi tasemeni ja veel 268 vähemalt perekonna tasemeni. 728 OTU-t esines kaselehtedel, millest 432 esines metsaaladel, 300 FAHM kontrolltöötlustes, 221 H töötlustes ja 424 I töötlustes; juulis 441 ja septembris 586. Kuuseokastel esines 1136 OTU-t, millest 554 esines I töötlustes, 461 H töötlustes, 670 C töötlustes ja 640 metsaaladel; juulis 719 ja septembris 946.

2021. aastal võetud proovides sekveneriti kokku 1401 OTU-t, millest 491 määrati liigi tasemeni ja veel 216 perekonna tasemeni. Kaselehtedel esines 791 OTU-t, millest 557 esines metsaaladel, 399 C aladel, 324 I töötlustes ja 263 H töötlustes; juulis 351 ja septembris 709. Kasejuurtes esines 100 OTU-t, neist 23 esines metsaaladel, 21 H aladel, 70 I aladel ja 30 C aladel. Kuuseokastel esines 925 OTU-t, neist 445 metsaaladel, 486 C aladel, 227 H aladel ja 423 I aladel; juulis esines 534 OTU-t ja septembris 713.

#### **3.2. Katsetöötluste mõju seente OTUde arvule**

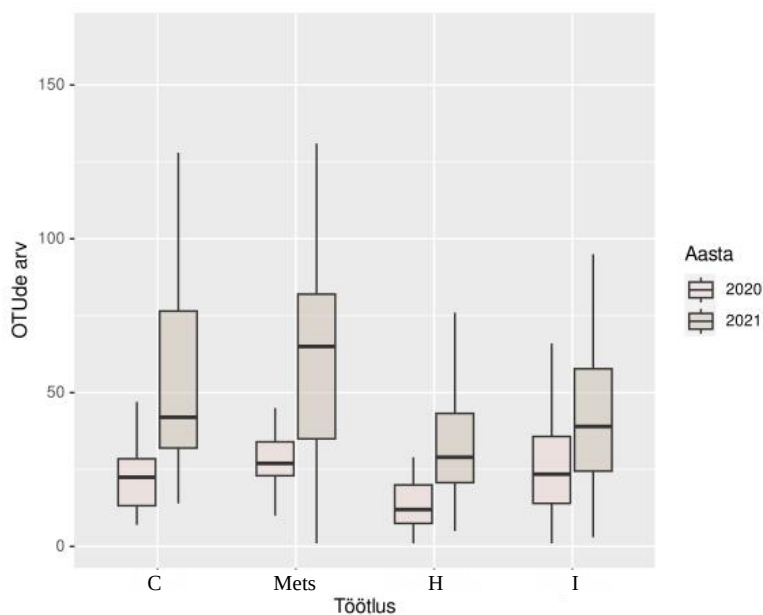
##### **3.2.1. Arukask**

Katsetöötusel oli seente OTUde keskmisele hulgale kaselehtedes statistiliselt oluline mõju ( $p=0,019$ ). H töötlustes oli OTUsid vähem kui metsaaladel mõlemal aastal ning 2021. aastal vähem kui C töötlustes; I töötlustel oli vähem seeneliike kui metsaaladel 2021. aastal (joonis 1). Oluline mõju oli ka kogumise kuul ( $p<0,0001$ ; septembris esines rohkem liike kui juulis) ning kogumise aastal ( $p<0,0001$ ; 2021. aastal esines seeni rohkem kui 2020. aastal). OTUde hulgale avaldus ka kogumise kuu ja kogumise aasta koosmõju; samuti töötluste ja kogumise aasta koosmõju. Aasta ja kuu koosmõju seisnes selles, et aastatevaheline erinevus OTUde hulgas ilmnis üksnes septembri proovides, kus igas töötlustes oli 2021. aastal rohkem seente OTUsid kui 2020. aastal. Juuli proovides aastatevahelisi erinevusi ei olnud.

2020. aasta juulis võetud kaselehtede proovides oli H töötlustes seente OTUsid oluliselt vähem kui metsaaladel ( $p=0,045$ ). Septembris oli I aladel seente OTUsid rohkem kui H aladel. Kogumise kuu mõju tuli välja ainult I töötlustes, kus septembris oli lehtedes seente hulk suurem kui juulis ( $p=0,005$ ). Töötluste ja kogumise kuu koosmõju analüüsist välja ei tulnud ( $p=0,55$ ).

2021. aasta juulis kogutud kaselehtede proovide andmeanalüüs näitas samuti, et töötluste mõju on statistiliselt oluline ( $p=0,03$ ). Metsaaladel oli seente OTUde hulk suurem kui H aladel ja I aladel. Ka septembris oli töötluste mõju oluline ( $p=0,005$ ). Siis oli metsaaladel seente OTUsid rohkem kui H aladel, teiste töötluste vahel olulisi erinevusi ei olnud. Proovi kogumise kuu ja töötluste koosmõju

ei olnud ka 2021. aastal oluline. Seega, kogumise kuu mõju oli seekord statistiliselt oluline olenemata töötlustest, septembris võetud proovides oli seente OTUde hulk alati suurem kui juulikuu proovides. Kase juureproovides leitud seente OTUde hulgale katsetöötluste mõju lineaarses segamudelil ei avaldunud ( $p=0,36$ ).



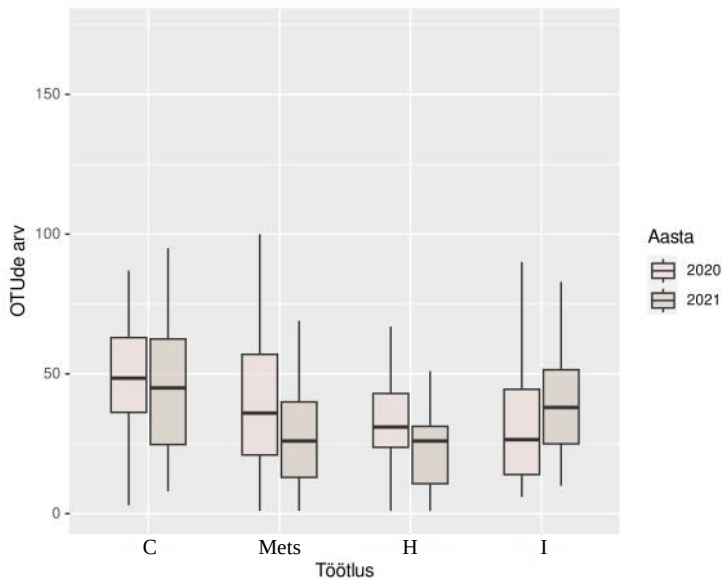
**Joonis 1.** OTUde hulk kaselehtedes aastate lõikes.

### 3.2.2. Harilik kuusk

Katsetöötlustel oli oluline mõju kuuse okastes leiduvate seente OTUde keskmisele hulgale ( $p=0,020$ ). Samuti oli OTUde hulgale avaldanud mõju proovi kogumise aasta ( $p=0,022$ ), 2020. aastal esines rohkem OTUsid kui 2021. aastal (joonis 2); kogumise kuu ja katsetöötluste mõju ( $p=0,004$ ); kogumise aasta ja katsetöötluste mõju ( $p=0,021$ ) ning kõigi kolme faktori koosmõju ( $p=0,003$ ).

2020. aastal võetud kuuseokaste proovides ei olnud töötluste mõju seente OTUde hulgale avaldunud juulis ( $p=0,065$ ) ega ka septembris ( $p=0,6$ ), samuti ei olnud oluline töötluste ja kogumise kuu koosmõju. Oluline oli kogumise kuu mõju ( $p=0,004$ ), septembris oli seente liikide hulk suurem kui juulis.

2021. aasta kuuseokaste proovides oli töötluste mõju oluline septembris ( $p=0,011$ ), kuid mitte juulis ( $p=0,33$ ). Septembris oli C aladelt võetud proovides oluliselt rohkem seeneliike kui metsaaladel ja H aladel. I aladel ei olnud teiste aladega erinevusi. 2021. aastal oli oluline nii kogumise kuu mõju ( $p=0,012$ ) kui töötluste ja kogumise kuu koosmõju ( $p=0,0001$ ). Kogumise kuu mõju avaldus C töötlustes, kus septembris oli seente OTUsid rohkem kui juulis.

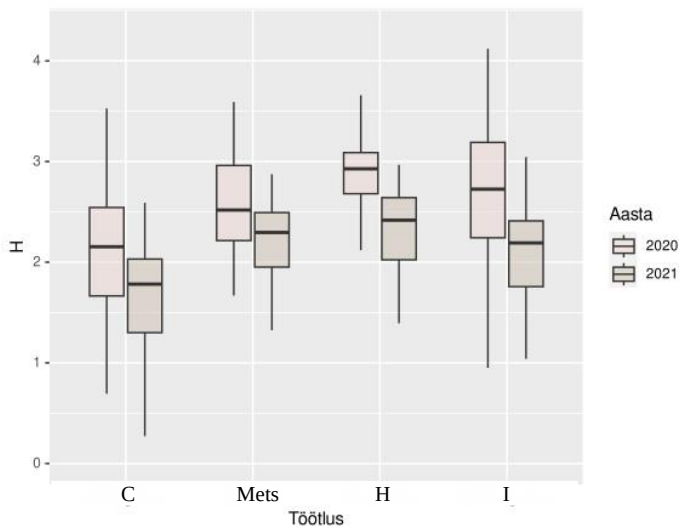


**Joonis 2.** OTUde hulk kuuseokastel aastate lõikes.

### 3.3. Shannoni mitmekesisus

#### 3.3.1. Arukask

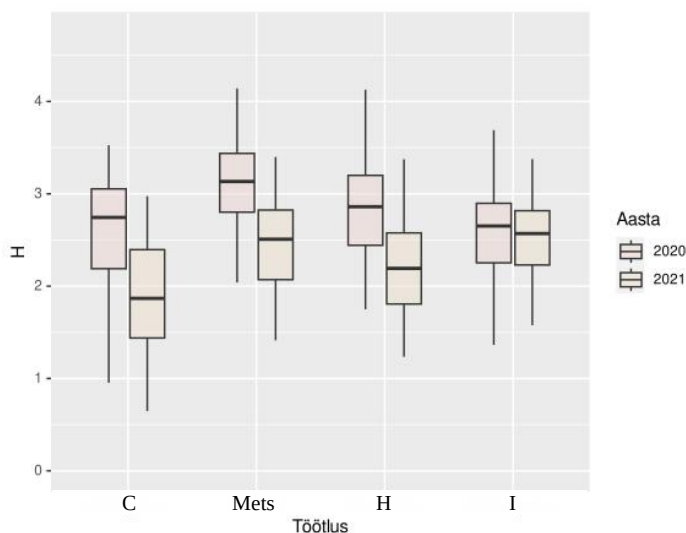
Shannoni mitmekesisusindeks kaselehtedes 2020. aastal oli mõjutatud töötluse ( $p=0,035$ ) ja proovi kogumise kuupäeva poolt ( $p<0,001$ );  $r^2=0,314$ . Juulis oli metsaaladel  $H'$  kõrgem kui H aladel, septembris oli I aladel  $H'$  oluliselt kõrgem kui H aladel. 2021. aastal avaldus töötluse mõju ( $p=0,005$ ), proovi kogumise kuu mõju ( $p=0,0008$ ) ning ka töötluse ja kogumise kuu koosmõju ( $p=0,028$ );  $r^2=0,318$ . Juulis oli H aladel madalam  $H'$  kui kõigil teistel aladel; septembris H aladel madalam kui metsaaladel, erinevused teiste katsetöötlustega kadusid. 2020. aastal oli  $H'=2,54$ , kõrgem kui 2021. aastal, kui  $H'=2,07$ , erinevus statistiliselt oluline ( $p<0,001$ ) (joonis 3).



**Joonis 3.** Shannoni mitmekesisusindeks kaselehtedel aastate lõikes

### 3.3.2. Harilik kuusk

Katsetöötlusel ei olnud statistiliselt olulist mõju kuuseokaste seenekoosluse Shannoni mitmekesisusindeksile ei 2020. aastal ( $p=0,46$ ), ega ka 2021. aastal ( $p=0,08$ ),  $r^2=0,24$ . Ei olnud ka erinevusi juulis ja septembris kogutud proovide vahel, 2020. aastal  $p=0,38$ ; 2021. aastal  $p=0,55$ . 2020. aastal oli  $H'=2,7$ , mis oli oluliselt suurem ( $p<0,0001$ ) kui 2021. aastal ( $H'=2,26$ ) (joonis 4).

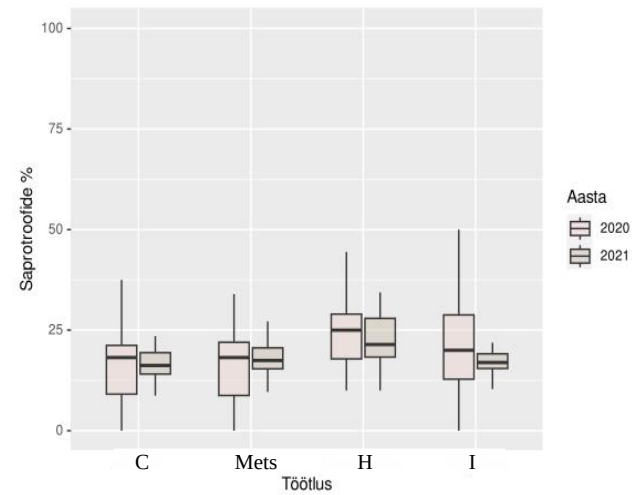
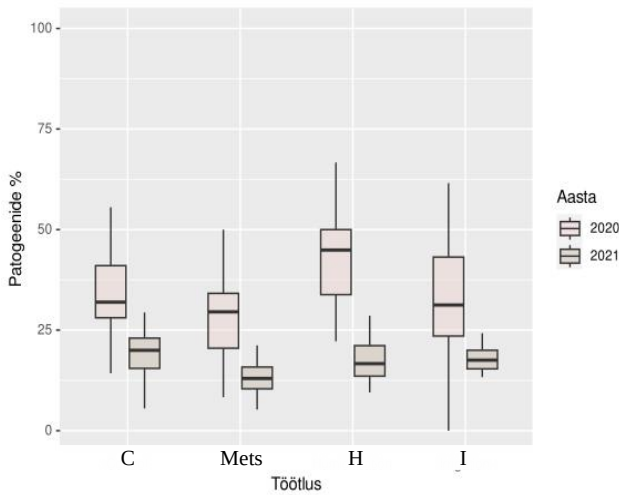


**Joonis 4.** Shannoni mitmekesisusindeks kuuseokastel aastate lõikes.

### 3.4. Töötluste mõju funktsionaalsete rühmade osakaaludele

#### 3.4.1. Arukask

Patogeensete seente osakaalule kaselehtede proovides oli oluline mõju katsetöötlusel ( $p<0,0001$ ), kogumise aastal ( $p<0,0001$ ) ja töötluste ning kogumise aasta koosmõjul ( $p<0,0001$ ), kuid mitte proovi kogumise kuul ( $p=0,13$ ). 2020. aastal oli H töötlustes patogeensete seente osakaal suurem kui kõigis teistes töötlustes. 2021. aastal ühegi töötluste mõju ei avaldunud (joonis 5) ning patogeensete seente osakaal oli väiksem kui 2020. aastal. Patogeensete seente Shannoni mitmekesisus oli 2020. aastal igas töötlustes suurem kui 2021. aastal ( $p<0,0001$ ). Metsas ja I aladel oli patogeensete seente  $H'$  kõrgem kui H aladel ( $p=0,005$ ) ning korjamise septembris oli  $H'$  kõrgem kui juulis ( $p<0,001$ ). Katsetöötlustel oli oluline mõju ( $p=0,023$ ) saprotroofsete seente osakaalule. H aladel oli saprotroofide osakaal suurem kui ülejäänud aladel (joonis 6). Septembris ei olnud saprotroofsete seente osakaal tõusnud võrreldes juuliga.

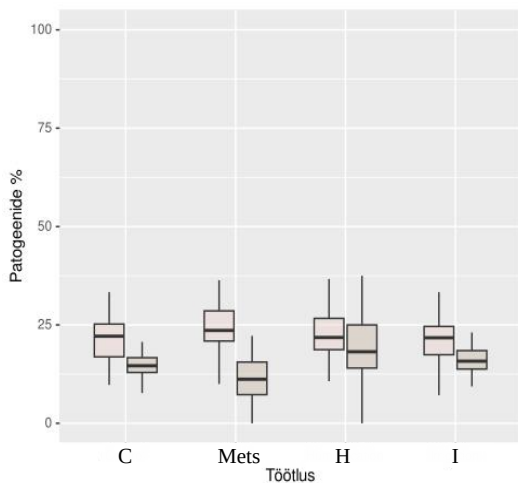


**Joonis 5.** Taimepatogeeneid osakaal kaselehtedel aastate lõikes **Joonis 6.** Saprootroofide osakaal kaselehtedel aastate lõikes

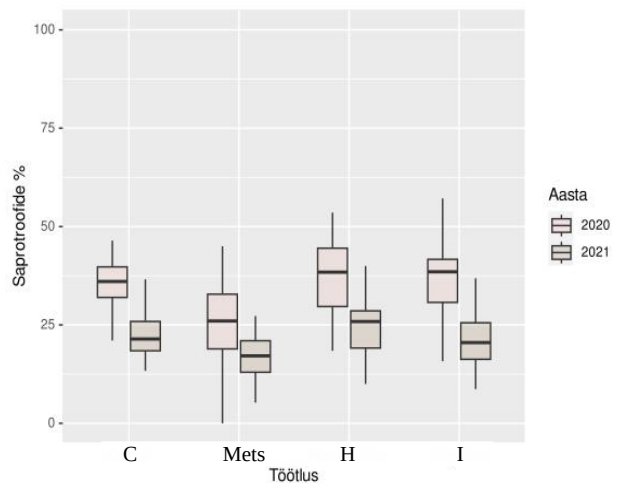
### 3.4.2. Harilik kuusk

Patogeensete liikide osakaalule kuuseokaste proovides oli oluline mõju katsetöötlusel ( $p=0,0024$ ), kogumise aastal ( $p<0,0001$ ) ja töötluse ning kogumise aasta koosmõjul ( $p=0,0021$ ), kuid mitte kogumise kuul ( $p=0,72$ ). 2020. aastal ei olnud töötluse mõju oluline. 2021. aastal erinesid üksteisest H töötlused ja metsaalad. Proovi kogumise aasta mõju esines metsaaladel, kus patogeensete seente osakaal oli 2021. aastal väiksem kui 2020. aastal. Ülejäänud katsealadel aastate-vahelisi erinevusi ei esinenud (Joonis 7). Patogeensete seente Shannoni mitmekesisus oli 2020. aastal kõigis töötlustes suurem kui 2021. aastal ( $p<0,0001$ ). Kontrollaladel oli patogeensete seente  $H'$  kõrgem kui H aladel ( $p=0,041$ ).

Töötluse mõju saprotroofsete seente keskmisele osakaalule kõigi seeneliikide hulgas kuuse okastes oli statistiliselt oluline ( $p=0,0002$ ), kuid avaldus ainult 2020. aasta proovides, 2021. aastal ei esinenud katsetöötluste vahel ühtegi erinevust (joonis 8). 2020. aastal oli I töötlustes saprotroofsete seente osakaal suurem kui metsaaladel. Töötluste siseselt ei esinenud ühtegi kogumise kuust tulenevat erinevust ühe töötluse sees.



**Joonis 7.** Taimepatogeenide osakaal kuuseokastes aastate lõikes



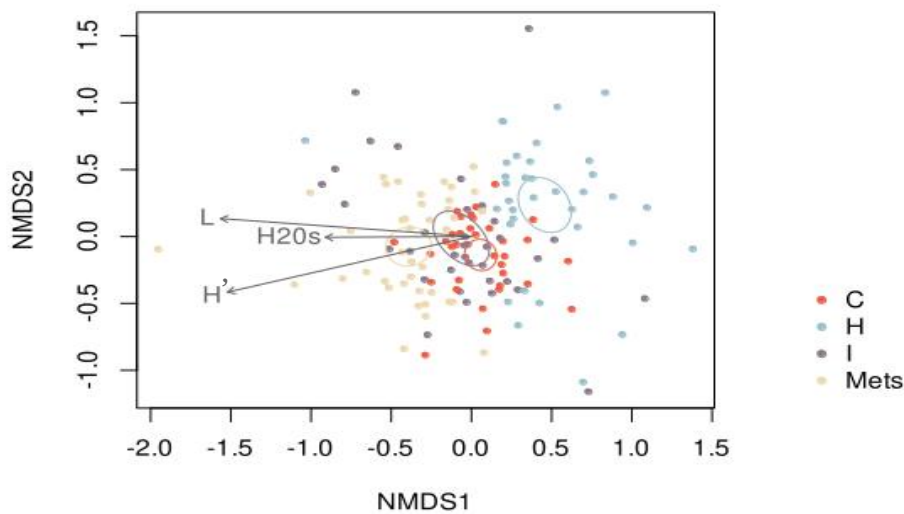
**Joonis 8.** Saprootroofide osakaal kuuseokastes aastate lõikes

### 3.5. NMDS analüüs

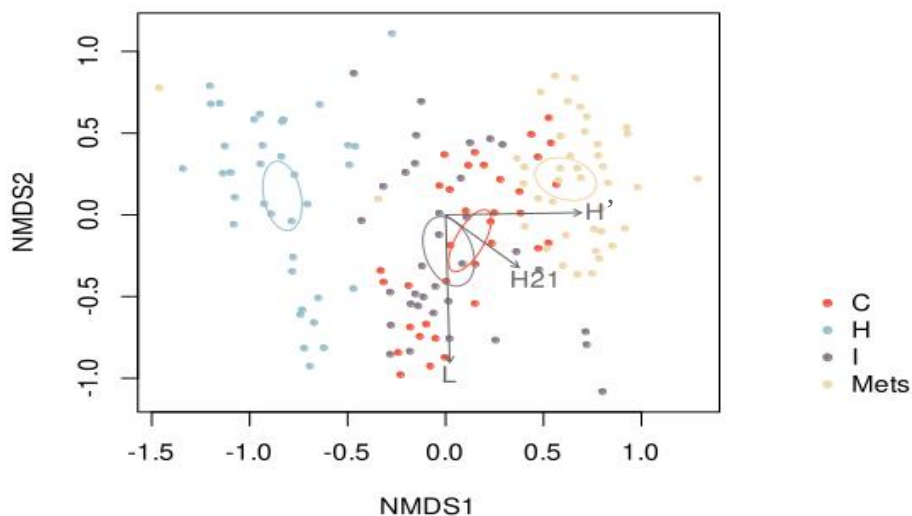
#### 3.5.1. Arukask

2020. aastal oli proovide liigiline koosseis mõjutatud katsetöötlaste poolt ( $p=0,001$ ). Kaselehtede liigiline koosseis oli korrelatsioonis H'ga ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,27$ ), OTUde hulgaga ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,27$ ) ja 2020. aasta sügisel mõõdetud puude kõrgustega ( $p=0,004$ ,  $r^2=0,09$ ) (joonis 9).

2021. aastal mõjutanus katsetöötlaste samuti lehtede liigilist koosseisu ( $p=0,001$ ). Avaldusid korrelatsioonid H'ga ( $p=0,002$ ,  $r^2=0,15$ ), OTUde Hulgaga ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,25$ ), 2021. sügisel mõõdetud puude kõrgustega ( $p=0,014$ ,  $r^2=0,08$ ), kuid mitte 2020. aastal mõõdetud puude kõrgustega ( $p=0,063$ ) (joonis 10). Metsaaladel puude kõrgusi kummalgi aastal ei mõõdetud.



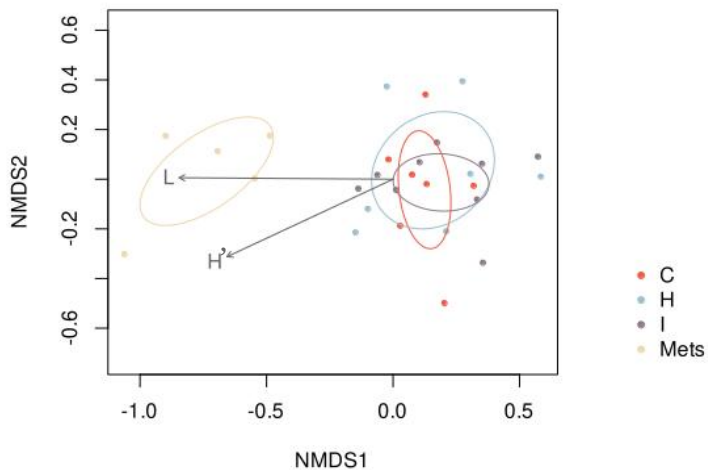
**Joonis 9.** 2020. aasta kaselehtede proovide NMDS analüüs. H' tähistab Shannoni mitmekesisusindeksit, L tähistab OTUde hulka, H20s tähistab 2020. sügisel mõõdetud puude kõrgusi. Stress=0,24.



**Joonis 10.** 2021. aasta kaselehtede proovide NMDS analüüs. H' tähistab Shannoni mitmekesisusindeksit, L tähistab OTUde hulka, H21 tähistab 2021. sügisel mõõdetud puude kõrgusi. Stress=0,2.

Juureproovide NMDS analüüsis esines korrelatsioon juurte seenekoosluse ja H' ( $p=0,03$ ,  $r^2=0,31$ ) ning OTUde hulga ( $p=0,02$ ,  $r^2=0,33$ ) vahel (joonis 11). Juurte mükobioomi koosseis erines FAHM katseala ja metsaala vahel, kuid FAHM katsetöötluste vahel erinevusi ei esinenud. Liigirikkuse

vektorid olid suunatud metsaalade proovide klasteri poole, metsaalade analüüsisist väljajätmisel korrelatsioon  $H'$  või OTUde hulga ja liigilise koosseisu vahel puudus. Korrelatsiooni puude kõrguste ja juureproovide liigilise koosseisu vahel ei esinenud.

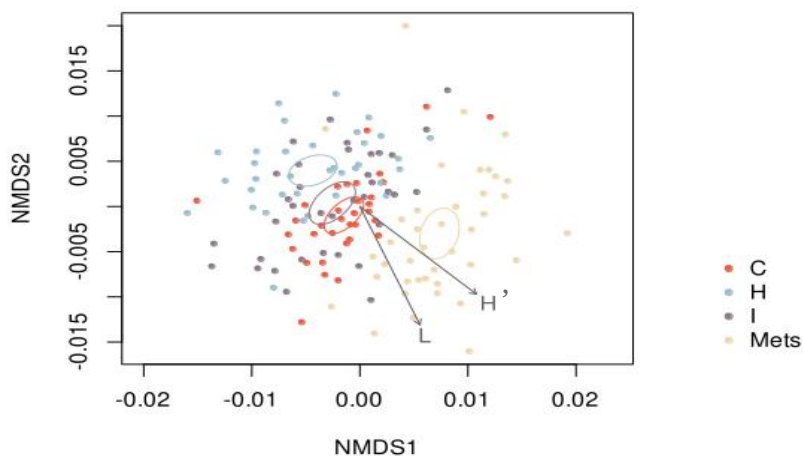


**Joonis 11.** 2021. aasta kasejuurte proovide NMDS analüüs.  $H'$  tähistab Shannoni mitmekesisusindeksit, L OTUde hulka. Stress=0,13

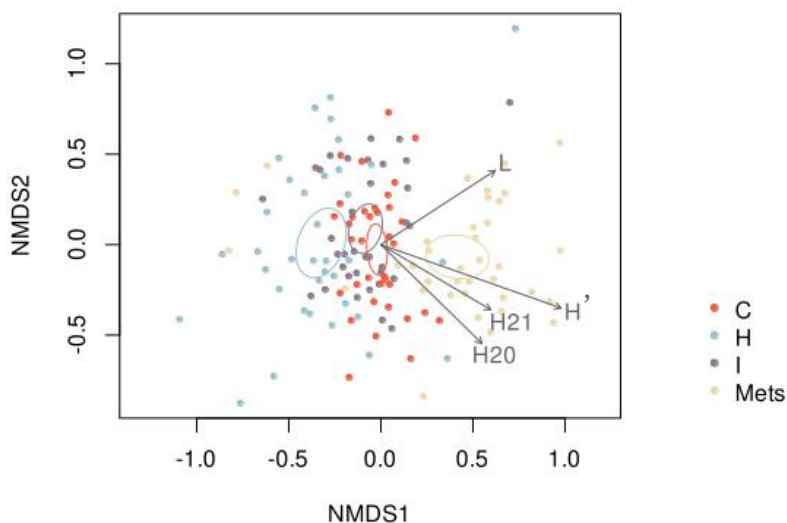
### 3.5.2. Harilik kuusk

2020. aasta proovide liigiline koosseis oli mõjutatud katsetöötuse poolt ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,11$ ) ning oli olemas korrelatsioon  $H'$ ga ( $p=0,002$ ,  $r^2=0,13$ ) ja OTUde hulgaga ( $p=0,002$ ,  $r^2=0,12$ ), kuid mitte puude mõõdetud kõrgustega istutamisel ( $p=0,22$ ) ega sügisel ( $p=0,12$ ) (joonis 12). 2021. aastal kogutud proovide koosseis oli mõjutatud töötuse poolt ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,09$ ), ning oli korrelatsioonis  $H'$ ga ( $p=0,001$ ,  $r^2=0,17$ ), OTUde hulgaga ( $p=0,007$ ,  $r^2=0,09$ ), 2020. aasta sügisel mõõdetud puude kõrgustega ( $p=0,002$ ,  $r^2=0,1$ ) ja 2021. aasta sügisel mõõdetud puude kõrgustega ( $p=0,008$ ,  $r^2=0,09$ ) (joonis 13). Metsaaladel puude kõrgusi kummalgi aastal ei mõõdetud.





**Joonis 12.** 2020. aasta okaste proovide NMDS analüüs. H' tähistab Shannoni mitmekesisusindeksit, L tähistab OTUde hulka. Stress = 0,28.



**Joonis 13.** 2021. aasta okaste proovide NMDS analüüs. H' tähistab Shannoni mitmekesisusindeksit, L tähistab OTUde hulka, H20 ja H21 tähistavad vastavalt 2020. ja 2021. aasta sügisel mõõdetud puude kõrgusi. Stress = 0,25.

### 3.6. Enamlevinud taksonid puude lehestikes

#### 3.6.1. Arukask

15 enamlevinut taksonit 2020. ja 2021. aastate leheproovides on loetletud vastavalt tabelites 2 ja 3. Taksonite nimede autorid on loetletud lisa 1. 2020. aasta kaselehtede proovides leidis kokku 715

OTU-t, millest 219 sekvensi leidis ainueksemplarina; 593 leidis vähem kui 10s korduses. 251 OTU-t esines vaid ühes proovis, 639 vähem kui kümnes proovis. 2021. aasta proovides leidis kokku 791 OTU-t, millest 91 olid ainueksemplarid, 541 OTU-t leidis vähem kui kümme korda. 279 OTU-t esines vaid ühes proovis, 637 vähem kui kümnes proovis. Kokku leidis DNA analüüs 2020. aasta kaselehtede proovides 8029 sekvensi (juulis 2717, septembris 5312); 2021. aastal 269283 sekvensi (juulis 50372, septembris 218911). 15 enamlevinut liiki moodustasid kõigist tuvastatud sekvensidest 2020. aasta juulis 48,78% ja septembris 58,83% ning 2021. aasta juulis 85,08% ja septembris 86,21%.

2021. aastal kõige suurema osakaaluga liik *Phyllactinia linderæ* oli väga haruldane 2021. aasta juuli proovides, kuid septembris moodustas ta üle veerandi kõigist tuvastatud sekvensidest, kusjuures ta esines ainult FAHM aladel, igas töötluses sarnase sagedusega, ja oli täiesti puudu metsaaladel. *P. linderæ* puudus 2020. aasta proovidest täielikult. Perekond *Phyllactinia* Lév. oli 2020. aastal esindatud vaid kahes proovis, liigiga *Phyllactinia guttata* (Wallr.) Lév., see liik oli ka 2021. aastal olemas vaid üksikutes proovides. *Phyllactinia* perekonna seened on taimepatogeenid, mis põhjustavad lehtedel jahukastet, nagu ka palju teised seltsi Erysiphales Warm. esindajad (Takamatsu jt, 2016).

Mõlemal aastal olid tugevasti esindatud liik *Venturia ditricha*, mida loetakse enamjaolt kahjutuks endofüüdiks, kes on vaid opportunistikult patogeenne või saprotroofne langenud lehel (Ahlholm jt, 2002), erinevad *Vishniacozyma* perekonna saprotroofsed esindajad ja klassi tasemeni määratud *Taphrinomyces* ehk luudikseente esindaja. *Heterocephalacria sp.* ja *Vishniacozyma heimaeyensis* olid levinud 2020. aastal, kuid 2021. aastal leidis neid vaid kahes proovis.

**Tabel 2.** 15 enamlevinud seent kase lehtede proovides aastal 2020. Liigid on järjestatud lähtudes nende osakaalust kahel kuul kogutud proovides. Kriips tähendab liigi puudumist 2021. aasta proovides.

| Takson                            | UNITE SH       | % juuli | % september | % 2021. aastal | Funktsionaalne rühm (Põlme jt, 2020) |
|-----------------------------------|----------------|---------|-------------|----------------|--------------------------------------|
| <i>Taphrinomyces sp.</i>          | SH1153444.08FU | 17,85   | 12,84       | 11,63          |                                      |
| <i>Venturia ditricha</i>          | SH1626892.08FU | 7,8     | 12,67       | 4,49           | taimepatogeen                        |
| <i>Fungi sp.</i>                  | SH2619613.08FU | 0,74    | 13,08       | 0,21           |                                      |
| <i>Heterocephalacria sp.</i>      | SH1562798.08FU | 6,7     | 6,63        | <0,01          | sambliku parasiit                    |
| <i>Taphrina americana</i>         | SH1519946.08FU | 3,39    | 2,52        | 0,02           | taimepatogeen                        |
| <i>Venturia tremulae</i>          | SH1626892.08FU | 1,14    | 2,13        | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Taphrina padi</i>              | SH1519937.08FU | 4,49    | 0,3         | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Alternaria sp.</i>             | SH1505864.08FU | 0,48    | 2,09        | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Bensingtonia sp.</i>           | SH1659558.08FU | 0,26    | 1,71        | -              | saprotoof                            |
| <i>Taphrina sp.</i>               | SH1519935.08FU | 1,4     | 0,81        | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Capnodiales sp.</i>            | SH1538522.08FU | 2,32    | 0,24        | -              |                                      |
| <i>Vishniacozyma heimaeyensis</i> | SH1528210.08FU | 0,11    | 1,28        | <0,01          | mullasaprotoof                       |
| <i>Vishniacozyma tephrensis</i>   | SH1528209.08FU | 0,96    | 0,77        | -              | mullasaprotoof                       |
| <i>Torula sp.</i>                 | SH1615601.08FU | 0,88    | 0,72        | -              | lehe endofüüt                        |
| <i>Phaeotremella sp.</i>          | SH1526033.08FU | 0,26    | 1,04        | -              | mükoparasiit                         |

**Tabel 3.** 15 enamlevinud seent kase lehtede proovides aastal 2021. Liigid on järjestatud lähtudes nende osakaalust kahel kuul kogutud proovides. Kriips tähendab liigi puudumist 2020. aasta proovides.

| Takson                          | UNITE SH       | % juuli | % september | % 2020 aastal | Funktsionaalne rühm (Põlme jt, 2020) |
|---------------------------------|----------------|---------|-------------|---------------|--------------------------------------|
| <i>Phyllactinia linderæ</i>     | SH1528126.08FU | 0,01    | 27,21       | -             | taimepatogeen                        |
| <i>Taphrinomyces sp.</i>        | SH1153444.08FU | 11,78   | 11,72       | 14,53         |                                      |
| <i>Hormonema carpetanum</i>     | SH1515066.08FU | 14,62   | 10,72       | <0,01         | saprotroof                           |
| <i>Aureobasidium pullulans</i>  | SH1515060.08FU | 14,81   | 5,01        | -             | saprotroof, hallitus                 |
| <i>Taphrina sp.</i>             | SH1519946.08FU | 11      | 5,26        | 0,3           | taimepatogeen                        |
| <i>Cladosporium sp.</i>         | SH1572792.08FU | 2,6     | 6,54        | <0,01         | varise saprotroof                    |
| <i>Venturia ditricha</i>        | SH1626892.08FU | 2,5     | 4,95        | 11            | taimepatogeen                        |
| <i>Fungi sp.</i>                | SH1168371.08FU | 8,99    | 3,02        | -             |                                      |
| <i>Fungi sp.</i>                | SH1519934.08FU | 10,8    | 1,89        | 0,01          |                                      |
| <i>Venturiaceae sp.</i>         | SH1519946.08FU | 2,03    | 2,24        | -             |                                      |
| <i>Vishniacozyma carnescens</i> | SH2619613.08FU | 0,5     | 2,18        | <0,01         | mullasaprotroof                      |
| <i>Leotiomyces sp.</i>          | SH1647657.08FU | 1,13    | 1,82        | -             |                                      |
| <i>Fungi sp.</i>                | SH1519948.08FU | 3,44    | 1,06        | -             |                                      |
| <i>Fungi sp.</i>                | SH1626936.08FU | 0       | 1,59        | -             |                                      |
| <i>Fungi sp.</i>                | SH1519946.08FU | 0,87    | 1           | -             |                                      |

15 enamlevinud seeneliiki 2021. aasta kasejuurte proovides on loetletud tabelis 4. Taksonite nimede autorid on loetletud lisas 1. Kogutud juureproovides esines kokku 100 seeneliiki. Neist 16 esinesid ainueksplarina ja 67 vähem kui kümnes korduses. Kokku leidis DNA analüüs juureproovides 3814 sekventsi. 15 enamlevinut liiki moodustasid neist 85,17%.

**Tabel 4.** 15 enamlevinud seent kase peenjuurte proovides aastal 2021.

| Takson                        | Eesti keeles   | UNITE SH       | Osakaal, % | Funktsionaalne rühm<br>(Põlme jt, 2020) |
|-------------------------------|----------------|----------------|------------|---|
| <i>Laccaria sp.</i>           | rupik          | SH1553093.08FU | 27,66      | ektomükoriisne                          |
| <i>Cadophora sp.</i>          | -              | SH1545862.08FU | 11,9       | saprotroof                              |
| <i>Phialocephala sp.</i>      | -              | SH1647282.08FU | 9,59       | saprotroof                              |
| <i>Ilyonectria sp.</i>        | -              | SH1546325.08FU | 8,96       | taimepatogeen                           |
| <i>Coprinellus micaeus</i>    | pk. pisitindik | SH1508477.08FU | 3,96       | saprotroof                              |
| <i>Trichoderma sp.</i>        | -              | SH1568107.08FU | 3,53       | mükoparasiit                            |
| <i>Pezoloma sp.</i>           | -              | SH1509533.08FU | 3,14       | juure endofüüt                          |
| <i>Neonectria lugdunensis</i> | -              | SH1546324.08FU | 2,92       | taimepatogeen                           |
| <i>Phialocephala sp.</i>      | -              | SH1545864.08FU | 2,84       | saprotroof                              |
| <i>Tuber sp.</i>              | trühvel        | SH1567064.08FU | 2,28       | ektomükoriisne                          |
| <i>Hebeloma sp.</i>           | hebel          | SH1951392.08FU | 2          | ektomükoriisne                          |
| <i>Fusarium sp.</i>           | -              | SH1546323.08FU | 1,93       | taimepatogeen                           |
| <i>Hebeloma sacchariolens</i> | karamellhebel  | SH1563824.08FU | 1,75       | ektomükoriisne                          |
| <i>Russula claroflava</i>     | kollane pilvik | SH1538871.08FU | 1,37       | ektomükoriisne                          |
| <i>Mycena sp.</i>             | mütsik         | SH1170710.08FU | 1,34       | saprotroof                              |

### 3.6.2. Harilik kuusk

15 enamlevinut taksonit 2020. ja 2021. aastate leheproovides on loetletud vastavalt tabelites 5 ja 6. Taksonite nimede autorid on loetletud lisas 1. 2020. aasta proovides leidis kokku 1097 OTU-t, millest 116 sekventsi esines ainueksplarina; 734 sekventsi esines vähem kui 10s korduses. 288 sekventsi esines vaid ühes proovis; 939 vähem kui kümnes proovis. 2021. aasta proovides 925 OTU-t, millest 42 olid ainueksplarid; 399 vähem kui 10s korduses. 417 sekventsi esines vaid ühes proovis, 805 vähem kui kümnes proovis. Kokku leidis DNA analüüs 2020. aastal kuuseokastes 28907 sekventsi (juulis 10847 ja septembris 18060); 2021. aastal 265444 sekventsi (juulis 87436 ja septembris 178008). 15 enamlevinut liiki moodustasid 2020. aasta juulis 25,93% ja septembris 30,07% kõigist tuvastatud sekventsist, 2021. aastal juulis 49,58% ja septembris 66,8%.

2020. aastal enamlevinud seeneliikidest olid kõik 12, mis said liigini määratud, 2021. aasta proovidest kas kadunud või esinesid vaid mõnes üksikus proovis. 2020. aastal kõige enamlevinud seen *Cyphellophora sessilis* oli 2021. aastal olemas vaid ühes proovis. Perekonna tasemeni määratud *Dissoconium sp.* oli taandunud kõige vähem, ta moodustas 2021. juulis 1,59% kõigist sekventsist ja septembris 0,2%.

2021. aastal olid juuli enamlevinud seente järjestused, perekonna tasemeni määratud *Cladosporium sp.*, riigi tasemeni määratud kaks seene sekvenssi ning *Laccaria laccata*, septembriks oluliselt vähem esindatud. Vastupidiselt, septembri kolm enamlevinud seent, *Sarocladium sp.*, *Alternaria destruens* ja *Paraleptosphaeria macrospora* moodustasid juulis kõik alla 1% sekventsist.

**Tabel 5.** 15 enamlevinud seent kuuse okaste proovides aastal 2020. Liigid on järjestatud lähtudes nende osakaalust kahel kuul kogutud proovides. Kriips tähendab liigi puudumist 2021. aasta proovides.

| Takson                                 | UNITE SH       | % juuli | % september | % 2021. aastal | Funktsionaalne rühm (Põlme jt, 2020) |
|--|----------------|---------|-------------|----------------|--------------------------------------|
| <i>Cyphellophora sessilis</i>          | SH1636083.08FU | 4,95    | 2,56        | <0,01          | varise saprotroof                    |
| <i>Alternaria alternata</i>            | SH1526398.08FU | 3,38    | 3,08        | <0,01          | taimepatogeen                        |
| <i>Microsphaeropsis spartii-juncei</i> | SH1547057.08FU | 6,32    | 0,47        | -              | patogeen                             |
| <i>Microcyclospora tardicrescens</i>   | SH1564167.08FU | 1,3     | 3,2         | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Tricladium terrestre</i>            | SH1522978.08FU | 2,28    | 2,52        | -              | varise saprotroof                    |
| <i>Trybliopsis pinastri</i>            | SH1505244.08FU | 0,7     | 2,84        | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Bacidia chlorotricula</i>           | SH1156534.08FU | 0,49    | 2,58        | <0,01          | samblik                              |
| <i>Vishniacozyma heimaeyensis</i>      | SH1528210.08FU | 0,58    | 2,21        | <0,01          | mullasaprotroof                      |
| <i>Lophiostoma corticola</i>           | SH1560568.08FU | 0,79    | 1,82        | -              | puidusaprotroof                      |
| <i>Helotiales sp.</i>                  | SH1523008.08FU | 0,15    | 2,16        | -              |                                      |
| <i>Dissoconium sp.</i>                 | SH1552276.08FU | 1,98    | 0,96        | 0,66           | varise saprotroof                    |
| <i>Vishniacozyma foliicola</i>         | SH1528211.08FU | 0,06    | 2,06        | -              | mullasaprotroof                      |
| <i>Fungi sp.</i>                       | SH2744618.08FU | 0,12    | 1,89        | 0,03           |                                      |
| <i>Alternaria rosae</i>                | SH1505864.08FU | 2,83    | 0,07        | -              | taimepatogeen                        |
| <i>Penicillium glaucoalbidium</i>      | SH1528299.08FU | 0       | 1,65        | <0,01          | saprotroof                           |

**Tabel 6.** 15 enamlevinud seent kuuse okaste proovides aastal 2021. Liigid on järjestatud lähtudes nende osakaalust kahel kuul kogutud proovides. Kriips tähendab liigi puudumist 2020. aasta proovides.

| Takson                                  | UNITE SH       | % juuli | % september | % 2020. | Funktsionaalne rühm<br>aastal (Põlme jt, 2020) |
|---|----------------|---------|-------------|---------|--|
| <i>Sarocladium sp.</i>                  | SH1541921.08FU | 0,85    | 17,5        | 0,03    | taimepatogeen                                  |
| <i>Alternaria destruens</i>             | SH1526648.08FU | 0,08    | 15,66       | -       | taimepatogeen                                  |
| <i>Cladosporium sp.</i>                 | SH1572792.08FU | 12,39   | 4,39        | -       | varise saprotroof                              |
| <i>Paraleptosphaeria<br/>macrospora</i> | SH1091780.09FU | 0,24    | 9,15        | -       | puidu saprotroof                               |
| <i>Plectosphaerella humicola</i>        | SH1572792.08FU | 3,66    | 6,26        | -       | taimepatogeen/<br>saprotroof                   |
| <i>Vishniacozyma victoriae</i>          | SH1078110.09FU | 0,36    | 3,94        | -       |  |
| <i>Fungi sp.</i>                        | SH1519936.08FU | 6,41    | 0,46        | -       |  |
| <i>Aureobasidium pullulans</i>          | SH1515060.08FU | 3,93    | 1,61        | 0,01    | hallitus/ saprotroof                           |
| <i>Periconia cookei</i>                 | SH1577627.08FU | 3,25    | 1,52        | -       | patogeen/endofüüt                              |
| <i>Fungi sp.</i>                        | SH1519934.08FU | 5,26    | 0,33        | <0,01   |  |
| <i>Ceramothyrium<br/>carniolicum</i>    | SH1552276.08FU | 3,19    | 1,28        | <0,01   | varise saprotroof                              |
| <i>Fungi sp.</i>                        | SH1564167.08FU | 0,61    | 2,46        | -       |  |
| <i>Laccaria laccata</i>                 | SH1574527.08FU | 4,59    | 0,17        | -       | ektomükoriisne                                 |
| <i>Ramularia citricola</i>              | SH1631613.08FU | 3,76    | 0,37        | 0,1     | taimepatogeen                                  |
| <i>Fungi sp.</i>                        | SH1546323.08FU | 1       | 1,7         | -       |  |

### 3.7. Indikaatorliikide analüüs

#### 3.7.1. Arukask

Kaselehtedes oli 2020. aastal kokku 19 indikaator-OTUt, neist 6 olid indikaatoriteks metsaaladel, 2 tervel FAHM katsealal ja 11 erinevates FAHM tööstlustes. 2021. aastal oli indikaatorliike 12, neist kaks olid indikaatoriteks metsaaladel, 7 FAHM katsealal ja 3 H tööstluses. Indikaatorliikide analüüsi sai 2020. aastal kaasatud 111 OTU-t ja 2021. aastal 59 OTU-t.

**Tabel 7.** Kaselehtedes teatud töötlust iseloomustavate indikaator-OTUde hulk funktsionaalsete rühmade kaupa.

| Töötlus        | C    |      | H    |      | I    |      | Mets |      | FAHM |      |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 |
| Aasta          | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 |
| Taimepatogeene | 0    | 0    | 1    | 0    | 1    | 0    | 1    | 0    | 0    | 3    |
| Saprotroofe    | 0    | 0    | 1    | 1    | 2    | 0    | 2    | 1    | 1    | 2    |
| Määramata/muud | 2    | 0    | 1    | 2    | 1    | 0    | 2    | 1    | 1    | 2    |
| Epi-/endofüüte | 0    | 0    | 1    | 0    | 1    | 0    | 1    | 0    | 0    | 0    |
| Kokku          | 2    | 0    | 4    | 3    | 5    | 0    | 6    | 2    | 2    | 7    |

Kasejuurte indikaatorliikide analüüsi said kaasatud 38 enamlevinud OTUt 101-st, mis 2021. aasta juurteproovides esinesid. Metsaaladega olid seotud 4 OTU-t: ektomükoriissed *Cenococcum sp.* Moug. & Fr. ja *Thelephora terrestris* Ehrh. ex Fr., saprotroofne *Phialocephala sp.*, ja juure endofüüt *Pezoloma sp.* I töötlusega olid seotud ektomükoriisne *Hebeloma sp.* ja taimepatogeen *Ilyonectria sp.* Ektomükoriisne *Laccaria sp.* ja saprotroofne *Cadophora sp.* olid seotud korruga C ja I aladega. Ülejäänud katsetöötlustega või terve FAHM katsealaga seotud liike ei olnud.

### 3.7.2. Harilik kuusk

Kuuseokastes oli 2020. aastal kokku 27 indikaator-OTUt, neist 10 metsaaladel, 9 tervel FAHM katsealal ja 5 C töötluses. 2021. aastal oli indikaatorliike 17, neist 6 metsaaladel, 8 tervel FAHM katsealal ja 3 erinevates töötlustes. Indikaatorliikide analüüsi sai 2020. aastal kaasatud 111 OTU-t ja 2021. aastal 59 OTU-t.

**Tabel 8.** Kuuseokastes teatud töötlust iseloomustavate indikaator-OTUde hulk funktsionaalsete rühmade kaupa.

| Töötlus        | C    |      | H    |      | I    |      | Mets |      | FAHM |      |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 |
| Aasta          | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 | 2020 | 2021 |
| Taimepatogeene | 1    | 0    | 1    | 0    | 0    | 0    | 3    | 0    | 2    | 2    |
| Saprotroofe    | 2    | 0    | 1    | 1    | 0    | 0    | 2    | 1    | 4    | 2    |
| Määramata/muud | 1    | 2    | 0    | 0    | 0    | 0    | 3    | 5    | 3    | 4    |
| Epi-/endofüüte | 1    | 0    | 1    | 0    | 0    | 0    | 2    | 0    | 0    | 0    |
| Kokku          | 5    | 2    | 3    | 1    | 0    | 0    | 10   | 6    | 9    | 8    |

2020. aastal oli nii kuuseokastes kui kaselehtedes metsaaladega seotud taimepatogeen *Taphrina inositophila* (Á. Fonseca, J. Inácio & M.G. Rodrigues) Yurkov & Buzzini, endofüüt *Ballistosporomyces sasicola* (Nakase & M. Suzuki) F.Y. Bai, Q.M. Wang, M. Groenew. &



Boekhout, saprotroofne *Cyphellophora* perekonna esindaja ja üks määramata *Capnodiales* seltsi esindaja; H töötusega oli seotud epifüütne *Symmetrospora coprosomae* (Hamam. & Nakase) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout. 2021. aastal oli mõlemal puuliigil H aladega seotud *Cryptococcus* sp. Vuill. esindaja; kogu FAHM katsealaga olid seotud saprotroofsed *Paraleptosphaeria macrospora* ja *Aureobasidium pullulans*, taimepatogeen *Leptosphaeria avenaria* G.F. Weber ning üks liigini määramata *Pezizomycotina* O.E. Erikss. & Winka klassi esindaja.

## 4. Arutelu

### 4.1. Katsetöötluste mõju kaselehtede ja kuuseokaste seenekooslustele

Nii kuuseokaste kui kaselehtede seenekoosluste NMDS analüüs näitas, et metsaaladel kasvavate puude lehtede ja okaste kooslused erinesid selgesti FAHM katseala analoogsetest seenekooslustest. Ka FAHM katsetöötlustel oli mõju puude lehestikus elavate seente koosseisule ja mitmekesisusele. C ja I töötluste proovide liigilised koosseisud olid üksteisega sarnased, kuid erinesid H töötlustest võetud proovidest. C ja I töötlustest võetud proovid olid liigiliselt koosseisult metsaaladega märgatavalt sarnasemad kui H töötluste lehtede mükobioomid. Shannoni mitmekesisusindeksid ja OTUde hulk olid alati korrelatsioonis NMDS analüüsi teljeväärtustega ja vastavad vektorid olid suunatud metsaalade poole, välja arvatud ühel juhul 2021. aasta kaselehtede proovis, kus OTUde hulga vektor oli suunatud C ja I töötluste poole (joonis 10). Mulla kastmine I töötlustes ei mõjutanud oluliselt puulehtede mükobioomi võrreldes kontrolltöötlustega, samas kui suurenenud õhuniiskus muutis selgelt mükobioomi liigilist koosseisu ja vähendas ka selle mitmekesisust. Keskkonnast tingitud stressi tingimustes seente mitmekesisus väheneb (Würth jt, 2019) ning ebatavaliselt kõrge õhuniiskus võib füllospääri seente jaoks olla stressoriks. Stressiilminguid on täheldatud ka H töötluste puude kasvus ja funktsioneerimises. Tõenäoliselt olid H töötluste liigilised koosseisud kujundatud selliste liikide poolt, kes suudavad ebatavaliselt tõusnud õhuniiskuse tingimustes substraati kiiremini asustada. Metsaalade ökosüsteem on ajalooliselt olnud stabiilsem ning vaatamata hiljutistele raietele meie uuringus kasutatud aladel on sealne mükobioom ilmselt sarnane ümbritsevate täiskasvanud jänesekapsa kuuse-kase segametsadega. FAHM ala katseringide ümber kasvab hübriidhaab, mis tõenäoliselt mõjutab katseringide puude seenekooslusi. Mõnevõrra peaksid erinema ka FAHM ja metsaalade mikrokliimaatilised ja keskkonnatingimused, mis samuti mõjutavad mükobioomi koosseisu (Würth jt, 2019). Teatud erinevusi seenekooslustes võib tingida ka FAHM katseala kasvukohtade mõningane eraldatud metsadest, mida võib käsitleda kui kasvukoha fragmenteerumist, mida osad liigid ei ole veel suutnud ületada (Helander jt, 2007). Seda, kas seenekoosluste koosseisud muutused tõusnud õhuniiskuse tingimustes on püsivad või suudavad muutunud tingimustega adapteeruda, ei ole kahe aasta andmete põhjal veel võimalik järeldada.

Shannoni mitmekesisusindeks ( $H'$ ) oli mõlemal puuliigil 2021. aastal madalam kui 2020. aastal. OTUde koguarv proovides oli kase 2021. aastal suurenenud ja kuusel vähenes vaid vähesel määral. Katsetöötlustes olid  $H'$ d mõjutanud vaid kaselehtede puhul. H töötlustes olid nii OTUde arv kui  $H'$  alati madalaimad, kuid iga kord ei esinenud statistiliselt olulist erinevust teiste katsetöötlustega. Madalamat seente liigirikkust kõrgema sademete hulga juures on varem näidatud kuuse (Marčiulynas jt, 2022) ja ka männi okastes (Marčiulynienė jt, 2022). Kontrolltöötlustes ei olnud  $H'$

ega OTUde arv kordagi oluliselt madalamad kui metsaaladel või mõnes muus töötuses, arvatavasti põllumullal ei ole mõju seenekoosluste liigirikkusele ega mitmekesisusele, nagu näitavad seda ka Lutter jt (2023).

#### 4.2. Enamlevinud liigid proovides ja patogeenide osakaal

Enamlevinud seeneliigid proovides olid kahel vaatlusaastal üpris erinevad. Enamus seeni, mis olid 2020. aasta proovides 15 arvukama hulgas, olid 2021. aasta proovides üpris haruldased või puudusid täielikult, mõne erandiga. Katsealal praegu kasvavad puud istutati 2020. aasta kevadel (istutati 2- aastased kased ja 3-aastased kuused) ning teatud osa mükobioomist, mis oli neil kaasas RMK Räpina taimlast toomisel, ilmselt asendus teiste seentega, mis FAHM katsealal juba esinesid. Ei olnud püsivad ka indikaatorliigid. Meile ei ole küll teada, kas vanemates kuuseokastes oli seenekoosluste liigiline koosseis sarnane sellega, mis neis 2020. aastal oli.

Kaselehtedes enamlevinud seente hulgast olid FAHM katseala indikaatorliikideks 2020. aastal *Vishniacozyma tephrensensis* ja 2021. aastal patogeenne *Phyllactinia linderiae*, mis on võimalik jahukaste tekitaja (Takamatsu jt, 2016) ja saprotroofne *Aureobasidium pullulans*. Metsaaladele indikaatoriks oli 2020. aastal seltsi tasemeni määratud *Capnodiales* sp. esindaja; 2021. aastal üks riigi tasemeni määratud seen ja saprotroofne *Vishniacozyma carnescens*. H aladele oli 2020. aastal indikaatoriks *V. heimayensis* ning kaks riigi tasemeni määratud seen. Kasejuurte proovides olid metsaalade indikaatoriteks *Phialocephala* ja *Pezoloma* perekondade esindajad. FAHM katseala I töötuse indikaatoriteks olid perekonnani määratud ektomükoriisne *Hebeloma* sp. ja patogeenne (Manici jt, 2018) *Ilyonectria* sp. Kuuseokastes olid FAHM katsealale iseloomulikeks indikaatorliikideks 2020. aastal saprotroofne *Cyphellophora sessilis* ja taimepatogeen *Alternaria alternata* ja 2021. aastal *Sarocladium* perekonna esindaja ja saprotroofne *Paraleptosphaeria macrospora*. Metsaalade indikaatoriteks olid 2021. aastal kaks riigi tasemeni määratud OTUt.

Töötuste mõju patogeensete OTUde osakaaludele oli suhteliselt väike ning esines kaselehtedes 2020. aastal ja kuuseokastes ainult 2021. aastal. Mõju olemasolu korral oli patogeenide osakaal kõrgeim H töötuses. Patogeensete OTUde osakaal kaselehtedes oli 2021. aastal igas töötuses tugevalt langenud võrreldes 2020. aastaga. Kuuseokastes oli patogeensete OTUde osakaalu langus statistiliselt oluline ainult metsaaladel. Sissejuhatuses (peatükk 1.7.) mainitud patogeensete seente hulgast oli meie proovides laialdaselt esindatud *Taphrina* perekonna seened. Kõige arvukamad *Taphrina* esindajad enamasti määratud perekonna tasemeni. Tõenäoliselt võisid need olla lehehaigusi tekitavate liikide esindajad. Liigini määratud esindajate seas esines kaselistega ja ka haavaga seotuid liike. Ükski *Taphrina* perekonda paigutatud OTU ei saanud määratud kui *Taphrina*

*betulina*. Enamlevinud patogeenide hulgas kasel olid *Venturia ditricha* ja *Phyllactinia linderiae*, mis tekitavad haiguslikke laike tõenäoliselt juba vananevatel lehtedel kasvuperioodi lõpupoole, olles enne kasvuperioodi lõppu kahjutud endofüüdid (Ahlholm jt, 2002).

Kuuseokastes olid patogeenidest enamlevinud *Alternaria* liigid, mis põhjustavad paljudel taimedel lehelaiksust (Xu jt, 2023) ja tõenäoliselt ei tekita kuuskedele suuremat kahju (Asiegbu ja Kovalchuk, 2021; Marčiulynas jt, 2022) ja *Tryblidiopsis pinastri*, mis on kas nõrgalt patogeenne või isegi kahjutu endofüüt, mis on võimeline surnud puitu lagundama (Livsey ja Minter, 1994). *T. pinastri*-t peetakse Põhja-Euroopas hariliku kuuse okstel ja okstel sagedaseks (Asiegbu ja Kovalchuk, 2021). Seene väga sagedane esinemine taimedes on üldjuhul märk seene madalast virulentsusest (Sieber, 2007).

Sissejuhatuses kirjeldatud patogeensetest seentest esines juurepess *Heterobasidion annosum* 2020. aasta proovides mõnes üksikus okka- ja leheproovis, nii metsas kui FAHM katsealadel, kuid oli puudu 2021. aasta proovidest. Külmasseen *Armillaria* leidis mõlemal aastal ühes proovis, H töötluses 2020. aastal ja C töötluses 2021. aastal. Tuletaelik *Phellinus ignarius* esines ühes kuuseokka proovis 2021. aastal; tuletael esines mõlemal aastal ühes kaselehe proovis.

Endofüütsetel ja patogeensete seente mõju puistute tervisele on vaieldamatu (Witzell ja Martín, 2018). Meie läbi viidud uuring ei andnud oodatavaid tulemusi kliimamuutuste võimalikust mõjust kaskede ja kuuskede tervisele läbi nende mükobioomi koosseisu muutuste. Leidsime, et suurendatud õhuniiskuse tingimustes on puudel veidi suurem patogeensete seeneliikide osakaal, kuid ei saanud järeldada, et puude tervis selle mõjul halveneks. Kogutud proovides oli väga vähe selliseid patogeene, mis vaadeldud puid ohustaksid ja nende jaotumine oli juhuslik. Et teada saada, kuidas tkliimamuutused võiksid mõjutada virulentsemate patogeenide tekitatud kahjusid tuleks korraldada konkreetsele seenele keskenduvald uuringuid.

#### **4.3. Katsetöötluste mõju kase peenjuurte seenekooslustele**

Viimastel kümnenditel on suurenenud endistel põllumaadel kasvavate metsade pindala (Lutter jt, 2023). Me otsisime erinevusi vanade metsamaade ja endisele põllumaale rajatud katseala seenekooslustes, püüdes samuti leida niisutustöötluste võimalikku mõju katseala mükobioomile. Oletasime, et FAHM katsealal on seente mitmekesisus ja liigirikkus oluliselt madalamad kui metsaaladel, kusjuures eeldasime, et nad võiksid olla madalaimad H või I töötlustes. Vastupidiselt ootustele, ei tuvastanud segamudel uuritavaid katsetöötluste vahelisi erinevusi OTUde keskmises hulgas, Shannoni mitmekesisusindeksis ega ka seente funktsionaalsete rühmade osakaaludes. NMDS analüüs (joonis 11) näitas, et FAHM katseala ja metsaala juurte mükobioomi liigiline

koosseis on oluliselt erinev. Erinevusi katsetöötluste mükobioomide vahel me ei leidnud, kuigi varem on näidatud, et õhu- ja mullaniiskus mõjutavad teatud määral mulla seenekooslusi (Lourenço jt, 2020). Indikaatorliikide analüüs näitas siiski teatud erinevusi katsetöötluste vahel. Analüüsis esines kaks OTUt, mis olid seotud I töötusega ja kaks, mis olid seotud C ja I töötustega. Need indikaatorliigid olid ka täiesti puudu metsast kaevatud juurte proovidest ning vastupidi, metsaalale iseloomulikud 4 OTUt olid täiesti puudu FAHM katsealalt. FAHM katseala ja metsa juurte seenekoosluste erinevused tulenevad tõenäoliselt asjaolust, et FAHM katseala on rajatud endisele põllumaale ning seal kasvavad puud on pärit RMK Rāpina taimlast, kust nende juurtega tulid teatud seeneliigid kaasa. Katsealale istutati metsapuud esimest korda umbes 15 aastat tagasi ning arvatavasti on sealsed maa-alused seenekooslused nn „üleminekufaasis” (Lutter jt, 2023). Põllumuldadele iseloomulikud seenekooslused arvatavasti muutuvad aegamööda sarnasemaks metsamuldadele iseloomulike kooslustega; ei ole küll teada, kui kaua selline üleminek aega võtab (Lutter jt, 2023). Ei ole samuti teada, millised on taimlast kaasa tulnud seenekooslused ja kui suur osa sealt tulnud liikidest katsealal kasvades püsima jäi. Põllu- ja metsamuldade mükobioomide erinevusi on näidatud ka teistes uuringutes (Tedersoo jt, 2020; Klavina jt, 2022); samuti on leitud mulla toitainete (fosfor, lämmastik) ja orgaanilise aine sisaldusest erinevusi seenekoosluste koosseisus ja mitmekesisuses (Parrent jt, 2006).

Seente liigirikkuse ja Shannoni mitmekesisuse suurenemine metsamaade suunas (joonis 11) võib viidata sellele, et mullas ja juurtes olevad seenekooslused on vanematel metsamaadel mitmekesisemad kui endistel põllumaadel kasvavates metsades (Hannula jt, 2017, Tedersoo jt, 2020; Klavina jt, 2022), isegi kui need metsad kasvavad sarnase näivleetunud mulla peal. Samas, Lutter jt (2023) ei leidnud erinevusi 20-aastastes kasemetsades kasvavate seenekoosluste liigirikkuses ja mitmekesisuses vanade metsade ja põllumuldade vahel. Samuti on leitud juurtes kasvavate seente positiivset korrelatsiooni puistu vanusega nii kuuse (Marčiulynas jt, 2022) kui männi juurtes (Marčiulynienė jt, 2022) ning metsaaladel olid puud paar aastat vanemad kui FAHM katsealal. Meile ole teada, kuidas seenekooslusi võiks mõjutada nii regulaarne noore metsa raiumine, nagu seda FAHM katsealal tehtud on, kas selle mõju võiks sarnaneda harvendustega või on mitme järjestikuse raiumise negatiivne mõju seenekoosluse mitmekesisusele sarnane ühekordse lageraiega (Tedersoo jt, 2020). Juureproovide võtmise hetkeks olid katseala puud seal kasvanud kaks kasvuhooaega. Asjaolu, et segamudel ei näidanud erinevusi FAHM töötluste ja metsaala vahel võib olla tingitud ka juureproovide vähesest hulgast. Mulla mükobioomi koosseis võib häiringute korral väga kiiresti muutuda (Lourenço jt, 2020), kuid pikaajaline kastmine, mis mullaniiskust

mõõdukalt tõstab ei pruugi mullaseente kooslusi muuta; meie katses jäid juurtel kasvavate seente kooslused pigem stabiilseks.

Nendest seente liikidest, mis vastavalt indikaatorliikide analüüsile, olid seotud metsaalaga, ükski ei esinenud FAHM katsealal. Sarnaselt ka liigid, mis olid seotud ühe (I) või kahe (C ja D) katsetöötusega esinesid kõigil FAHM aladel (H töötlustes küll oluliselt harvem), kuid ei esinenud kordagi metsaalal. Tõenäoliselt ka kordusuuringud lähiaastatel ei leia olulisi muutusi metsa ja FAHM alade erinevustes, sest mullaseened tõenäoliselt ei suudaks mõne aastaga katsealale või sealt välja levida. Pikema aja jooksul peaks FAHM katseala seenekooslustesse ilmuma rohkem põlise metsa kooslustele iseloomulikke liike (Lutter jt, 2023), samas põllule iseloomulikud mulla omadused võivad endisel põllumaal kasvavas metsas säilida aastakümneid (Falkengren-Grerup jt, 2006), mistõttu võivad säilida ka osa põllumullale iseloomulikke liike. Meile ei ole ka teada, kas lage ala FAHM katseala ja metsaala vahel võib tekitada juureseente jaoks elupaiga killustumist ja takistada nende levimist (Helander jt, 2007)

## **Kokkuvõte**

Arukask ja harilik kuusk on ühed enamlevinud puuliigid Eestis ja Põhja-Euroopas ning on kasvukohaks väga paljudele mikroskoopsetele seentele. Ennustatavate kliimamuutuste tagajärjeks on aasta keskmise sademete hulga tõus ja õhuniiskuse tõus, mis eelmisega kaasneb. Need kliimamuutused avaldavad teatud mõju lehestikus ja juurestikus kasvavatele seentele. Magistritöö käigus koguti FAHM katsealalt ja lähedal asuvatelt metsamaadelt kaselehtede ja -juurte ning kuuseokaste proovid, et välja selgitada nende seenekoosluste koosseisud ning õhuniisutuse ja mulla kastmise mõjud nendele kooslustele. Proovide DNA sekveneeriti tänapäevaste kõrge läbilaskevõimega sekveneerimismeetoditega ja jaotati seejärel taksonoomilisteks ühikuteks ning teostati saadud andmete statistiline analüüs. Vastupidiselt ootustele olid FAHM katseala puude seenekooslused sama liigirikkad ja mitmekesised kui metsaalade puudel; kuid mõnikord esines siiski erinevusi katsetöötluste vahel. Liigirikkus ja mitmekesisus olid kaselehtedes sageli madalaimad suurendatud õhuniiskuse töötluses; juurtes ja kuuseokastes sellist mõju ei esinenud. Proovide liigilises koosseisus esines alati erinevusi metsaalade ja FAHM katseala vahel. Samuti eristus suurendatud õhuniiskuse tingimustes kaselehtedes ja kuuseokastes elavate seente liigiline koosseis. Seega võib tulevikus tõusev õhuniiskus mõjutada puude lehestikes kasvavaid seenekooslusi. Veel ei ole võimalik teha järeldusi selliste muutuste mõjust puude tervislikule seisundile ega ka sellest, kas seenekooslustes leitud muutused on püsivad või suudavad nendes kooslustes esinevad seened suureneva õhuniiskusega kohaneda.

## **Summary**

Silver birch and norway spruce are some of the most widespread tree species in Estonia and Northern Europe and facilitate many microscopic fungi. The predicted climate changes will bring forth an increase in the average yearly precipitation and relative air humidity. These changes will influence fungi that grow in the leaves, needles or the roots. During the master's thesis we collected silver birch leaves and roots and norway spruce needles from the Free Air Humidity Manipulation experiment (FAHM) and nearby forests to investigate their mycobiomes and the effects of increased air humidity and soil irrigation on those mycobiomes. The DNA of the samples was sequenced using modern high-throughput sequencing methods, clustered into taxonomic units and statistically analysed. Contrary to our expectations we found the mycobiomes of the trees in the FAHM experiment to be as species-rich and diverse as the mycobiomes growing on forestland; however, sometimes there were differences between treatments. Species richness and diversity in birch leaves were often found to be lowest in increased air humidity treatment; in roots and spruce needles there were no such pronounced effects. The species composition of the samples was always different between FAHM and forest areas. The species composition of leaves and needles in increased air humidity treatment differed from control treatment. The predicted increase in air humidity may have an effect on the fungal communities of the phyllosphere of forest trees. It is not yet possible to make any conclusions on what kind of effects these changes may have on the forest health; it is also impossible to say whether the found changes in fungal communities will be permanent or the fungi currently present in these communities will be able to adapt to increasing air humidity.



## **Tänuavaldused**

Täna Arvo Tullust ja Ahto Aganit asjaliku ja põhjaliku juhendamise eest ja abi eest töö valmimisel. Samuti tänan Katrin Rosenvaldi abi eest juureproovide pesemisel ja peenjuurte eraldamisel.

Käesolevas magistritöös teostatud uuringuid toetasid Eesti Teadusagentuur (rühmagrant PRG1434) ja Keskkonnaministeerium (projektid 4-1/21/23 ja 4-1/22/40).

## Kasutatud kirjandus

1. Agan, A., Drenkhan, R., Adamson, K., Tedersoo, L., Solheim, H., Børja, I., Matsiakh, I., Timmermann, V., Nagy, N.E. ja Hietala, A.M. 2020. The relationship between fungal diversity and invasibility of a foliar niche—the case of ash dieback. *Journal of Fungi* 6 (3): 150. <https://doi.org/10.3390/jof6030150>.
2. Ahto, A., Solheim, H., Adamson, K., Hietala, A.M., Tedersoo, L. ja Drenkhan, R. 2021. Seasonal dynamics of fungi associated with healthy and diseased *Pinus sylvestris* needles in Northern Europe. *Microorganisms* 9 (8): 1757. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081757>.
3. Ahlholm, J.U., Helander, M., Henriksson, J., Metzler, M. ja Saikkonen, K. 2002. Environmental Conditions And Host Genotype Direct Genetic Diversity Of *Venturia Ditricha*, A Fungal Endophyte Of Birch Trees. *Evolution* 56 (8): 1566–73. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01468.x>.
4. Anger-Kraavi, A., Pärt, E., Raudsaar, M., Nikopensius, M., Kraavi, K.E., Duggan, J., Sanz, M.J. 2021. Mets ja kliimamuutused. Raport. Keskkonnaministeerium, Tallinn.
5. Anslan, S., Bahram, M., Hiiesalu, I. ja Tedersoo, L. 2017. PipeCraft: flexible open-source toolkit for bioinformatics analysis of custom high-throughput amplicon sequencing data. *Molecular Ecology Resources* 17 (6): e234–40. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12692>.
6. Asi, E. 2021. Metsamullast kasvukohatüübini. Keskkonaagentuur, Tallinn. ISBN 978-9985-881-96-5.
7. Asiegbu, F.O., Adomas, A. ja Stenlid, J. 2005. Conifer root and butt rot caused by *heterobasidion annosum* (fr.) Bref. s.l. *Molecular Plant Pathology* 6 (4): 395–409. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00295.x>.
8. Asiegbu, F.O. ja Kovalchuk, A. 2021. An introduction to forest biome and associated microorganisms. In *Forest Microbiology*, 3–16. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822542-4.00009-7>.
9. Axelsson, K., Zendegi-Shiraz, A., Swedjemark, G., Borg-Karlson, A.K., Zhao, T. ja Hietala, A.M. 2020. Chemical defence responses of norway spruce to two fungal pathogens. *Forest Pathology* 50 (6). <https://doi.org/10.1111/efp.12640>.
10. Baldrian, P., Větrovský, T., Lepinay, C. ja Kohout, P. 2022. High-throughput sequencing view on the magnitude of global fungal diversity. *Fungal Diversity* 114 (1): 539–47. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00472-y>.
11. Bartoń K (2023). MuMIn: multi-model inference. R package version 1.47.5. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
12. Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
13. Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., De Wit, P., jt. 2013. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. Edited by Michael Bunce. *Methods in Ecology and Evolution*, July, 4: 914-919. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12073>.

14. Bennell, A.P. ja Millar, C.S. 1984. Fungal pathogens of birch in Britain. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences* 85 (1–2): 153–67. <https://doi.org/10.1017/S0269727000003961>.
15. Busby, P.E., Newcombe, G., Neat, A.S. ja Averill, C. 2022. Facilitating reforestation through the plant microbiome: perspectives from the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 60 (1): 337–56. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021320-010717>.
16. Christensen, O.B., Kjellström, E., Dieterich, C., Gröger, M. ja Meier, H.E.M. 2022. Atmospheric regional climate predictions for the Baltic Sea region until 2100. *Earth Syst. Dynam.*, 13, 133–157. <https://doi.org/10.5194/esd-13-133-2022>.
17. De Caceres, M., Legendre, P. 2009. Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology*. <http://sites.google.com/site/miqueldecaceres/>
18. Drenkhan, R., Solheim, H., Bogacheva, A., Riit, T., Adamson, K., Drenkhan, T., Maaten, T. ja Hietala, A.M. 2017. *Hymenoscyphus fraxineus* is a leaf pathogen of local *Fraxinus* species in the Russian Far East. *Plant Pathology* 66 (3): 490–500. <https://doi.org/10.1111/ppa.12588>.
19. Drenkhan, R., Adamson, K. 2020. Musta pässiku (*Inonotus obliquus*) analüüs. Kokkuvõttev aruanne. Eesti Maaülikool, Tartu.
20. Dubois, H., Verkasalo, E. ja Claessens, H. 2020. Potential of birch (*Betula pendula* roth and *B. pubescens* ehrh.) for forestry and forest-based industry sector within the changing climatic and socio-economic context of Western Europe. *Forests* 11 (3): 336. <https://doi.org/10.3390/f11030336>.
21. Duru, K.C., Kovaleva, E.G., Danilova, I.G. ja Bijl, P. 2019. The pharmacological potential and possible molecular mechanisms of action of *Inonotus obliquus* from preclinical studies. *Phytotherapy Research* 33 (8): 1966–80. <https://doi.org/10.1002/ptr.6384>.
22. Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C. ja Knight, R. 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27 (16): 2194–2200. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr381>.
23. Falkengren-Grerup, U., Brink, D.J.T., ja Brunet, J. 2006. Land use effects on soil N, P, C and pH persist over 40–80 years of forest growth on agricultural soils. *Forest Ecology and Management* 225 (1–3): 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.12.027>.
24. IPCC, 2022. Pörtner, H.O., Roberts, D.C., Tignor, M., Poloczanska, E.S., Mintenbeck, K., Alegría, A., Craig, M., Langsdorf, S., Löschke, S., Möller, V., Okem, A., Rama, B. *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* Cambridge University Press. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 pp., <https://doi.org/10.1017/9781009325844>.
25. Gauthier, S., Bernier, P., Kuuluvainen, T., Shvidenko A.Z. ja Schepaschenko D.G. 2015. Boreal forest health and global change. *Science* 349 (6250): 819–22. <https://doi.org/10.1126/science.aaa9092>.
26. Hannula, S.E., Morriën, E., de Hollander, M., van der Putten, W.H., van Veen, J.A. ja de Boer, W. 2017. Shifts in rhizosphere fungal community during secondary succession following abandonment from agriculture. *The ISME Journal* 11 (10): 2294–2304. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.90>.

27. Hanso, S., ja Hanso, M. 1999. Juurepessu levimisest Eesti metsades. Metsanduslikud uurimused XXXI, 162–172. ISSN 1406-9954.
28. Hawksworth, D.L. ja Lücking, R. 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 smllion species. Edited by Joseph Heitman and Timothy Y. James. Microbiology Spectrum 5 (4): 5.4.10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016>.
29. Helander, M., Ahlholm, J., Sieber, T.N., Hinneri, S. ja Saikkonen, K. 2007. Fragmented environment affects birch leaf endophytes. New Phytologist 175 (3): 547–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02110.x>.
30. Hietala, A.M., Agan, A., Nagy, N.E., Børja, I., Timmermann, V., Drenkhan, R. ja Solheim, H. 2022. The native *Hymenoscyphus albidus* and the invasive *Hymenoscyphus fraxineus* are similar in their necrotrophic growth phase in ash leaves. Frontiers in Microbiology 13 (May): 892051. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.892051>.
31. Holuša, J., Lubojacký, J., Čurn, V., Tonka, T., Lukášová, K. ja Horák, J. 2018. Combined effects of drought stress and *Armillaria* infection on tree mortality in norway spruce plantations. Forest Ecology and Management 427 (November): 434–45. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.01.031>.
32. Kaitera, J., Tillman-Sutela, E., Kauppi, A. 2010. *Chrysomyxa ledi*, a new rust fungus sporulating in cone scales of *Picea abies* in Finland. Scandinavian Journal of Forest Research, 25:3, 202-207. <https://doi.org/10.1080/02827581.2010.488657>
33. Kalamees, K., Hanso, M., Järva, L., Jürisson, I., Karis, H., Kask, K., Kastanje, V., Kullmann, B., Leenurm, K., Liiv, V., Lõiveke, H., Noor, H., Normet, T., Parmasto, E., Pöldmaa, K., Raitviir, A., Ramst, U., Ruubas, I., Sarv, J., Soobik, P., Suija, A., Sõmermaa, A.L., Vaasma, M., Vahter, H., Veldre, S., Öpik, M., Johanson, M., Štšukin, G., Kübarsepp, I. 2000. Eesti seenestik. Eesti Põllumajandusülikool. ISBN 9985-9081-9-8.
34. Kjellström, E., Nikulin, G., Strandberg, G., Christensen, O.B. jacob, D., Keuler, K., Lenderink, G., jt. 2018. European climate change at global mean temperature increases of 1.5 and 2 °C above pre-industrial conditions as simulated by the EURO-CORDEX regional climate models. Earth System Dynamics 9 (2): 459–78. <https://doi.org/10.5194/esd-9-459-2018>.
35. Klavina, D., Tedersoo, L., Agan, A., Adamson, K., Biteniaks, K., Gaitnieks, T. ja Drenkhan, R. 2022. Soil fungal communities in young norway spruce-dominant stands: footprints of former land use and selective thinning. European Journal of Forest Research 141 (3): 503–16. <https://doi.org/10.1007/s10342-022-01454-8>.
36. Kõljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F.S., Bahram, M., Bates, S.T., jt. 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. Molecular Ecology 22 (21): 5271–77. <https://doi.org/10.1111/mec.12481>.
37. Kovalchuk, A., Mukrimin, M., Zeng, Z., Raffaello, T., Liu, L., Kasanen, R., Sun, H. ja Asiegbu, F.O. 2018. Mycobiome analysis of asymptomatic and symptomatic norway spruce trees naturally infected by the conifer pathogens *Heterobasidion* spp.: mycobiome of norway spruce. Environmental Microbiology Reports 10 (5): 532–41. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12654>.

38. Kurkela, T. 1974. *Godronia multispora* Groves (*Helotiales*) and its pathogenicity to *Betula verrucosa* Ehr. and *B. pubescens* Ehr. *Karstenia* 14: 33–45. <https://doi.org/10.29203/ka.1974.88>.
39. La Porta, N., Capretti, P., Thomsen, I.M., Kasanen, R., Hietala, A.M. ja Von Weissenberg, K. 2008. Forest pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. *Canadian Journal of Plant Pathology* 30 (2): 177–95. <https://doi.org/10.1080/07060661.2008.10540534>.
40. Lindquist, E.J., D’Annunzio, R., Gerrand, A., MacDicken, K., Achard, F., Beuchle, R., Brink, A., Eva, H.D., Mayaux, P., San-Miguel-Ayanz, J. ja Stibig, H.J. 2012. Global forest land-use change 1990–2005, FAO Forestry Paper No. 169. Food and Agriculture Organization of the United Nations and European Commission Joint Research Centre. Rome, FAO
41. Livsey, S. ja Minter, D.W. 1994. The taxonomy and biology of *Tryblidiopsis pinastri*. *Canadian Journal of Botany* 72 (5): 549–57. <https://doi.org/10.1139/b94-073>.
42. Lourenço, K.S., Suleiman, A.K.A., Pijl, A., Cantarella, H. ja Kuramae, E.E. 2020. Dynamics and resilience of soil mycobiome under multiple organic and inorganic pulse disturbances. *Science of The Total Environment* 733 (September): 139173. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139173>.
43. Lutter, R., Riit, T., Rähn, E., Tullus, A., Sopp, R., Ots, K., Kaivapalu, M., Täll, K., Tullus, T., Tedersoo, L., Drenkhan, R. ja Tullus, H. 2023. Soil fungal diversity of birch plantations on former agricultural land resembles naturally regenerated birch stands on agricultural and forest land. *Forest Ecology and Management* [ilmumas].
44. Manici, L.M., Kelderer, M., Caputo, F., Saccà, M.L., Nicoletti, F., Topp, A.R., ja Mazzola, M. 2018. Involvement of *Dactylonectria* and *Ilyonectria Spp.* in tree decline affecting multi-generation apple orchards. *Plant and Soil* 425 (1–2): 217–30. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3571-3>.
45. Marčiulynas, A., Marčiulynienė, D., Mishcherikova, V., Franić, I., Lynikienė, J., Gedminas, A. ja Menkis, A. 2022. High variability of fungal communities associated with the functional tissues and rhizosphere soil of *Picea abies* in the southern baltics. *Forests* 13 (7): 1103. <https://doi.org/10.3390/f13071103>.
46. Marčiulynienė, D., Marčiulynas, A., Mischerikova, V., Lynikienė, J., Gedminas, A., Franic, I., Menkis, A. 2022. Principal drivers of fungal communities associated with needles, shoots, roots and adjacent soil of *Pinus sylvestris*. *J.Fungi* 8, 1112. <https://doi.org/10.3390/jof8101112>
47. Mattila, U. ja Nuutinen, T. 2007. Assessing the incidence of butt rot in norway spruce in southern Finland. *Silva Fennica* 41 (1). <https://doi.org/10.14214/sf.473>.
48. Miina, J., Peltola, R., Veteli, P., Linnakoski, R., Escribano, M.C., Haveri-Heikkilä, J., Mattila, P., jt. 2021. Inoculation success of *Inonotus obliquus* in living birch (*Betula spp.*). *Forest Ecology and Management* 492 (July): 119244. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119244>.
49. Müller, M.M., Sievänen, R., Beuker, E., Meesenburg, H., Kuuskeri, J., Hamberg, L. ja Korhonen, K. 2014. Predicting the activity of *Heterobasidion parviporum* on norway spruce

- in warming climate from its respiration rate at different temperatures. Edited by R. N. Sturrock. *Forest Pathology* 44 (4): 325–36. <https://doi.org/10.1111/efp.12104>.
50. Naranjo-Ortiz, M.A. ja Gabaldón, T. 2019. Fungal evolution: major ecological adaptations and evolutionary transitions. *Biological Reviews* 94 (4): 1443–76. <https://doi.org/10.1111/brv.12510>.
  51. Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M., Lahti, L., McGlenn, D., Ouellette, M., Ribeiro Cunha, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C., Weedon, J. 2022. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.6-4, <https://cran.r-project.org/package=vegan>.
  52. Paal, J. 1997. Eesti taimkatte kasvukohatüüpide klassifikatsioon. Keskkonnaministeeriumi Info- ja Tehnokeskus, Tallinn. ISBN 9985-9072-8-0.
  53. Parrent, J.L., Morris, W.F. ja Vilgalys, R. 2006. CO<sub>2</sub> -enrichment and nutrient availability alter ectomycorrhizal fungal communities. *Ecology* 87 (9): 2278–87. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[2278:CANAAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[2278:CANAAE]2.0.CO;2).
  54. Põlme, S., Abarenkov, K., Nilsson, R.H., Lindahl, B.D., Engelbrecht Clemmensen, K., Kauserud, H., Nguyen, N., jt. 2020. Fungaltraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity* 105 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>.
  55. R Core Team. 2023. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
  56. Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., jt. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (23): 7537–41. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>.
  57. Schmidt, O. ja Czeschlik, D. 2006. *Wood and Tree Fungi: Biology, Damage, Protection, and Use*. Berlin: Springer. ISBN-13 978-3-540-32138-5.
  58. Schwarze, F.W.M.R., Engels, J. ja Mattheck, C. 2000. *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. ISBN 978-3-642-63133-7. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-57302-6>.
  59. Sellin, A., Alber, M., Keinänen, M., Kupper, P., Lihavainen, J., Lõhmus, K., Oksanen, E., Söber, A., Söber, J., Tullus, A. 2017. Growth of northern deciduous trees under increasing atmospheric humidity: possible mechanisms behind the growth retardation. *Reg Environ Change* 17, 2135–2148. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1042-z>
  60. Shade, A., ja Handelsman, J. 2012. Beyond the venn diagram: the hunt for a core microbiome: the hunt for a core microbiome. *Environmental Microbiology* 14 (1): 4–12. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02585.x>.
  61. Sieber, T.N. 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? *Fungal Biology Reviews* 21 (2–3): 75–89. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.004>.

62. Silva, H.De, Green, S. ja Woodward, S. 2008. Incidence and severity of dieback in birch plantings associated with *Anisogramma virgultorum* and *Marssonina betulae* in Scotland. *Plant Pathology* 57 (2): 272–79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01740.x>.
63. Suzuki, S.U. ja Sasaki, A. 2019. Ecological and evolutionary stabilities of biotrophism, necrotrophism, and saprotrophism. *The American Naturalist* 194 (1): 90–103. <https://doi.org/10.1086/703485>.
64. Swedjemark, G., ja Stenlid, J. 1993. Population dynamics of the root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos* 66 (2): 247. <https://doi.org/10.2307/3544811>.
65. Takamatsu, S., Siahaan, S.A.S., Moreno-Rico, O., Cabrera de Álvarez, M.G. ja Braun, U. 2016. Early evolution of endoparasitic group in powdery mildews: molecular phylogeny suggests missing link between *Phyllactinia* and *Leveillula*. *Mycologia* 108 (5): 837–50. <https://doi.org/10.3852/16-010>.
66. Tedersoo, L. ja Anslan, S. 2019. Towards pacbio-based pan-eukaryote metabarcoding using full-length ITS sequences. *Environmental Microbiology Reports* 11 (5): 659–68. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12776>.
67. Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Drenkhan, R., Pritsch, K., Buegger, F., Padari, A., jt. 2020. Regional-scale in-depth analysis of soil fungal diversity reveals strong pH and plant species effects in Northern Europe. *Frontiers in Microbiology* 11 (September): 1953. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01953>.
68. Tedersoo, L., Bahram, M., Pöhlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Villarreal Ruiz, L., jt. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346 (6213): 1256688. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>.
69. Tomao, A., Bonet, J.A., Castaño, C. ja de-Miguel, S. 2020. How does forest management affect fungal diversity and community composition? Current knowledge and future perspectives for the conservation of forest fungi. *Forest Ecology and Management* 457 (February): 117678. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117678>.
70. Trishkin, M., Lopatin, E. ja Gavrilova, O. 2016. The potential impact of climate change and forest management practices on *Heterobasidion spp.* infection distribution in northwestern Russia - a case study in the republic of Karelia. *Journal of Forest Science* 62 (11): 529–36. <https://doi.org/10.17221/90/2016-JFS>.
71. Valgepea, M., Sirkas, F., Timmusk, T., Pärt, E., Suursild, E., Matson, T., Maamets, L., Raudsaar, M., Tetlov, E., Apuhtin, V., Veeroja, R., Tamm, U., Laigu, R., Lindoja, M., Pere, J. 2023. Aastaraamat Mets 2021. Keskkonnaagentuur, Tallinn. ISSN: 2382-7068.
72. Vasiliauskas, R., Larsson, E., Larsson, K.H., ja Stenlid, J. 2005. Persistence and long-term impact of rotstop biological control agent on mycodiversity in *Picea abies* stumps. *Biological Control* 32 (2): 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.10.008>.
73. Vautard, R., Gobiet, A., Sobolowski, S., Kjellström, E., Stegehuis, A., Watkiss, P., Mendlik, T., jt. 2014. The european climate under a 2°C global warming. *Environmental Research Letters* 9 (3): 034006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/9/3/034006>.
74. Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.

75. Witzell, J., ja Martín, J.A. 2018. Endophytes and forest health. In *Endophytes of Forest Trees*, 86:261–82. Forestry Sciences. Cham: Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-89833-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-89833-9_12).
76. Würth, D.G., Dahl, M.B., Trouillier, M., Wilmking, M., Unterseher, M., Scholler, M., Sørensen, S., Mortensen, M. ja Schnittler, M. 2019. The needle mycobiome of *Picea glauca* – a dynamic system reflecting surrounding environment and tree phenological traits. *Fungal Ecology* 41 (October): 177–86. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.05.006>.
77. Xu, C., Zhang, J., Zhou, J., Zheng, Y., Huang, W., Qin, D., Huo, J., ja Li, Y. 2023. Identification, characterization and chemical management of *Alternaria alternata* causing blackcurrant leaf spot in China. *Journal of Applied Microbiology* 134 (3): lxad025. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad025>.



**Lisa 1. Peatükis 3.6. nimetatud taksonid ja nende autorite nimed.**

| Takson                             | Taksoni nime autor(id)   |
|------------------------------------|--|
| <i>Taphrinomyces sp.</i>           | O.E. Erikss. & Winka   |
| <i>Venturia ditricha</i>           | (Fr.) P. Karst.  |
| <i>Fungi sp.</i>                   | R.T. Moore   |
| <i>Heterocephalacria sp.</i>       | Berthier   |
| <i>Taphrina americana</i>          | Mix  |
| <i>Venturia tremulae</i>           | Aderh.   |
| <i>Taphrina padi</i>               | (Jacz.) Mix  |
| <i>Alternaria sp.</i>              | Nees   |
| <i>Bensingtonia sp.</i>            | Ingold   |
| <i>Taphrina sp.</i>                | Fr.  |
| <i>Capnodiales sp.</i>             | Woron.   |
| <i>Vishniacozyma heimaeyensis</i>  | Vishniac ex Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout         |
| <i>Vishniacozyma tephrensensis</i> | Vishniac ex Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout         |
| <i>Torula sp.</i>                  | Pers.  |
| <i>Phaeotremella sp.</i>           | Rea  |
| <i>Phyllactinia linderiae</i>      | Y.N. Yu & S.J. Han   |
| <i>Hormonema carpetanum</i>        | Bills, Peláez & Ruibal   |
| <i>Aureobasidium pullulans</i>     | (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud                                    |
| <i>Cladosporium sp.</i>            | Link   |
| <i>Venturiaceae sp.</i>            | E. Müll. & Arx ex M.E. Barr  |
| <i>Vishniacozyma carnescens</i>    | (Verona & Luchetti) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout |
| <i>Leotiomyces sp.</i>             | O.E. Erikss. & Winka   |
| <i>Laccaria sp.</i>                | Berk. & Broome   |
| <i>Cadophora sp.</i>               | Lagerb. & Melin  |
| <i>Phialocephala sp.</i>           | W.B. Kendr.  |
| <i>Ilyonectria sp.</i>             | P. Chaverri & Salgado  |
| <i>Coprinellus micaeus</i>         | (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson                           |
| <i>Trichoderma sp.</i>             | Pers.  |
| <i>Pezoloma sp.</i>                | Clem.  |
| <i>Neonectria lugdunensis</i>      | (Sacc. & Therry) L. Lombard & Crous                                |

|  |  |
|--|--|
| <i>Tuber</i> sp.                       | P. Micheli   |
| <i>Hebeloma</i> sp.                    | (Fr.) P. Kumm.   |
| <i>Fusarium</i> sp.                    | Link   |
| <i>Hebeloma sacchariolens</i>          | Quél.  |
| <i>Russula claroflava</i>              | Grove  |
| <i>Mycena</i> sp.                      | (Pers.) Roussel  |
| <i>Cyphellophora sessilis</i>          | (de Hoog) Réblová & Unter.   |
| <i>Alternaria alternata</i>            | (Fr.) Keissl.  |
| <i>Microsphaeropsis spartii-juncei</i> | Wanas., Camporesi, E.B.G. Jones & K.D. Hyde  |
| <i>Microcyclospora tardicrescens</i>   | J. Frank, Schroers & Crous   |
| <i>Tricladium terrestre</i>            | D. Park  |
| <i>Tryblidiopsis pinastri</i>          | (Pers.) P. Karst.  |
| <i>Bacidia chlorotricula</i>           | (Nyl.) A.L. Sm.  |
| <i>Lophiostoma corticola</i>           | (Fuckel) E.C.Y. Liew, Aptroot & K.D. Hyde  |
| <i>Helotiales</i> sp.                  | Nannf.   |
| <i>Dissoconium</i> sp.                 | de Hoog, Oorschot & Hijwegen   |
| <i>Vishniacozyma foliicola</i>         | Q.M. Wang & F.Y. Bai ex Yurkov   |
| <i>Alternaria rosae</i>                | E.G. Simmons & C.F. Hill   |
| <i>Penicillium glaucoalbidium</i>      | (Desm.) Houbraken & Samson   |
| <i>Sarocladium</i> sp.                 | W. Gams & D. Hawksw.   |
| <i>Alternaria destruens</i>            | E.G. Simmons   |
| <i>Paraleptosphaeria macrospora</i>    | (Morthier) Gruyter, Aveskamp & Verkley   |
| <i>Plectosphaerella humicola</i>       | Giraldo López & Crous  |
| <i>Vishniacozyma victoriae</i>         | (M.J. Montes, Belloch, Galiana, M.D. García, C. Andrés, S. Ferrer, Torr.-Rodr. & J. Guinea) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout |
| <i>Periconia cookei</i>                | E.W. Mason & M.B. Ellis  |
| <i>Ceramothyrium carniolicum</i>       | (Rehm) Petr.   |
| <i>Laccaria laccata</i>                | (Scop.) Cooke  |
| <i>Ramularia citricola</i>             | Crous & Guarnaccia   |

---

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Mihhail Brodski,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Suurendatud õhu- ja mullaniiskuse mõju arukase ja hariliku kuuse lehestiku ja arukase peenjuurte seenekooslustele”, mille juhendajad on Arvo Tullus ja Ahto Agan, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Mihhail Brodski

25.05.2023