

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

Geili Pütsepp

**Servamõju puiduseente kooslustele kaitstavates metsafragmentides: DNA
meetoditel põhinev uuring**

Magistritöö

Bioloogia ja ökoinnovatsioon

30 EAP

Juhendaja: PhD Kadri Runnel

Kaasjuhendaja: PhD Heidi Tamm

Tartu 2022

Servamõju puiduseente kooslustele kaitstavates metsafragmentides: DNA meetoditel põhinev uuring

Elupaikade fragmenteerumine ohustab metsade elurikkust. Esiteks ei pruugi teistest suurematest metsamassiividest eemalolevatesse metsafragmentidesse kõik liigid kohale jõuda. Teiseks on fragmendi servad mõjutatud väljaspool fragmenti olevast teistsugusest ökosüsteemist. Magistritöös uuriti, kuidas mõjutab fragmenteerumine puiduseente kooslusi (liigirikkust, dominantide osakaalu ja liigilist koosseisu) ning ohustatud ja patogeensete liikide hulka. Selleks analüüsiti DNA meetodite abil 251 lamatüve seenekooslusi kokku 36-l alal. Alad jaotusid kahe töötuse (5-20 a tagasi teostatud lageraiega piirnevad metsafragmentid ja kontrollalad) ja kahe metsatüübi vahel (viljakad metsad ja männikud). Koosluste analüüsist selgus, et viljaka metsa metsafragmentide puiduseente kooslused erinesid kontrollaladest, kuid männikutes selliseid erinevusi ei tuvastatud. Sellest võib järeldada, et tihedamates viljakates metsades elavad liigid on piirnevale raietele tundlikumad kui hõredamate männikutes elavad liigid. Lisaks võivad männikute liigid olla kohastunud järskude looduslike häiringutega (metsapõleng), mistõttu on inimtekkelisel häiringul neile vähem mõju. Samas ei mõjutanud puiduseente kooslusi see, kas lamatüvi paiknes metsafragmenti servas või siseosas. See viitab, et kooslused on raiest mõjutatud kogu fragmendi ulatuses. Mitmete analüüsitud tunnuste poolest metsafragmentid kontrollaladest ei erinenud: näiteks ei tuvastatud piirneval alal hiljuti läbi viidud lageraie mõju DNA meetodite abil tuvastatud puiduseente liigirikkusele ega liikide dominantsussuhetele. Ka ei tuvastatud, et kontrollaladel või metsafragmentide siseosades esineks rohkem ohustatud liike või taimepatogeene. Miks nendes aspektides fragmenteerumise mõju puiduseentele ei avaldunud, võib näiteks seletada varieeruvate keskkonnatingimustega raieservas või väljasuremisvõlaga (liigid on endiselt kohal, kuid enam mitte elujõulised), kuid ka DNA meetodite kitsaskohtadega.

Märksõnad: metsade fragmenteerumine, servaeft, puiduseened, PacBio sekveneerimine, lageraie mõju

CERCS: Mikrobioloogia, bakterioloogia, viroloogia, mükoloogia (B230)

Edge effects on communities of wood inhabiting fungi in protected forest fragments: a DNA metabarcoding study

Habitat fragmentation is a major threat to forest biodiversity. Not all species may be able to disperse from (far-away) larger forest areas to suitable habitats in forest fragments. Secondly, the edges of forest fragments are influenced by the different ecosystem adjacent to the fragment. The aim of this master's thesis was to assess how fragmentation affects the communities of dead-wood inhabiting fungi (including their species richness, proportion of dominants and species composition) and abundance of endangered and pathogenic species. For this, a total of 251 samples from 36 study areas were analysed by DNA methods. The study areas equally represented two treatments (forest fragments bordering 5-20 year old clear-cuts and control areas) and two forest types (spruce-deciduous mixed and pine dominated forests). In spruce-deciduous mixed forests, the communities of dead-wood inhabiting fungi in forest fragments differed from those in the control areas, but such pattern was not detected in pine dominated forests. Thus, the species living in denser spruce-deciduous mixed forests appear more vulnerable to clear-cutting in adjacent forest than the species in less dense pine dominated forests. The species in pine dominated forests may also be better adapted to extreme natural disturbances (forest fires) and therefore less vulnerable to anthropogenic disturbance. However, the communities of dead-wood inhabiting fungi in spruce-deciduous mixed forests did not differ between the trunks located at the edge and in the interior of the forest fragment. This indicates that the communities have been affected by clear-cuts throughout the fragment. The conducted analyses did not reveal any fragmentation effect on species richness or species dominance. Also, the number of threatened species or plant pathogens did not differ between the control areas and fragments or fragment edges or interiors. The reasons why the effect of fragmentation on dead-wood fungi was not detected in these aspects may include variable environmental conditions at the edges or species extinction debt (still there but no longer viable), but also the bottlenecks of the DNA based methods.

Key words: forest fragmentation, edge effects, deadwood-inhabiting fungi, PacBio sequencing, impacts of clear-cutting

CERCS: Microbiology, bacteriology, virology, mycology (B230)

Sisukord

1. Sissejuhatus	5
1.1 Fragmenteerumine ja servamõjud	5
1.2 Puiduseened, fragmenteerumine ja servamõju	7
1.2.1 Puiduseened ja nende olulisus metsaökosüsteemis	7
1.2.2 Elupaikade hulga ja kvaliteedi muutused metsaservas ja mõju puiduseentele	8
1.3 Meetodid puiduseente uurimiseks	10
1.4 Magistritöö eesmärk	11
2. Materjal ja metoodika	12
2.1 Uurimisalad	12
2.2 Välitööd	14
2.3 Laboritööd	16
2.4 Bioinformaatika	18
2.5 Statistika	19
2.5.1 Liikide arv tüvel	19
2.5.2 Dominantide osakaal ja liigid	20
2.5.3 Indikaatorliigid	21
2.5.4 Kooslused	21
2.5.5 Ohustatud liigid ja taimepatogeenid	21
2.6. Töö autori roll	22
3. Tulemused	23
3.1 Liigirikkus	23
3.2 Dominantide osakaal ja liigid	27
3.3 Kooslused	27
3.4 Ohustatud liigid	30
3.5 Taimepatogeenid	32
4. Arutelu	35
4.1 Puiduseened metsafragmentide lamapuudel	35
4.2 Puiduseente kooslused metsafragmentides	36
4.3 Puiduseente liigirikkus, dominantsussuhted ja ohustatud liigid metsafragmentides	37
4.4 Järeldused	39
Kokkuvõte	41
Summary	43
Tänuavaldused	45
Kasutatud kirjandus	46

1. Sissejuhatus

1.1 Fragmenteerumine ja servamõjud

Metsafragmendid on suuremast metsamassiivist killustumisel ja pindala vähenemisel alles jäänud väiksemad metsaalad, mida ümbritseb mõni teine ökosüsteem (Saunders *et al.*, 1991). Metsafragmendid võivad tekkida looduslikult, näiteks vulkaanipurske ja metsatulekahjude tagajärjel, kuid kõige sagedamini tekivad need inimtegevuse tõttu – põllu- ja metsamajanduse tagajärjel (Lindenmayer ja Fischer, 2006).

Metsafragmendi võib elukeskkonna erinevuste alusel jaotada tuumalaks ja servaks. **Tuumala** ei ole mõjutatud fragmendi servas olevast teisest ökosüsteemist. **Serv** on aga mõjutatud nii metsa- kui ka piirneva teise ökosüsteemi poolt. Oma väiksuse tõttu on metsafragmendid potentsiaalselt ohustatud välismõjudest, tekitades servas ja tuumalal erinevatele liikidele sobiliku elukeskkonna. Mida väiksem on fragment, seda proportsionaalselt suurem osa sellest on mõjutatud serva poolt ning päris väikesed metsafragmendid võivad olla läbini servamõjulised (Joonis 1) (Runnel *et al.*, 2022). Eestis moodustavad rangelt kaitstavatest metsadest 7% alla 10 ha suurused metsafragmendid ja 21% jäävad vahemikku 10-100 ha (Lõhmus, 2016).

Metsade fragmenteerumisel on elustikule mitmesuguseid mõjusid. Kõigepealt võivad liigid fragmendis välja surra, kuna kaugemal asuvatest suurtest metsamassiividest ei pruugi liigid suuta enam fragmenti levida. Lisaks võib fragmentides toimuda migratsiooni vähenemise tõttu geneetiline vaesumine, mille tõttu pole väikeste metsafragmentide liigid võimelised keskkonnatingimuste muutustega nii efektiivselt toime tulema (Laurance *et al.*, 2002). Seetõttu saab tõmmata paralleele metsade fragmenteerumise ja saarte biogeograafia vahel, millest on teada, et mida väiksem ning kaugemal mandrist on saar, seda vähem on seal liike (MacArthur ja Wilson, 2001).

Teiseks muutub fragmendi serv mikroklimaatilisel varieeruvamaks, kuna servades mõjutab seda teine avatud kooslus (Baker *et al.*, 2013; Pimm, 1998; Laurance *et al.*, 2002). Näiteks metsafragmendi piirnemisel avatud kooslusega võib suurem tuule häiring ulatuda lausa 400 m metsa siseossa, muutunud niiskustingimused kuni 100 m ning fotosünteesilise valguse hulk üle 25 m metsa siseossa (Laurance *et al.*, 2002). Kuna suures metsas kasvavad puud suures valguskonkurentsis ja väheses tuule mõjul, siis avatud

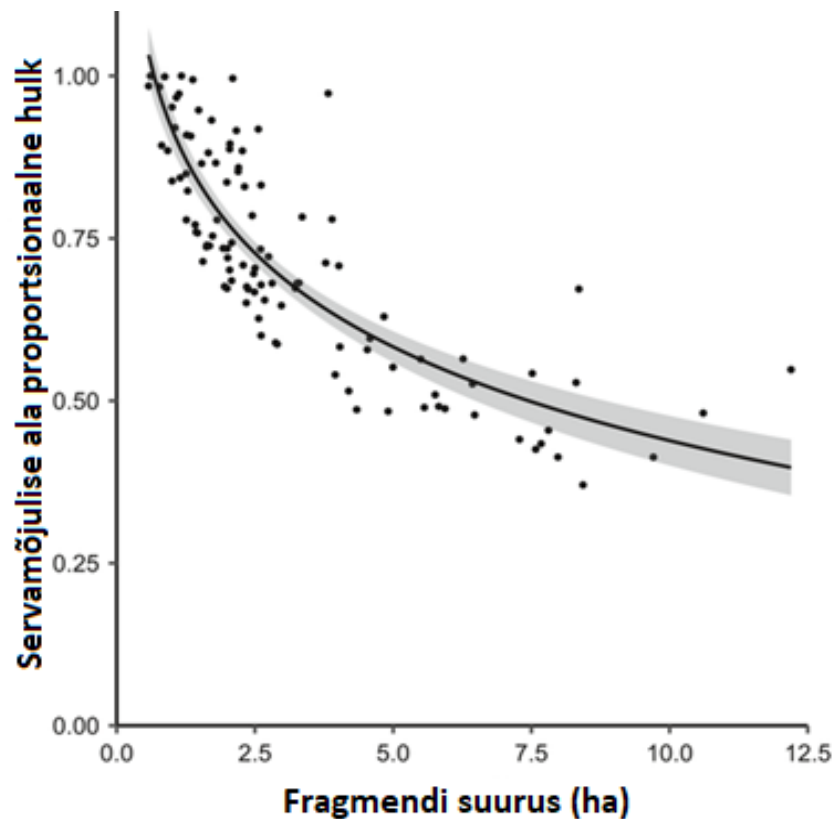
servades on sellised puud tuulemõjule vastuvõtlikumad ja seeläbi võib suurenenud tuule mõjul servades olla rohkem lamapuitu (MacFarlane ja Kane, 2017; Harper *et al.*, 2005; Jönsson ja Jonsson, 2007). Serva võivad mõjutada ka avatud kooslustest tuule ja muutunud veerežiimi tõttu fragmentidesse sisenevad erinevad saasteained (Boutin ja Jobin, 1998).

Nende välismõjude tõttu sobivad metsaservad pigem liikidele, kes kannatavad suuremat elupaigaomaduste kõikumist, nagu näiteks generalistid, pioneerliigid ja võõrliigid (eg. Davies-Colley *et al.*, 2000; Brothers ja Spingarn, 1992). Seevastu liigid, kellele ei sobi elupaigaomaduste suurem kõikumine, ning kes muutunud tingimuste pärast servas konkurentsile vastu ei pea, kogunevad tuumalale (eg. Laurance *et al.*, 2002). Muutunud elupaigaomaduste tõttu ning väheneva sobiliku elupaiga pindala tõttu on tuumala liigid suuremas väljasuremisohus (Saunders *et al.*, 1991). Valdavalt on metsaservades liike nii metsaökosüsteemist kui ka sellega piirnevast avatud süsteemist (Łuczaj ja Sadowska, 1997).

Liikide kadumine metsafragmentidest levikupiirangute või servamõjude tõttu ei ole aga järsk protsess, vaid toimub järk-järgult ehk fragmentides on väljasuremisvõlg. Seetõttu ei pruugi häiringu mõju fragmendile koheselt näha olla, vaid tulemust on näha pikema aja peale ning olenevalt liigirühmast ja selle häiringueelsest seisundist fragmendis võib see välja suremine kesta väga erineva aja. Küll aga annab see võimaluse läbi elupaikade taastamise liikide välja suremist fragmentides peatada (Kuussaari *et al.*, 2009).

Erinevad organismirühmad võivad olla fragmenteerumise mõjudele erineval määral tundlikud. Näiteks levikupiirangud mõjutavad kõige rohkem suurte seemnetega levivaid taimeliike või aeglaselt ning väikseid vahemaid liikuvaid loomi. Näiteks hariliku pärna puhul on näidatud, et elupaikade vähenemine ja fragmenteerumine vähendab oluliselt liigi võimekust levida teistesse fragmentidesse (Collingham ja Huntley, 2000). Sama on näidatud ka kõdupuidu putukate puhul (Komonen ja Müller, 2018). Seevastu näiteks seened ja teised organismid, kelle levised on väikesed või liigid, kes suudavad rännata pikemate vahemaade taha on fragmentidesse levimise probleemidest vähem mõjutatud (Komonen ja Müller, 2018; Nordén *et al.*, 2014). Ka vahetutel servamõjudel võib elustikule olla nii positiivne kui negatiivne efekt. Positiivse efekti puhul on kahe erineva süsteemi servaaladel rohkem liike kui vastava süsteemi sisemuses, negatiivse efekti puhul

vastupidi (Łuczaj ja Sadowska, 1997). Näiteks soontaimede ja sammaltaimede puhul on näidatud, et kui mets piirneb rohumaaga, siis on liikide arv kõige suurem rohumaal ja väheneb metsa sisemuse poole liikudes (Łuczaj ja Sadowska, 1997). Maapinnal elavate mardikate puhul on aga näidatud, et üldine liigirikkus väheneb, kuid metsaga seotud liikide arv tõuseb liikudes serva (niidu) kooslusest metsa sisemuse poole (Magura, 2017). Lindude puhul on aga näidatud, et liike on enim just vahetult metsa servas ning liikide arv langeb järsult avamaastikus (Terraube *et al.*, 2016).



Joonis 1. Fragmendi suuruse ja servamõjulise ala seos. Mida suurem on ala, seda väiksem protsent sellest on serva poolt mõjutatud (Runnel *et al.*, 2022)

1.2 Puiduseened, fragmenteerumine ja servamõju

1.2.1 Puiduseened ja nende olulisus metsaökosüsteemis

Käesolev magistritöö keskendub puiduseentele, st seentele kes asustavad surnud puude puitu (kõdupuitu). Kõdupuidus leidub erinevate funktsionaalsete omadustega seeni. Peamiseks puiduseente rühmaks on puidulagundajad, see rühm jaguneb laias laastus

kolmeks: valget- (üle 90% liikidest), pruunmädanikku (umbes 7% liikidest) ja pehmet mädanikku (umbes 3% liikidest) põhjustavad seened. Jaotus põhineb sellel, milliseks muutub puit värvuselt, struktuurilt ja koostiselt seene lagundamisel. Valgemädaniku puhul lagundab seen ligniini, pruunmädaniku puhul hemitselluloosi ja pehmemädaniku puhul tselluloosi (Várnai *et al.*, 2014; Rajala *et al.*, 2015). Värskemate tüvede puhul alustab lagundamist valgemädanikku põhjustavad seened ning kõduastme suurenedes muutub pruuni-ja pehmemädaniku põhjustavate seente osakaal (Rajala *et al.*, 2015). Kuid puidus leidub ka seeni, kes puidu lagundamisega ei tegele. Näiteks võivad puidus olla ka seened, kes on sümbioosis teiste liikidega, kes puitu oma elukeskkonnana kasutavad (Jonsson *et al.*, 2005). Puidus elavatest seentest, nende liigilisest koosseisust, arvukusest ja ajalisest muutusest on veel vähe teada, kuna kogu kõdupuidus oleva DNA põhjal tehtud töid on vähe, ning enamik töödest on tehtud viljakehade vaatluse põhjal või käsitlevad vaid teatud rühma puiduseeni (Purahong *et al.*, 2018; Moose *et al.*, 2019). Eestis on juba ainuüksi erinevaid lamatüvesid asustavaid torikseeni (üks paremini uuritud puiduseente rühm) üle 260 liigi (Runnel *et al.*, 2021).

Puiduseentel, eriti puidulagundajatel on võtmeroll metsaökosüsteemi aineringes, kuna oma elutegevuse käigus lagundavad nad surnud puidumassi. Sedakaudu muutuvad puitu ladestunud toitained taas teistele organismidele omastatavaks. Samuti muudavad puidulagundajad lamatüve füüsikalisi omadusi. Selle tegevuse käigus loovad nad elupaiku teistele liikidele, näiteks teistele puidulagundajatele seentele, sammaldele, samblikele, aga ka putukatele (Moose *et al.*, 2019). Teatud lihtsasti määratavaid puiduseeneliike kasutatakse ka vanade metsade indikaatorliikidena, kuna nad on tundlikud keskkonnaomaduste muutuste suhtes (Christensen *et al.*, 2005). Samas pole täpselt teada, milline on servamõju puiduseentele ning miks osad liigid paistavad olevat sellest negatiivselt mõjutatud samas kui teised ei paista muutusele vastavat (Nordén, 2009).

1.2.2 Elupaikade hulga ja kvaliteedi muutused metsaservas ja mõju puiduseentele

Raie või põlluserv võib ka puiduseeni mõjutada mitmel erineval moel. Kõigepealt võib fragmenteerumise üldmõjuna puiduseente liigirikkust ja kooslusi mõjutada see, kui teised vanad metsad jäävad fragmendist väga kaugemale, mis puhul võib takistuseks saada

levimine. Sobiv substraat võib küll fragmendis olemas olla, kuid seeneeosed ei jõua selleni, mistõttu liigirikkus väheneb (Nordén, 2009). Teiseks võivad ka puiduseeni mõjutada vahetud keskkonnatingimused (rohkem tuult, valgust, muutunud niiskustingimused, kõikuvam temperatuur) ning muutused elupaikade hulgas ja kvaliteedis (Abrego ja Salcedo, 2014).

Elupaikade (nt lamatüvede) tunnustest mõjutab puiduseeni puu liik, kõdunemisaste, puidu tihedus ja niiskusaste (Rajala *et al.*, 2012). Näiteks kauem kõdunenud lamapuudes on palju erinevaid mikroelupaiku (erineva kõdunemisstaadiumiga osasid), mis võimaldab paljudele erinevatele liikidele sobilikku elupaika. Seevastu värskem vähe lagunenu puu on keeruline ja spetsiifiline substraat, millel saavad elada vaid kindlad spetsialiseerunud liigid (Abrego ja Salcedo, 2011). Puiduseente liigirikkust mõjutab ka puu diameeter: väiksema diameetriga lamapuidus on keskkonnatingimused kiiremini muutuvad ja substraat kuivab kiiremini läbi kui jämedam puu. Lisaks suudab suurem elupaik, ehk jämedam puu hoida suuremat hulka liike kui peenike tüvi (Parisi *et al.*, 2018). Liigilist mitmekesisust mõjutab ka puu liik, kuna erinevad puuliigid on keemiliselt ja füüsikaliselt erinevad ning võimaldavad väga eriilmeliste koosluste teket (Heilmann-Clausen *et al.*, 2005).

Kuigi metsaservas võib olla suurema tuule tõttu rohkem lamapuitu, siis muutunud keskkonnatingimuste tõttu ei pruugi need puiduseente jaoks olla sobilikud (Ruete *et al.*, 2017). Nimelt kuna servas on rohkem valgust ja tuult ning niiskustingimused ja temperatuur on kõikuvamad, siis muutuvad tingimused ka lamatüvedes ning tüvede niiskustingimused ja temperatuur on kõikuvamad kui tuumalas. Sel põhjusel võivad metsaservades olla eriti haavatavad spetsialiseerunud ja kõrgema lagunemisastmega substraati vajavad puiduseened. Metsaserva tingimustes võivad puiduseente seas ülekaalu saavutada generalistid, kellel pole vaja nii spetsiifilisi keskkonnatingimusi. Seetõttu võib generalistide liigirikkus ja osakaal fragmenteeritud aladel suurenda (Berglund ja Jonsson, 2008). Samas on puiduseente hulgas mitmeid spetsialiseerunud ohustatud liike ning nende kaitseks oleks vaja väikseid pindalasi ja killustatust vältida (Nordén *et al.*, 2013). Varasemates töödes, mis on keskendunud kindlatele vanametsa liikidele või piiritletud liigirühmadele (nt torikseened), on leitud, et lageraieserval on puiduseentele negatiivne efekt (Łuczaj ja Sadowska, 1997; Ruete *et al.*, 2017; Ruete *et al.*, 2016; Siitonen *et al.*, 2005).

1.3 Meetodid puiduseente uurimiseks

Puiduseeni uuritakse traditsiooniliselt nende viljakehade järgi, kuid sellel meetodil on mitmeid probleeme. Näiteks paljud puiduseened ei moodusta üldse või moodustavad väga harva viljakehi ning seetõttu võivad viljakehade põhjal mitmed liigid tuvastamata jääda (Rajala *et al.*, 2012; Ottosson *et al.*, 2015). Paljud viljakehad on ka mikroskoopilised ja võivad jääda palja silmaga vaatamisel märkamata (Abrego *et al.*, 2016). Viljakehade puhul on probleemiks ka see, et erinevate liikide viljakehad esinevad erinevatel aegadel ja ka nende püsivus on erinev, mistõttu tuleks kooslusest ülevaate saamiseks teha mitmeid kordusvaatlusi (Halme ja Kotiaho, 2012). Lisaks ajalistele kordustele peaks valimisse kaasama ka rohkem lamatüvesid, kuna erinevates tüvedes saavutavad dominantsuse ja moodustavad viljakehi erinevad liigid (Abrego *et al.*, 2016). Viimaks on näidatud, viljakehad ei võimalda anda hinnangut, kui palju liike võib tüves jääda märkamatuks, kuna viljakehadena olevate liikide arv ei korreleeru puidust DNA abil leitavate liikide arvuga (Rajala *et al.*, 2010). Samas on seente määramisel viljakehade järgi ka positiivseid külgi: näiteks on viljakehade vaatlemine kiirem ja oluliselt odavam, kui DNA sekveneerimise abil seente määramine ning saab kindel olla, et seen tõepoolest on puidus elujõuline (mitte jäänuk varasemast ajast; Frøslev *et al.*, 2019).

Alternatiivseks puiduseente uurimismeetodiks on nende määramine DNA alusel. Selle meetodi plussina on võimalik tuvastada ka liike, mis üleüldse või parasjagu viljakehasid ei moodusta. Lisaks väheneb valemäärangute osakaal, mis kogenematu seenevaatleja puhul viljakehi vaadeldes esineda võivad. Samas olenevalt proovide hulgast, DNA eraldamise ja sekveneerimise efektiivsusest ning referentsandmebaaside kvaliteedist võivad jääda ka liigid proovidest tuvastamata. Näiteks 2012 Soomes tehtud võrdluse põhjal tuli DNA andmetes välja ainult üks kolmandik liike, keda samal tüvel viljakehadena kirjeldati (Rajala *et al.*, 2012). Seente puhul kasutatakse liigi määramiseks rDNA ITS järjestusi (*internal transcribed spacer*), nende heade liigispetsiifiliste markerite tõttu (Ovaskainen *et al.*, 2010). Probleemiks võib osutada ka ITS1 regioonide liigisisene varieeruvus või liikidevaheline sarnasus. Proovide võrdlemisel referents andmebaasi vastu võivad seetõttu tulemused olla ebausaldusväärsed (Ovaskainen *et al.*, 2010).

1.4 Magistritöö eesmärk

Käesolevas töös uuriti, kas ja kuidas lageraie mõjutab metsafragmendi servas olevaid puiduseeni. Varasemaid töid, mis annaks hinnanguid selle kohta, kuidas servamõjud mõjutavad puiduseeni on väga vähe ning need hõlmavad üksikuid seenerühmi, mida on uuritud viljakehade kaudu (nt Ruete *et al.*, 2016). Ülaltoodud põhjustel on see lähenemine ebatäielik. Antud töös käsitleti molekulaarseid meetodeid kasutades kõiki puidus olevaid seeni, mille esinemine puidus tuvastati DNA alusel.

Töös keskenduti järgmistele küsimustele:

1. Kas metsafragmendid erinevad puiduseente koosluste poolest (sh liigirikkus, liigiline koosseis ja dominantsussuhted) suurtest metsaaladest? Sellele küsimusele vastamiseks võrreldi metsafragmente kontrollaladega (suured metsaalad).
2. Kas raieservadel on mõju piirneva metsa puiduseente kooslustele (sh liigirikkus, liigiline koosseis, dominantsussuhted ja taimepatogeenide rohkus)? Sellele küsimusele vastamiseks võrreldi raieservasid siseosadega ja kontrollaladega.
3. Kas metsafragmentides üldiselt on sama palju spetsialiseerunud ja ohustatud liike kui suurtel metsaaladel ning kas selliste liikide osas erinevad metsafragmentide servad ja keskosad?

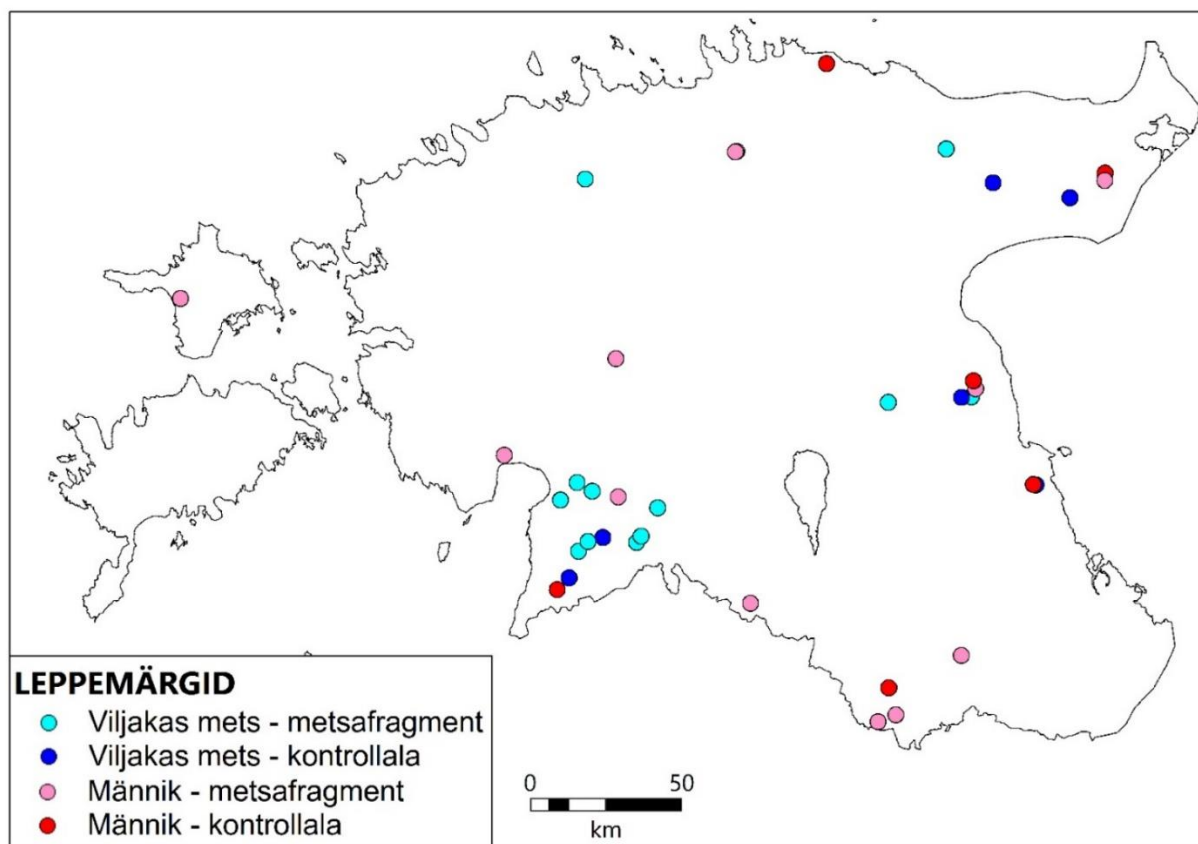
Nendele küsimusele vastamine võiks aidata hinnata, kas, kuidas ja mis suunas mõjutavad fragmenteerumise erinevad aspektid (sh levikutõkked ja piirnevate raietega kaasnevad servamõjud) seenekooslusi. Suuremas plaanis aitab töö hinnata, kas metsafragmendid on piisavad seenekoosluste kaitseks.

2. Materjal ja metoodika

2.1 Uurimisalad

Välitööd viidi läbi osana suuremast teadusprojektist (RMK rahastatud projekt „Kaitstavate metsafragmentide eesmärgipärasuse suurendamine“). Uuringu objektiks olid raiega piirnevad metsafragmendid (edaspidi: metsafragmendid) keskmise suurusega 5,8 ha (suurusvahemik 2,5-15 ha) ja kontrollalad. Vähemalt ühel metsafragmendiga piirneval alal oli toimunud lageraie 5-20 aastat tagasi. Pooled kontrollalad asusid sidusas põlismetsas ja pooled piirnesid vanema majandusmetsaga. Kõigil aladel teostati mõõtmised 2 ha suurusel uuringualal. Uuringus käsitleti kahte tüüpi metsasid: viljakal mullal kasvavad kuuse-segametsad (edaspidi: viljakad metsad) ja liivmullal kasvavad männikud või männi-segametsad (edaspidi: männikud). Erinevate muldadega metsatüüpide kaasamise eesmärgiks oli selgitada piirneva raie mõju erinevatele metsatüüpidele. Lähtuvalt projekti eesmärkidest, oli uuringualade peamiseks valikukriteeriumiks võimalikult põhjalik varasem ülevaade ala looduskaitseväärtusest. Lisaks lähtuti alade valimisel põhimõttest, et valimis oleks võrdselt mõlemaid metsatüüpe. Raieinfo saadi ortofotodelt ja metsateatistest.

Valmis oli kokku 36 uuringuala (Joonis 2): 12 kontrollala ja 24 metsafragmenti (Tabel 1). Viljakates metsades oli esindatud kuus kasvukohatüüpi ning männikutes viis erinevat kasvukohatüüpi (Tabel 2) (Paal, J., 1997). Viljakate metsade kontrollalade keskmine vanus oli 146 aastat (maksimaalne vanus 205 aastat, minimaalne 100 aastat) ja metsafragmentide keskmine vanus 127 aastat (maksimaalne vanus 159, minimaalne 101 aastat). Männikute kontrollalade keskmine vanus oli 174 aastat (maksimaalne vanus 214 aastat, minimaalne 109 aastat) ja metsafragmentide keskmine vanus 144 aastat (maksimaalne vanus 189 aastat, minimaalne 90 aastat).



Joonis 2. 36 proovivõtuala paiknemine Eestis.

Tabel 1. Alade jaotus tüüpide järgi

	Viljakas mets	Männik	Kokku
Metsafragment	12	12	24
Kontrollala vanametsamassiivis	3	3	6
Kontrollala majandatavas metsas	3	3	6

Tabel 2. Alade jaotus kasvukohatüüpide järgi

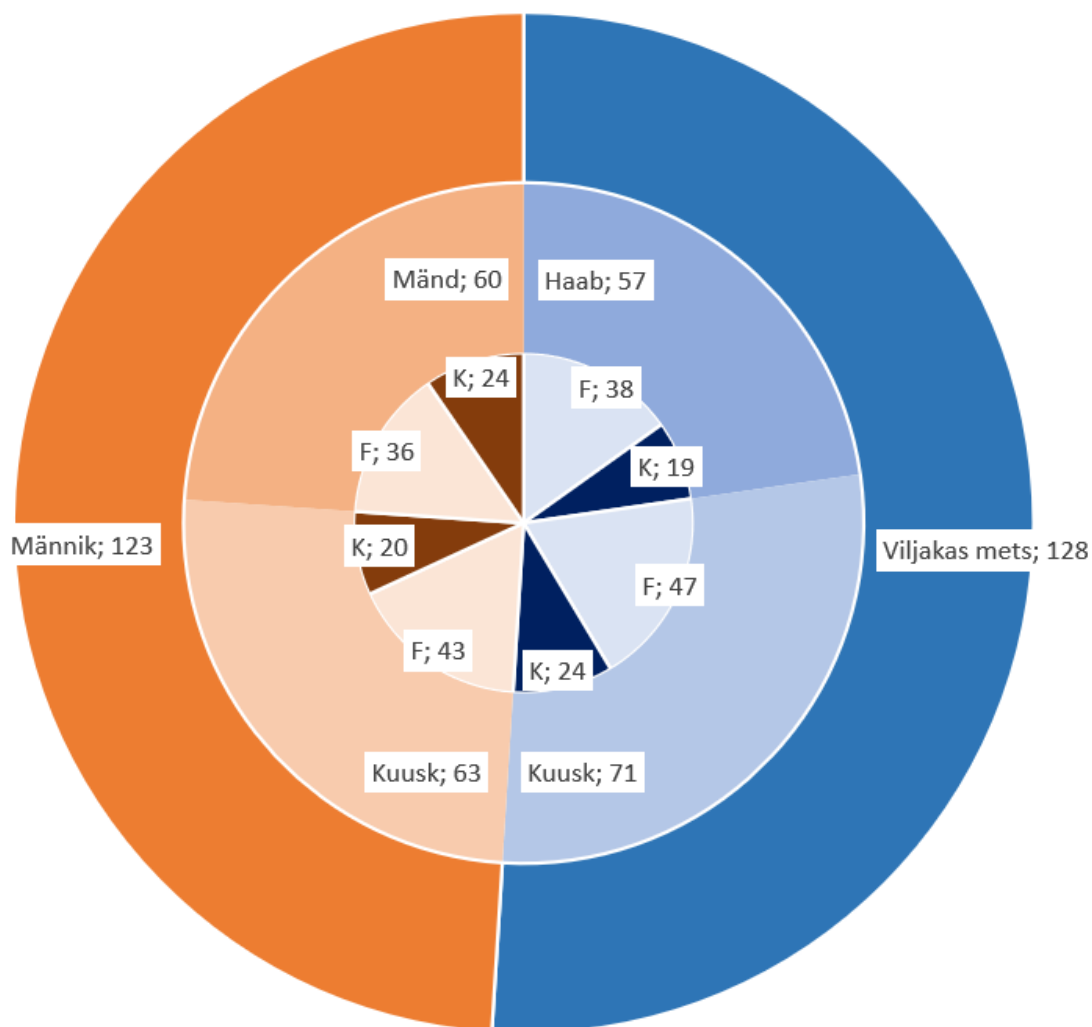
Kasvukohatüüp	Metsafragment viljakas metsas	Kontrollala viljakas metsas
naadi	4	2
angervaksa	2	1
jänsekapsa mustika	3	3
sinilille	1	0
jänsekapsa-kõdusoo	1	0
tarna-angervaksa	1	0
	Metsafragment männikus	Kontrollala männikus
kanarbiku	0	1
pohla	4	1
jänsekapsa-pohla	4	1
mustika	4	1
karusambla-mustika	0	2

2.2 Välitööd

Raieservade mõju uurimiseks seenekooslustele, valiti proovivõtuks neli lamatüve iga uuringuala siseosast ja servast. Servapuud asetsesid maksimaalselt 15 m kaugusel raiega servast ning siseosa puud keskmisel 70-80 m servast. Need lamatüved jaotusid kahe puuliigi vahel: viljakates segametsades võeti proove haabadelt (*Populus tremula*) ja kuuskedelt (*Picea abies*), männikutes mändidelt (*Pinus sylvestris*) ja kuuskedelt. Kuusk, mänd ja haab valiti proovipuudeks, kuna neil on väga eriilmelised seenekooslused (Purahong *et al.*, 2018). Lõplikus valimis on 251 proovi, millest viljakates metsades haava proove 57, kuuse proove 71 ning männikutes kuuse proove 63 ja männi proove 60 (Joonis 3). Proovipuud võeti ühe ala raames võimalikult sarnaste omadustega lamatüvedelt. Omadused, mida valikul arvesse võeti olid kõduaste, läbimõõt (proovipuude rinnasdiameeter oli 7-108 cm, keskmine diameeter 33 cm) ja kontakt maaga. Proove koguti tüvedelt, mis olid 2-3 kõduastmes, st vähe või keskmiselt kõdunenud: nuga on võimalik vähese jõuga suruda tüvesse 1-5 cm (Renvall, 1995). Eesmärk oli igast puust võtta 5 proovi, võimalusel 1 m vahega kordamööda kummaltki puu küljelt. Proovivõtuks kasutati 1 cm läbimõõduga puidupuuri. Kõik samalt tüvelt võetud proovid koguti ühte paberkotti. Kui tüve osad ei võimaldanud puurida 1 m vahega (lühemad murdunud tüveosad, tüveosade mattumine sammaltaimede ja mulla alla), siis puuriti maksimaalse võimaliku vahega. Kui uuringuala sees sobivaid lamatüvesid ei eksisteerinud, siis kontrollalade ja siseosade proovipuid võeti ka väljastpoolt uuringuala, kuid tingimusel, et kooslus silmnähtavalt ei muutunud.

Ristsaastumise vältimiseks, puhastati kahe puu vahel puidupuur esmalt paberrätikuga, et eemaldada puidupuru ning see järel pihustati piiritusega ning põletati. Selleks, et garanteerida, et kogutakse just puiduseeni ja mitte seene eoseid ja niidistikku, mis on juhuslikult puidu pinnale sattunud ja seal arenema hakanud eemaldati proovi kogumise kohtadelt noaga paari millimeetri paksune kiht. Nuga, mida kasutati puidukihi eemaldamiseks puhastati piiritusega ja põletati üle peale igat lõiget. Puiduproovid kuivatati toatemperatuuril.

Iga proovipuu kohta koguti lisaks ka järgmised andmed: täpsem lagunemisaste (mitu cm oli võimalik nuga vähese jõuga tüvesse suruda; analüüsides kasutati keskmist väärtust); tüve rinnasdiameeter; tüve läbimõõt proovivõtuvahemikus (proovivõtuvahemik – ala tüvel esimese ja viimase puuraugu vahel); kas proovivõtuvahemikus oli proovipuul kontakt maaga või mitte (edaspidi: kontakt maaga); kas lamatüvi oli tekkinud tuuleheite või murruna (edaspidi: lamatüve tekkepõhjus). Lisaks tehti kalasilma objektiiviga pilti tüve kohal olevast võrastikust, et määrata puidule langeva valguse hulk. Kalasilma objektiiviga tehtud pilte analüüsiti programmiga GLA (Gap Light Analyzer Version 2.0; Frazer, G. *et al.*, 1999). Igale pildile määrati põhjasuund. Seejärel muudeti pildid must-valgeks ja muudeti pikslite suurust ja kontrasti nii, et valgena oleks eristatud taevas ja mustana puud (piksli väärtus 180). Juhul kui tegu oli väga päikesepaistelise päevaga ja puude tüved olid liiga heledad, siis muudeti neid eelnevalt manuaalset tumedamaks. Seejärel arvutati programmiga võra avatuse protsent (*Canopy Openness* %) (edaspidi: võra avatus) ja otsese ja hajusa valguse hulk (*Trans Total* %) (edaspidi: koguvalgus).



Joonis 3. Proovide arvu jaotus metsatüüpide, puuliikide ja ala tüüpide lõikes. K – kontrollala; F – metsafragment

2.3 Laboritööd

Kogutud puiduproovidest eraldati laboritingimustes DNA ning proovid valmistati ette uue põlvkonna sekveneerimiseks. Selleks kaaluti igast proovist 2 ml Eppendorf tuubi 0,1 g puidupuru. Proovid purustati ühtlustamise ja DNA paremaks eraldamiseks 3,2 mm läbimõõduga roostevabast terasest kuulidega Retsch MM400 kuulveskis kiirusel 30 lööki sekundis kuue minuti jooksul (Retsch GmbH, Haan, Germany). DNA eraldamine toimus DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen) protokoll järgi kasutades tootja poolt ette nähtud etappe, koguseid ja aegasid, välja arvatud järgnevatel etappidel:

1. puidupurule lisati koos PowerBead tuubi sisule veel 250 µl PowerBead lahust DNeasy Power Max Soil kitist (Qiagen), ning seetõttu lisati ka C1 lahust koguses 80 µl. Lahuste koguseid suurendati, kuna kompleks on mõeldud seente DNA eraldamiseks mullast. Kuiv puidupuru imab vedelikku rohkem sisse kui muld, ning seetõttu on vajalik lahuste koguseid suurendada, et peale imendumist oleks võimalik proovist kätte saada piisav kogus lahust.
2. Peale PowerBead tuubide sisu ja C1 lisamist toimus protokollis märgitud ühe 10 min pikkuse vortexil segamise asemel 5 min segamist, mille järel pandi proovid 10 min 60°C juures soojenduskappi ning sellele järgnes veel 10 min vortexil segamist. Kuna eelmises etapis lisati lahust rohkem, siis suurendati ja vortexil segamise aega. Kuna aga C1 lahus peab toimimiseks olema 60°C, siis tõsteti proovid koos lahusega soojenduskappi, et vältida temperatuuri liigset langemist vortexi ajal.

DNA märgistamine unikaalsete identifikaatoritega toimus PCR käigus. Selleks kasutati märgistatud praimereid ITS9mun ja ITS4ngsUni (Egger, 1995; Tedersoo ja Lindahl, 2016). Reaktsioonis kasutati 3 µl DNA-d, 0,5 µl kumbagi praimerit ning 16 µl MilliQ vett ja 5 µl mastermixi (Solis BioDyne 5x HOT FIREPol® Blend Master Mix Ready to Load, with 10mM MgCl₂). Kõik proovid läbisid PCR tsükli kahes korduses kokku mahus 50 µl. PCR viidi algselt läbi 30 tsükliga, kus denatureerimine toimus 95°C juures (30 sekundit), praimerite seondumine 55°C juures (30 sekundit) ja süntees 72°C juures (1 min). PCR edukust kontrolliti geelektroforeesil kasutades 1% agaros-TBE geeli (1% agarosi, 89 mM Tris, 89 mM boorhape, 2 mM EDTA) ja etiidiumbromiidi. Kui saadud bändi tugevus oli liiga nõrk tõsteti tsükli arvu 35 või 40 tsüklini. Joonistuva geelektroforeesi pildi järgi määrati iga proovi jaoks kogus 1 ja 10 µl vahel, mis pipeteeriti raamatukogudesse koos positiivse ja negatiivse kontrolliga. Negatiivse kontrollina kasutati MilliQ vett ning positiivse kontrollina sünteetilist DNA lõiku, mis sisaldas vastavaid praimerite seondumise saite. Valmistati kokku kolm raamatukogu, mida puhastati GEL/PCR Purification Mini Kitiga (Favorgen). DNA kontsentratsioonid mõõdeti Qubit 1X dsDNA HS Assay kitiga kasutades Qubit 3 fluoromeetrit (Invitrogen) vastavalt tootja protokollile. Raamatukogud saadeti PacBio sekveneerimisele Oslo Ülikooli.

2.4 Bioinformaatika

PacBio sekveneerimise toorandmete analüüsis kasutati Bioconda (Grüning *et al.*, 2018) paketti Lima, platvormi PipeCraft 1.0 (Anslan *et al.*, 2017), kus esimese etapina jagati DNA järjestused unikaalsete identifikaatorite põhjal proovide vahel (demultiplexing). Selleks etapiks kasutati paketti Lima. Teise sammuna kontrolliti DNA järjestuste kvaliteeti, mille käigus eemaldati andmetest madala kvaliteediga järjestused. Kvaliteedikontroll viidi läbi PipeCraft platvormil kasutades programmi vsearch v1.11.1 (Rognes *et al.*, 2016) järgmiste parameetritega: `trancqual=0, maxee=1, maxee_rate=999, minlength=150, maxambig=0, qmax=93`. Järgmise etapina toimus ITS regiooni tuvastamine programmiga ITSx (Bengtsson-Palme *et al.*, 2013), mille käigus programm tuvastas, kas tegu on ITS järjestusega või mitte, ning eemaldas sobimatud sekventsids ja ITS regiooniga külgnevad järjestused. ITS järjestuste hulgast eemaldati kimäärid nii *de novo* kui referentsandmebaasi (Unite UCHIME 7.2 andmebaasi (Nilsson *et al.*, 2015)) kasutades. Selleks kasutati PipeCraft platvormil programmi vsearch. Järgmises etapis klasterdati ITS järjestused OTU-deks (*Operational taxonomic unit*) kasutades PipeCraft platvormi programmi CD-HIT (v4.6) (Fu *et al.*, 2012). Klasterdati 97% sarnasuse põhjal, minimaalseks klastri suuruseks oli 2. CD-HIT programm genereeris ka OTU tabeli, kus iga OTU kohta on välja toodud selle esinemine proovide hulgas. Iga OTU kõige sagedasemat järjestust kasutati Blastn otsingul, mis tuvastab järjestuste sarnasuse alusel lähimad vasted referentsandmebaasis (UNITE general FASTA release for Fungi 2. Version no 8.2 (Abarenkov., *et al.*, 2020)). Otsinguks kasutati programmi ncbi-blast-2.9 järgmiste parameetritega: `task = blastn, -evalue=0.001 -word_size=7 -reward=1 -penalty=-1 -gapopen=1 -gapextend=2; database = UNITE v8.2`. Viimaks omistati OTU-dele funktsionaalne gild, toitumistüüp ja viljakeha tüüp kasutades Fungal Traits andmebaasi (Pölme *et al.*, 2020). Taksonoomiliste tasemete usaldusväärsuse määramiseks vaadeldi järjestuse e-väärtust ja ID protsenti. Kui e-väärtuse astendaja oli <-50 vaadeldi edasi ID protsenti. Kui e-väärtuse astendaja jäi -20 ja -50 vahele peeti usaldusväärseks ainult riigi tasemel määrangut (juhul kui samal ajal oli ID protsent >70%, alla selle ei peetud ühtki taksonoomist taset usaldusväärseks). Ka siis kui astendaja oli >-20 ei peeta ühtki taset usaldusväärseks, kuid selliseid sekventse ei esinenud. Kui e-väärtuse astendaja oli -50 või väiksem, vaadeldi ID protsenti. Selle järgi on 100% - 97% usaldusväärne liigi tasemel määrang, 96% - 90% on usaldusväärne perekonna tasemel

määrang, 89% - 85% sugukonna määrang, 84% - 80% seltsi määrang ja 79% - 75% klassi ja hõimkonna tase.

2.5 Statistika

Statistikaks kasutati statistikaprogrammi R (versioon 4.0.3; R Core Team (2021)). Analüüsid ei eristatud vanas metsas ja majandusmetsaga piirnevaid kontrollalasid.

2.5.1 Liikide arv tüvel

Välitöödel mõõdeti erinevaid puutüve kirjeldavaid tunnuseid, mis varasema kirjanduse põhjal võivad mõjutada seeneliikide arvu lamapuidus. Selleks, et otsustada, millised neist tunnustest kaasata edasisesse analüüsidesse, kontrolliti esimese analüüsi etapina kõigepealt eraldi iga tunnuse seost seeneliikide (OTU-de) arvuga puutüvel. Seda tehti lineaarsete segamudelite abil (R pakett nlme, funktsioon lme: Linear Mixed-Effects Models), kuhu kaasati lisaks ühele puutüve kirjeldavale tunnusele ka logaritmitud sekventsides koguarv sellest tüvest võetud proovist (see muutuja väljendab sekveneerimissügavust, st mitu korda on iga nukleotiid sekveneeritud) ja juhusliku faktorina ala number. Sekveneerimissügavus lisati mudelisse, kuna varasemast on teada, et see võib tulemusi mõjutada. Analüüsi kaasati juhusliku faktorina ala number, mis koondab sama ala raames võetud proove, et vältida pseudoreplikatsiooni. Edasisse analüüsi kaasati vaid tunnused, mille p-väärtused osutusid vähemalt ühes metsatüübis $<0,2$.

Teise analüüsi etapina uuriti liikide arvu ja ala tüübi (kontrollala või metsafragment) ning proovipuu paiknemise (ala servas või siseosas) vahelisi seoseid. Selleks kasutati üldistatud lineaarseid segamudeleid (GLMM- Generalized linear mixed model) (R pakett lme4, funktsioon glmer.nb: Fitting Negative Binomial GLMMs). Mudelite abil testiti liigirikkuse (OTU-de arv tüvel) seost järgnevate parameetritega: ala tüüp (kontrollala või metsafragment; faktoriaalne tunnus); paiknemine (ala serv või siseosa; faktoriaalne tunnus); puuliik (faktoriaalne tunnus); kõduaste (pidev tunnus); koguvalgus (pidev tunnus); logaritmitud sekventsides arv tüve kohta (pidev tunnus); paiknemise ja ala tüübi koosmõju; puuliigi ja kõduastme koosmõju. Puuliigi ja kõduastme koosmõju kaasati

mudelisse, kuna erinevatel puuliikidel on erineva kõdunemiskiiruse ja pehmusega puit, mistõttu võib erineva puuliigi puudel sama kõduastme juures olla surmast möödunud erinev hulk aega. Koefitsientide võrdlemiseks kõik pidevad muutujad standardiseeriti.

2.5.2 Dominantide osakaal ja liigid

Dominantide analüüside eesmärgiks oli näha, kas sõltuvalt ala tüübist ja proovipuu paiknemisest võivad teatud liigid saavutada tüves suurema osakaalu, ning kas need liigid erinevad sõltuvalt ala tüübist ja proovipuu paiknemisest. Dominantide osakaalu seost ala tüübi ja proovipuu paiknemisega testiti eeldusel, et mida suurem on proovis ühe OTU sekventsides osakaal, seda dominantsem on konkreetne OTU antud proovipuu. Dominantidena olid defineeritud kolm kõige suurema sekventsides osakaaluga OTU-t igal tüvel. Dominantide osakaalu leidmiseks summeeriti iga proovi kõigi OTU-de sekventsides arvud, mis jagati dominantide sekventsides arvuga. Analüüsideks kasutati üldistatud lineaarseid segamudeleid (GLMM- Generalized linear mixed model) (R pakett lme4, funktsioon `glmer.nb`: Fitting Negative Binomial GLMMs), kus sõltuvaks muutujaks oli dominantide osakaal ja sõltumatuteks muutujateks paiknemine, ala tüüp, puuliik ning paiknemise ja ala tüübi koosmõju. Juhusliku faktorina kaasati ala number.

Selleks, et analüüsida, kas dominantide liigid erinevad eri tüüpi aladel ja sõltuvalt puu paiknemisest, kasutati R paketti *indicspecies* funktsiooni *multipatt* (Multi-level pattern analysis). Funktsioon võrdleb, kas erinevates ette antud gruppides on OTU-sid, mis iseloomustaks just seda gruppi. Analüüsis võeti iga proovi kolme kõige suurema sekventsides arvuga OTU-t (3 dominant) ning kui OTU oli antud proovis kolme kõige suurema sekventsides arvuga OTU seas sai see väärtuseks 1, kui OTU polnud kolme kõige domineerivama OTU seas sai see väärtuseks 0. Iga proovivõtu ala sees liideti kokku sama puuliigi ja paiknemisega proovide OTU-d. Näiteks kui OTU oli kolme kõige domineerivama liigi seas mõlemal servas asetseval männil, siis sai see väärtuseks 2. Kui OTU esines dominantina ainult ühel serval asetseval männil sai ta väärtuseks 1. Analüüsis kasutati gruppideks ala tüüp-puuliik-paiknemine kombinatsioone. Kuna selliste gruppide puhul ei õnnestunud gruppi defineerivaid OTU-sid eristada, tehti analüüsid seejärel tüüp-puuliik kombinatsioonidega (paiknemist eristamata).

2.5.3 Indikaatorliigid

Indikaatorliikide analüüsiga sooviti näha, kas leidub liike, kes oleksid iseloomulikud just kontrollaladele (st mida võib pidada tundlikuks fragmenteerumisele ja servamõjudele). Selleks kasutati samuti R paketti *indicspecies* funktsiooni *multipatt*. Grupidena kasutati ala tüüp – puuliik kombinatsiooni. Analüüsi kaasati kõik proovides leiduvad puidusaprotoofid (FungalTraitsi andmebaasi määratlus). Analüüsi sisendina kasutati iga OTU sekventside osakaalu kogu proovist, mis indikeerib OTU rohkust antud proovis. Sarnaselt dominantide analüüsile võeti kokku sama ala piires sama puuliigi ja paiknemisega proovide andmed ning OTU-de osakaalud keskmistati. Sama liiginimega OTU-d liideti. Indikaatorliikide analüüsi tulemustes arvestati indikaatorliikidena neid liike, mille puhul analüüsi p väärtus on alla 0,05 ja liik esines vähemalt 10 proovis.

2.5.4 Kooslused

Koosluste analüüsi eesmärgiks oli näha, kas kooslused erinevad sõltuvalt ala tüübist ja proovipuu paiknemisest. Selleks kasutati R paketti *vegan*. Koosluste analüüsiks võeti kokku ja keskmistati sarnaselt dominantide osakaalu analüüsile ja indikaatorliikide analüüsile alade kaupa sama paiknemise ja puuliigiga puude OTU-de osakaalud. Igale proovile arvutati „bray-curtise“ erinevusindeks. Saadud tulemust kasutati sisendiks *metaMDS* funktsioonile (Nonmetric Multidimensional Scaling with Stable Solution from Random Starts, Axis Scaling and Species Scores), mis tekitas proovidest sarnasuse alusel andmepilve kolmel teljel. Sama erinevusindeksit kasutati sõltuva muutujana ka PERMANOVA analüüsis (funktsioon *adonis*: Permutational Multivariate Analysis of Variance Using Distance Matrices), kus sõltumatuteks muutujateks olid paiknemine, ala tüüp, puuliik, valgus ja ala tüübi ning puuliigi koosmõju.

2.5.5 Ohustatud liigid ja taimepatogeenid

Järgnevalt uuriti, kas ohustatud liikide või taimepatogeenide esinemine sõltub ala tüübist või proovipuu paiknemisest. Ohustatud liikidena käsitleti liike, kes Eestis või mõnes Fennoskandia riigis on hinnatud ohulähedaseks (NT), ohualtiks (VU), või

väljasuremisohus (EN) või kriitilises seisundis (CR) olevaks (Runnel *et al.*, 2021; Artdatabanken 2020). Taimepatogeenidena käsitleti liike, kes FungalTraits andmebaasi järgi olid esmase või sekundaarse elustiili järgi taimepatogeenid. Analüüsid olid sarnased liikide arvu analüüsiga, kuid algandmetesse olid kaasatud vaid ohustatud liikide või taimepatogeenide OTU-d. Analüüsiks kasutati taas üldistatud lineaarseid segamudeleid. Selle abil vaadeldi liikide arvu (ohustatud või patogeenseid liike esindavate OTU-de arv tüvel) sõltuvust ala tüübist, proovipuu paiknemisest; puuliigist; kõduastmest; koguvalgusest; logaritmitud sekventsides arvust tüve kohta; paiknemise ja ala tüübi koosmõjust ning puuliigi ja kõduastme koosmõjust. Koefitsientide võrdlemiseks kõik pidevad muutujad standardiseeriti. Juhusliku faktorina oli kaasatud ala number.

2.6. Töö autori roll

Alade valim koostati magistritöö katusprojekti raames juhendaja ja töörühma poolt. Töö autor viis läbi kõik välitööd (sh proovide kogumine ja taustaandmete mõõtmine). Seejärel viis töö autor kaasjuhendaja Heidi Tamme juhendamisel läbi kõik laboratoorsed tööd (sh DNA eraldamine ja PCR-id) ja bioinformaatika. Viimaseks töö etapiks oli andmeanalüüs ja tulemuste interpreteerimine, mille töö autor viis läbi juhendaja Kadri Runneli juhendamisel.

3. Tulemused

251 puiduproovist tuvastati kokku 1846 OTU-t, mis esindasid seeni. Nendest 330 olid puidusaprotoofid. Keskmiselt oli ühes proovis 32 erinevat OTU-t (maksimaalselt 114 ja minimaalselt 4 erinevat OTU-t). Kõige sagedamini esines proovides järgmiseid liike: saprotoof *Malassezia restricta* (164 proovis), määramata seeneliik *Fungi* sp. (117 proovis) ja liik sugukonnast *Lipomycetaceae* (116 proovis). Kolm kõige sagedasemat puidusaprotoofi olid kuusekorgik (*Antrodia serialis*; 53 proovis), kännupess (*Fomitopsis pinicola*; 47 proovis) ja liik perekonnast *Peniophorella* (39 proovis).

3.1 Liigirikkus

Esimese analüüsietapi põhjal kaasati puutüve kirjeldavatest tunnustest edasisesse liigirikkuse analüüsisse vaid puuliik, kõduaste ja koguvalgus (Tabel 3).

Teises analüüsietapis selgus, et seosed liigirikkuse ja ala tüübi ning puutüve paiknemise vahel erinesid viljakates metsades ja männikutes. Kummaski metsatüübis ei tuvastatud, et seeneliikide arv lamatüvel erineks erinevat tüüpi aladel (Tabel 4). Siiski leiti, et viljakates metsades on keskmine seeneliikide arv kõige väiksem raieservades paiknevatel lamatüvedel ja keskmiselt kõige suurem kontrollalade servades (oluliselähedane paiknemise ja ala tüübi koosmõju $p=0,058$) (Joonis 4). Eriti tuli see välja just kuuskede puhul, mille puhul erinevused metsafragmentide ja kontrollalade OTU-de arvus on suuremad (Joonis 4). Männikute puhul sellist seost ei tuvastatud. Seevastu oli männikutes oluline kõduastme ja puuliigi koosmõju.

Liigirikkuse analüüsi viidi lisaks läbi ka koguvalguse tunnust kaasamata, kuna valgustingimused on üks servamõju komponent ning võiks seetõttu varjutada proovipuu paiknemise olulisust. See käsitlus aga proovipuu paiknemise olulisust ei mõjutanud. Valgustingimused uuritud raieservades olid ka väga ebaühtlased, eriti viljakates metsades (Joonis 5).

Tabel 3. Ühetunnuselised analüüsid. Puutüvesid iseloomustavad tunnused ja nende seos OTU-de arvuga viljakates metsades ja männikutes. Paksus kirjas on märgitud p väärtused <0,2.

	Viljakas mets		Männik	
	Chisq	p	Chisq	p
kõduaste ¹	2,03	0,154	1,55	0,213
diameeter ¹	0,04	0,843	1,38	0,241
tekkepõhjus ²	0,003	0,957	0,0006	0,981
puuliik ³	2,07	0,150	1,28	0,259
kontakt maaga ⁴	0,14	0,712	0,29	0,591
võra avatus ¹	0,65	0,420	0,16	0,692
koguvalgus ¹	1,86	0,173	0,003	0,958

¹Pidev tunnus

²Kahe tasemega kategooriline tunnus (tuuleheide vs. murd)

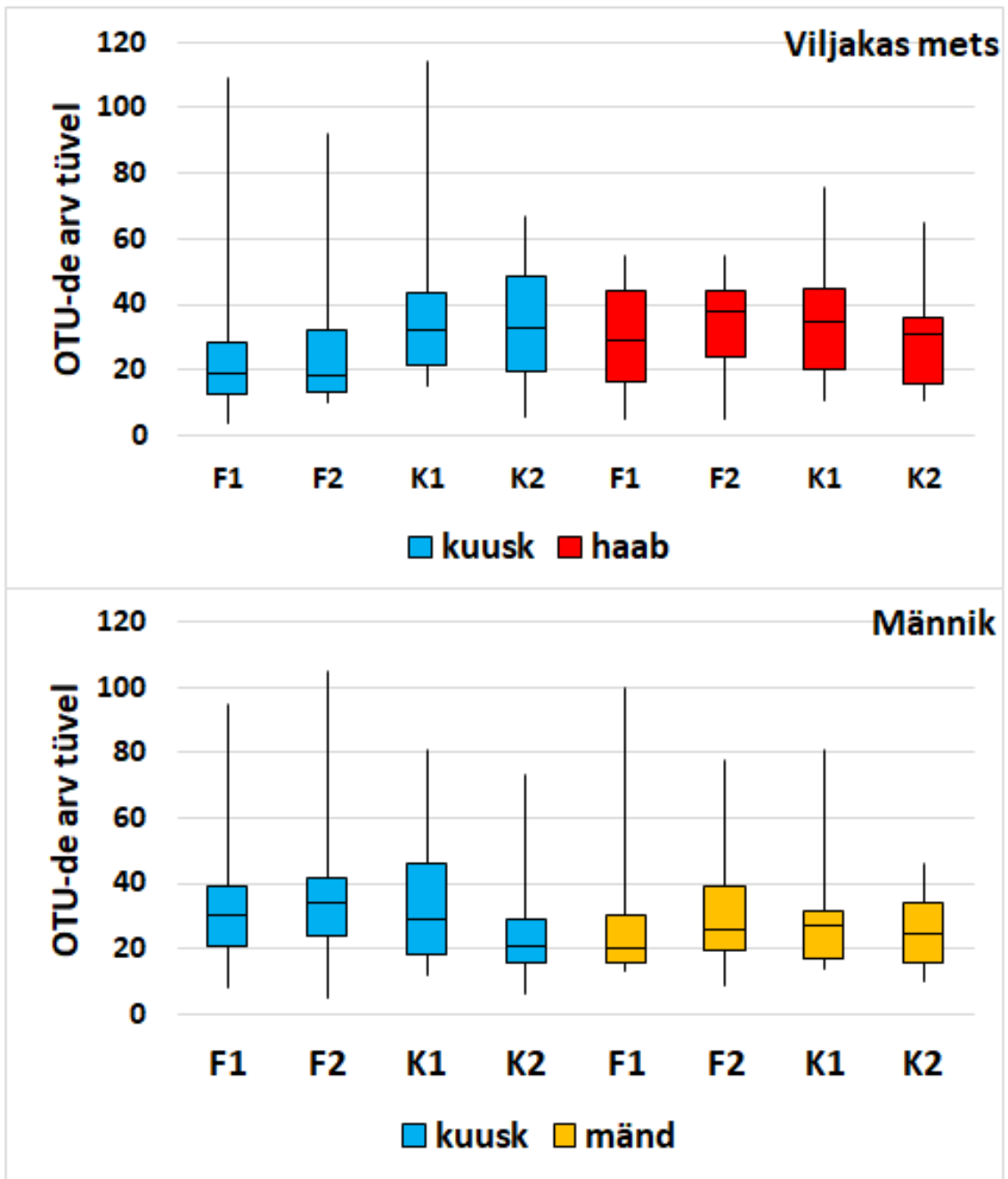
³Kolme tasemega kategooriline tunnus (mänd, kuusk ja haab)

⁴Kahe tasemega kategooriline tunnus (proovivõtu vahemikus kontakt maaga olemas või mitte)

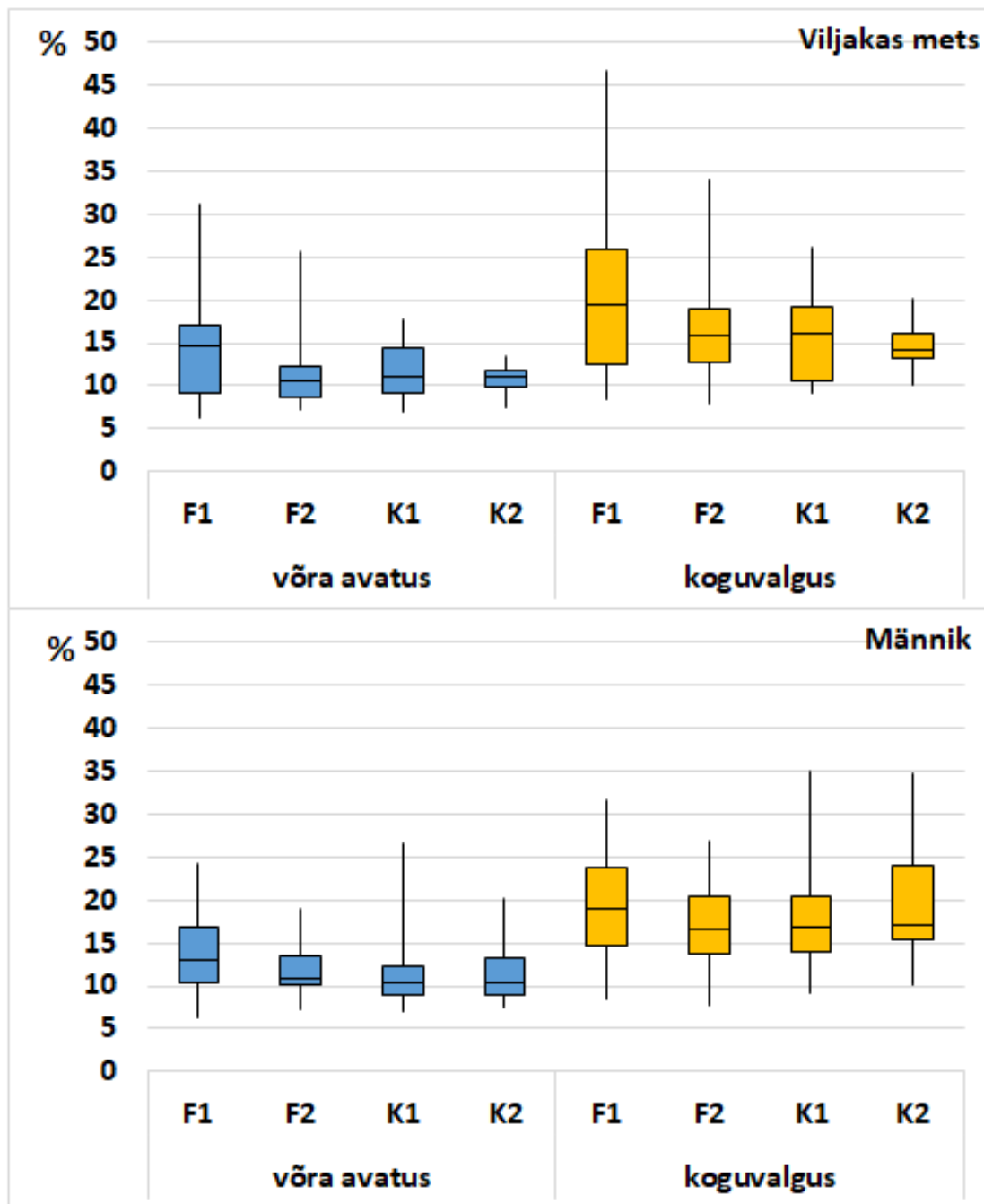
Tabel 4. Lineariseeritud segamudelid – liigirikkus. Liigirikkuse ja tüve omaduste ja ala tunnuste seosed.

	Viljakas mets		Männik	
	Chisq	p	Chisq	p
paiknemine	0,53	0,469	0,58	0,445
alatüüp	1,84	0,175	1,43	0,231
puuliik	1,05	0,306	0,35	0,557
kõduaste	2,63	0,105	1,82	0,177
koguvalgus	3,95	0,047*	0,04	0,841
log(sekventsia arv)	45,33	<0,001 ***	7,58	0,006**
paiknemine*ala tüüp	3,61	0,058.	0,98	0,322
puuliik*kõduaste	1,17	0,279	5,28	0,022*

Olulisuse tähised: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1



Joonis 4. OTU-de arv puutüvedel sõltuvalt ala tüübist, tüve paiknemisest alal ja puuliigist. Keskmine joon näitab mediaani ja kastid ülemist ja alumist kvartiili. Vurrude tipud näitavad maksimumi ja miinimumi. F1 –metsafragmendi serv, F2 – metsafragmendi siseosa, K1 – kontrollala serv, K2 – kontrollala siseosa.



Joonis 5. Valgustingimuste jaotus tüve paiknemise ja ala tüübi järgi. Y-teljel on võra avatuse ja koguvalguse protsent (*Canopy Openness %* ja *Trans Total %*). Keskmine joon näitab mediaani ja kastid ülemist ja alumist kvartiili. Vurrude tipud näitavad maksimumi ja miinimumi. F1 – metsafragmendi serv, F2 – metsafragmendi siseosa, K1 – kontrollala serv, K2 – kontrollala siseosa.

3.2 Dominantide osakaal ja liigid

Analüüsid ei tuvastanud, et dominantide osakaal uuritud puutüvedes sõltuks oluliselt ala tüübist, puutüve paiknemisest või teistest analüüsi kaasatud kirjeldavatest muutujatest (Tabel 5). Ei tuvastatud ka, et dominantsed liigid oleksid erinevates uuringuala tüüpides erinevad. Kolm kõige sagedasemat dominantide liiki (kõige suurema sekventsidi osakaaluga OTU-t), olid *Malassezia restricta* (43 proovis kolme suurima sekventsidi osakaaluga OTU seas), sugukonna *Lipomycetaceae* liik (tuvastatav ainult sugukonna tasemeni) (34 proovis) ja kuusekorgik (*Antrodia serialis*) (24 proovis).

Tabel 5. Lineariseeritud segamudelid – dominantide osakaal. Dominantsete liikide osakaalu seos proovipuu paiknemise ja liigi ning ala tüübiga.

Viljakas mets	Männik	
	Chisq	p
paiknemine	0,004	0,952
alatüüp	0,06	0,807
puuliik	0,87	0,351
alatüüp*puuliik	0,08	0,778

3.3 Kooslused

Nii viljakates metsades kui männikutes osutusid sõltumata ala tüübist ja proovipuu asukohast kõige sagedasemateks seeneliikideks *Malassezia restricta* (vastavalt 78 ja 86 proovis), sugukond *Lipomycetaceae* esindaja (60 ja 56 proovis) ja tuvastamatu seen (58 ja 59 proovis). Kõige sagedasemad puidusaprotoofid viljakates metsades olid kännupess (*Fomitopsis pinicola*) (27 proovis), kuusekorgik (*Antrodia serialis*) (25 proovis) ning haavatarjak (*Oxyporus corticola*) (21 proovis). Kõige sagedasemad puidusaprotoofid männikutes olid kuusekorgik (*Antrodia serialis*) (28 proovis), *Eupezizella aureliella* (23 proovis) ning kännupess (*Fomitopsis pinicola*) (20 proovis). Nii mändide, haabade kui ka kuuskede kõige sagedasemaks seeneks oli *Malassezia restricta* (vastavalt 46, 31 ja 87 proovis). Kuuskede seeneliigid ei erinenud viljakates metsades ja männikutes. Mõlemas metsatüübis olid kõige sagedasemad puidusaprotoofid kuuskedel kännupess (*Fomitopsis pinicola*) (viljakas metsas 22, männikutes 14 proovis), kuusekorgik (*Antrodia serialis*) (mõlemas metsatüübis 22 proovis) ja perekond *Peniophorella* esindaja (viljakas metsas 16, männikutes 12 proovis). Mändide puhul oli kõige sagedasemateks puidusaprotoofi-

ohustatud liik lõhetumak (*Rhodonia placenta*) (11 proovis). Haabade puhul oli kõige sagedasemaks puidusaprotoofiks haavatarjak (*Oxyporus corticola*) (14 proovis).

Koosluseanalüüsides selgus, et uuritud lamapuude seeneliikide kooslused erinesid oluliselt metsafragmentidel ja kontrollaladel, kuid seda vaid viljakates metsades. Männikutes sellist mustrit ei esinenud (Joonis 6 ja 7, Tabel 6). Samas servades ja siseosas paiknevate tüvede kooslused ei eristunud. Lisaks selgus, et ootuspäraselt eristuvad ka erinevate puuliikide seenekooslused.

Tabel 6. PERMANOVA analüüs. Seenekoosluste erinevused uuritud puutüvedel sõltuvalt puuliigist, tüve paiknemisest alal ja ala tüübist viljakates metsades ja männikutes.

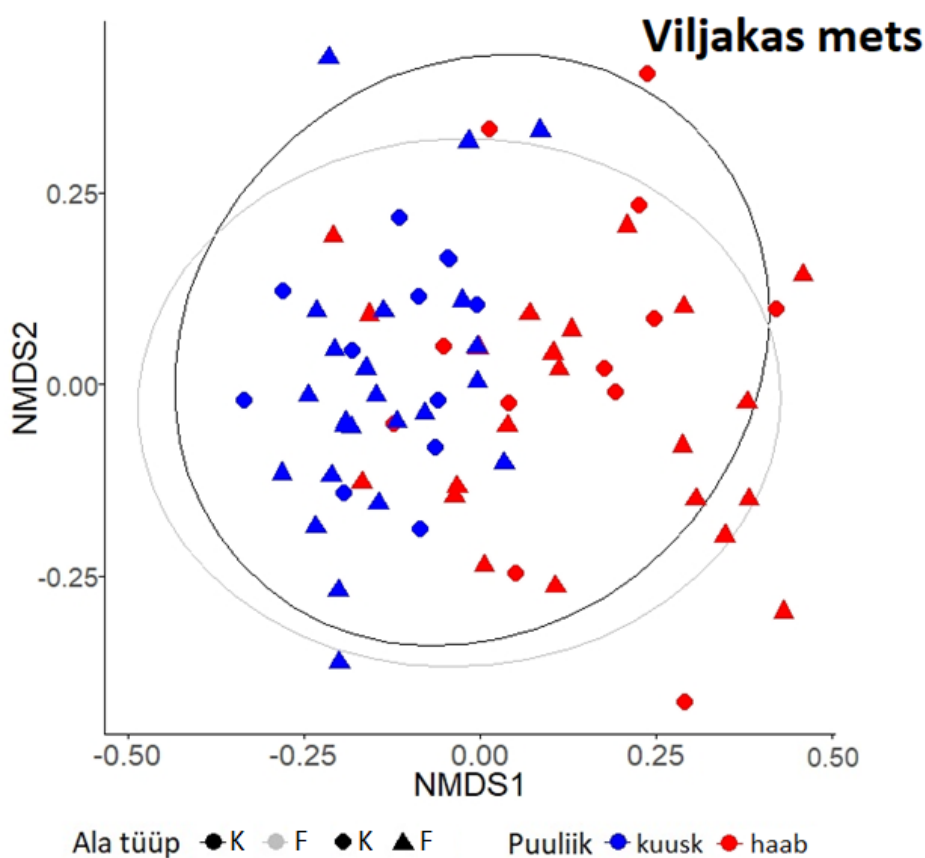
Viljakas					
	df	SS	F	R ²	p
puuliik	1	1,30	2,95	0,04	<0,001***
paiknemine	1	0,43	0,97	0,01	0,555
ala tüüp	1	0,60	1,36	0,02	0,019*
puuliik*ala tüüp	1	0,56	1,28	0,02	0,042*
jääk	65	28,64		0,91	

Männik					
	df	SS	F	R ²	p
puuliik	1	0,85	1,97	0,03	<0,001***
paiknemine	1	0,37	0,86	0,01	0,831
ala tüüp	1	0,41	0,96	0,01	0,567
puuliik*ala tüüp	1	0,37	0,85	0,01	0,827
jääk	60	25,80		0,93	

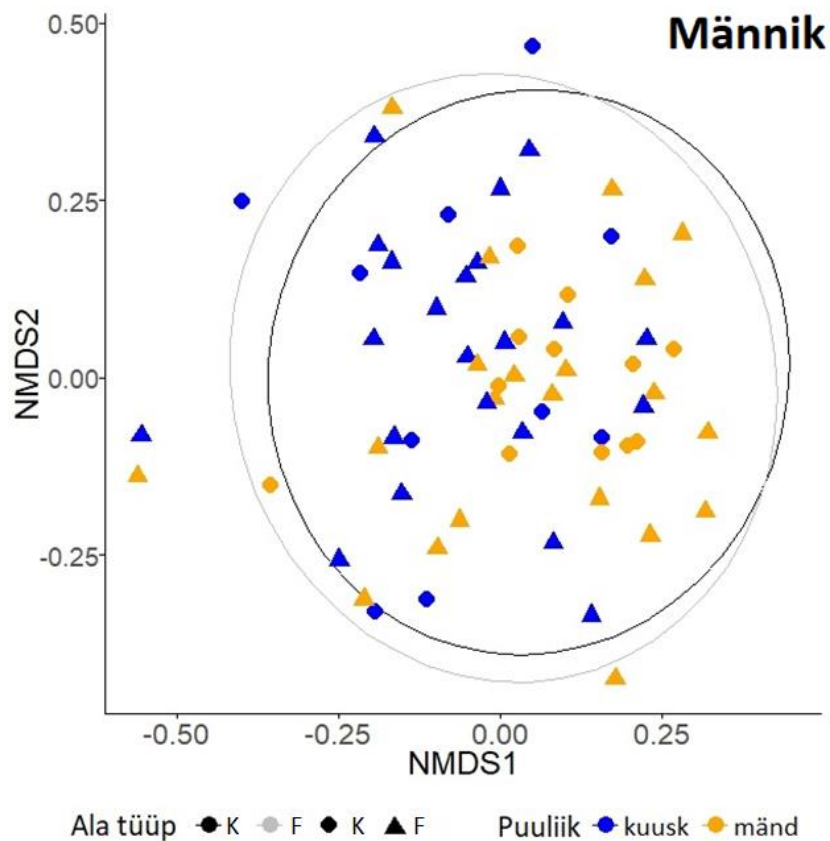
Olulisuse tähised: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Neid mustreid illustreeris ka NMDS analüüs (Joonis 6 ja 7). Jooniselt on näha, et kontrollalade puutüvedel on kooslused omavahel sarnasemad kui metsafragmentides, st kontrollalade seenekooslused paiknevad ordinatsiooniruumis rohkem koondunult kui metsafragmentide kooslused. Erinevate puuliikide seenekooslustele paistab piirnev raie avaldavalt erinevat mõju: männi puhul paiknevad kontrollalade kooslused ordinatsiooniruumis rohkem koondunult kui metsafragmentides, kuid männikute kuuse seenekooslustel sellist mustrit ei paista. Viljakate metsade kuuskede kontrollalade seenekooslused on omavahel sarnasemad kui fragmentide omad. Haabadel mustrit ei esinenud.

Indikaatorliikide analüüsi põhjal osutusid kontrollalade mändide indikaatorliikideks üks perekond *Aphanobasidium* ($p=0,046$) esindaja ja ohustatud torikseeneliik lõhetümak (*Rhodonina placenta*) ($p=0,016$). Kontrollalade mändide ja haabade ühiseks indikaatorliigiks osutus perekonda puiduharik kuuluv liik *Lentaria afflata* ($p=0,025$). Raiealadel paiknevate mändide indikaatorliigiks osutus kuusekõbjuk *Trichaptum abietinum* ($p=0,009$) ning haabade indikaatorliikideks haavataelik (*Phellinus tremulae*) ($p=0,020$) ning roostepruun padjandsüsik (*Hypoxylon rubiginosum*) ($p=0,004$).



Joonis 6. NMDS analüüs viljakas metsas. Seenekoosluste paiknemine ordinatsiooniruumis eri puuliikidel viljakates metsades. Puuliigid on kujutatud värvadena, ala tüüp sümboliga. Ovaal on 95% usalduspiirid ala tüübi tsentroidide ümber. K–kontrollala, F– metsafragment



Joonis 7. NMDS analüüs männikus. Seenekoosluste paiknemine ordinatsiooniruumis eri puuliikidel männikus. Puuliigid on kujutatud värvadena, ala tüüp sümboliga. Ovaal on 95% usalduspiirid ala tüübi tsentroidide ümber. K–kontrollala, F– metsafragment.

3.4 Ohustatud liigid

Puiduproovidest tuvastati kokku 33 ohustatud liiki. Kõigi proovide peale kokku esines selliseid liike 113 korral kokku 79 proovipuul. Kaks kõige sagedasemat ohustatud liiki olid hambune sistotreem (*Sistotrema raduloides*) (28-s proovis) ja lõhetümak (*Rhodonia placenta*) (22-s proovis) (Tabel 7). Ohustatud liikide analüüsist ei nähtu, et ohustatud liike oleks märkimisväärselt rohkem kontrollaladel ja vähem metsafragmentides (Tabel 8). Ohustatud liike esines 33% kontrollalade proovipuudest ja 28%-s metsafragmentide proovipuudest. Ei saa ka väita, et ohustatud liikide arv oleks kontrollalade puudes suurem: kontrollaladel oli keskmiselt 0,56 ohustatud liiki proovipuul, metsafragmentides oli 0,39 ohustatud liiki proovipuul, need erinevused ei ole statistiliselt olulised, ehkki viljakates metsades oli seos oluliselähedane ($p=0,053$).

Tabel 7. Ohustatud liikide jaotus lamatüve paiknemise ja ala tüübi vahel.

liigi nimi	leidude (puutüvede) arv	leidude arv kontrollaladel (serv/siseosa)	leidude arv metsafragmentides (serv/siseosa)
<i>Sistotrema raduloides</i>	28	5/3	11/9
<i>Rhodonía placenta</i>	22	4/8	4/6
<i>Deviodontia pilaecystidiata</i>	8	1/3	3/1
<i>Aporpium macroporum</i>	5	2/1	2/0
<i>Skeletocutis odora</i>	5	1/0	1/3
<i>Aleurodiscus amorphus</i>	3	0/1	0/2
<i>Amylocorticium subincarnatum</i>	3	1/2	0/0
<i>Ceriporiopsis aneirina</i>	3	1/1	1/0
<i>Crustoderma dryinum</i>	3	2/0	0/1
<i>Fomitopsis rosea</i>	3	2/1	0/0
<i>Skeletocutis chrysella</i>	3	1/0	1/1
<i>Antrodia gossypium</i>	2	0/0	0/2
<i>Hericium coralloides</i>	2	1/0	0/1
<i>Lycoperdon mammiforme</i>	2	1/0	0/1
<i>Plectania melastoma</i>	2	1/0	1/0
<i>Polyporus umbellatus</i>	2	1/0	1/0
<i>Pseudomerulius aureus</i>	2	0/1	0/1
<i>Amylocystis lapponica</i>	1	1/0	0/0
<i>Antrodia piceata</i>	1	0/1	0/0
<i>Artomyces pyxidatus</i>	1	0/0	1/0
<i>Dentipellis fragilis</i>	1	0/1	0/0
<i>Ganoderma lucidum</i>	1	0/0	0/1
<i>Gloeoporus pannocinctus</i>	1	0/0	0/1
<i>Hyphodontia latitans</i>	1	0/0	1/0
<i>Inocutis rheades</i>	1	0/0	1/0
<i>Leptoporus mollis</i>	1	0/0	0/1
<i>Peniophora quercina</i>	1	0/0	1/0
<i>Perenniporia subacida</i>	1	1/0	0/0
<i>Phellinidium ferrugineofuscum</i>	1	0/0	0/1
<i>Phellopilus nigrolimitatus</i>	1	0/0	0/1
<i>Skeletocutis kuehneri</i>	1	0/0	0/1
<i>Xenasma pruinosum</i>	1	0/0	1/0

Tabel 8. Lineariseeritud segamudelid – ohustatud liigid. Ohustatud liikide arvu ja tüveomaduste ja ala tunnuste seosed.

Viljakas mets	Männik	
	Chisq	p
paiknemine	0,13	0,716
alatüüp	3,76	0,053.
puuliik	0,09	0,761
kõduaste	0,39	0,532
koguvalgus	0,23	0,630
log(sekventside arv)	0,12	0,727
paiknemine*ala tüüp	0,07	0,787
puuliik*kõduaste	0,36	0,549

Olulisuse tähised: 0 ‘****’ 0.001 ‘***’ 0.01 ‘**’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

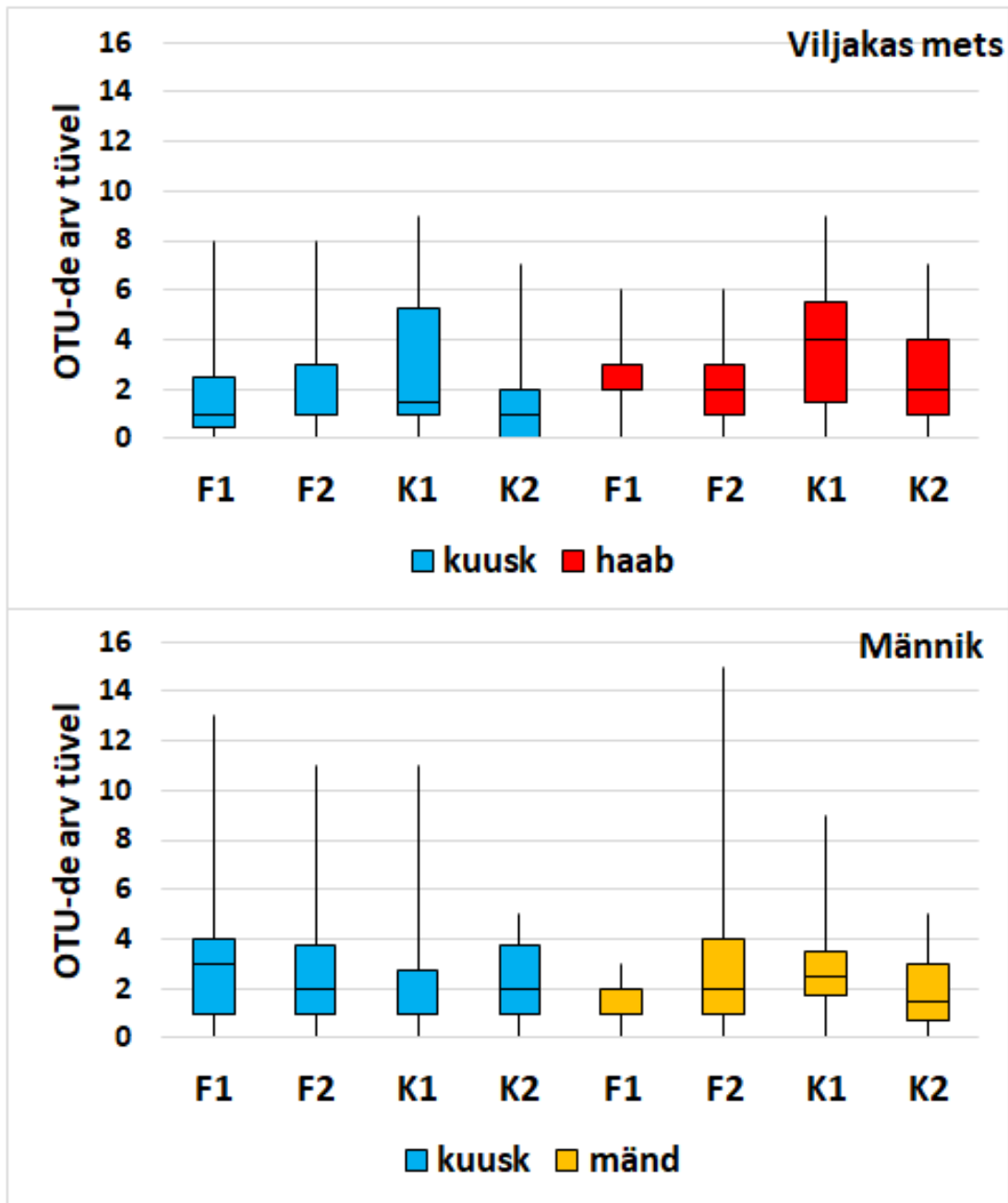
3.5 Taimepatogeenid

Kokku oli erinevaid taimepatogeene proovides 155. Kolm kõige sagedasemat taimepatogeeni olid üks perekonda *Cladosporium* kuuluv hallitusseen (56 proovis), jänesvaabik (*Ganoderma applanatum*) (31 proovis) ja *Didymella exigua* (30 proovis). Analüüs ei näidanud, et proovipuu paiknemine või ala tüüp mõjutaks taimepatogeenide arvukust lamatüves (Tabel 9). Keskmiselt oli viljakate metsade raietega piirnevatel aladel 2,15 taimepatogeeni OTU-t tüve kohta (ala servas 2,07 OTU-t ja ala siseosas 2,23 OTU-t) ja kontrollaladel keskmiselt 2,88 OTU-t tüve kohta (ala servas 3,45 OTU-t ja ala siseosas 2,28 OTU-t). Männikutes oli keskmiselt raietega piirnevatel aladel 2,86 taimepatogeeni OTU-t tüve kohta (ala servas 2,76 OTU-t ja ala siseosas 2,93 OTU-t) ja kontrollaladel 2,43 OTU-t tüve kohta (ala servas 2,91 OTU-t ja ala siseosas 1,95 OTU-t). Patogeenseid liike oli tüvedel üldiselt vähe ning ühtseid kindlaid mustreid hajuvuses on raske välja tuua, kuid viljakate metsade puhul paistab, et taimepatogeenide liikide arv tüvel on kontrollaladel varieeruvam kui raietega piirnevatel aladel (Joonis 8). Männikutes paistab aga, et tüved raietega piirnevatel aladel on liikide arvult varieeruvamad. Kõige väiksem varieeruvus liikide arvus oli mändidel metsafragmentide servas, samas kui kõige suurem varieeruvus liikide arvus oli mändidel metsafragmentide siseosas.

Tabel 9. Lineariseeritud segamudelid – taimepatogeenid. Taimepatogeenide OTU-de arvu ja tüve omaduste ja ala tunnuste seosed.

	Viljakas mets		Männik	
	Chisq	p	Chisq	p
paiknemine	0,10	0,757	0,03	0,864
alatiüp	1,38	0,240	<0,01	0,987
puuliik	2,52	0,112	<0,01	0,995
kõduaste	0,03	0,865	<0,01	0,968
koguvalgus	5,95	0,015*	0,13	0,721
log(sekventsideside arv)	14,59	<0,001***	0,23	0,631
paiknemine*ala tüüp	1,83	0,176	0,89	0,345
puuliik*kõduaste	0,08	0,783	3,89	0,049*

Olulisuse tähised: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1



Joonis 8. Taimepatogeenide OTU-de arv puutüvedel sõltuvalt ala tüübist, tüve paiknemisest alal ja puuliigist. Vurrude tipud näitavad maksimum ja miinimum OTU-de arvu tüvel. Keskmise joone näitab mediaani ja kastid näitavad ülemist ja alumist kvartiili. F1 – metsafragmendi serv, F2 – metsafragmendi siseosa, K1 – kontrollalade serv, K2 – kontrollalade siseosa.

4. Arutelu

Käesolevas töös tuvastati metsafragmentide lamatüvedest molekulaarsete meetodite abil mitmeid puiduseeni, sh ohustatud liike. Samas ei tuvastanud, et metsafragmentide lamatüvedes oleks vähem puiduseene liike või ohustatud liike kui kontrollalade (suured metsaalad) lamatüvedes. Ei leitud ka, et taimepatogeene oleks raietega piirnevates metsafragmentides rohkem kui kontrollaladel. Metsafragmentide lamatüvedes ei saavutanud dominantsed liigid suuremat osakaalu kui kontrollaladel ning ka domineerivad liigid ei erinenud. Küll aga leidsime, et viljakates metsades erinevad seenekooslused raietega piirnevatel aladel oluliselt kontrollalade seenekooslustest.

4.1 Puiduseened metsafragmentide lamapuudel

Leitud liikide arv on suur võrreldes varasemate molekulaarselt tuvastatud puiduseente töödega. Kokku õnnestus tuvastada 1846 seene OTU-t, mida on 36 ala ja 251 proovi kohta palju. Keskmiselt oli ühes proovis 32 erinevat OTU-t (maksimaalselt 114 ja minimaalselt 4 erinevat OTU-t). Näiteks Saksamaal vaadeldi 9 ala peale kokku 48 lamatüve (hariliku kuuse ja hariliku pöögi (*Fagus sylvatica*) tüved), kust saadi 779 erinevat seene OTU-t (minimaalselt 17 ja maksimaalselt 102 erinevat OTU-t) (Hoppe *et al.*, 2016). Teises Saksmaal tehtud töös vaadeldi 11 eri puuliiki kokku 27 alal. 297 proovi kohta tuli kokku 1254 erinevat OTU-t (Purahong *et al.*, 2018). Erinevates töödes raporteeritud OTU-de arvu võrdlemisel tuleb tähele panna ka sekvenerimismeetodit. Käesolevas töös kasutati PacBio meetodit. Selle meetodi eeliseks on võimekus sekvenerida pikemaid sekventse, mis omakorda võimaldab täpsemaid määranguid. Puuduseks (nt võrreldes Illumina sekvenerimisega) on aga väiksem sekvnereerimissügavus, mille tõttu tuleb proovidest välja vähem erinevaid liike (Mahmoud *et al.*, 2019). Illumina sekvenerimisega näiteks saadi Saksamaal 41 proovi kohta (erinevat 13 puuliiki) umbes 3000 erinevat OTU-t (Leonhardt *et al.*, 2019). Samuti, mida rohkem on erinevaid puuliike valimis, seda suurem on ka erinevate seeneliikide arv, kuna erinevatel puuliikidel on erinevad seeneliigid (Heilmann-Clausen *et al.*, 2005). Viljakehade põhjal tehtud uuringutes on liikide arv aga veel madalam, kuid sõltub ka oluliselt sellest, milliseid liigirühmasid on vaadatud (Rajala *et al.*, 2010). Tihtipeale keskendutakse viljakehade uuringul ainult torikseentele. Lisaks sõltub tuvastatud seeneliikide arv nii molekulaarsetel kui ka

viljakehade põhjal valimi suurusest, geograafilisest asukohast, puuliigist, kõduastmest ning paljudest teistest uuringu ning proovipuude iseärasustest.

4.2 Puiduseente kooslused metsafragmentides

Töös tuvastati, et viljakates metsades eristuvad metsafragmentid suurtest metsaaladest puiduseente koosluste poolest. Kuna kooslused ei erinenud ala servades siseosa kooslustest, võib see tähendada, et uuritud metsafragmentides olid seenekooslused kogu fragmendi ulatuses piirnevast raie mõjutatud. Sellisele mustrile viitavad ka metsafragmentide struktuuri mõõtmised, mis teostati sama projekti raames. Nimelt leiti selliste mõõtmiste käigus, et viljakates metsafragmentides on üldiselt hõredam ülarinne ja suurem puhmarinde katvus kui sama metsatüübi suurtel metsaaladel (Runnel *et al.*, 2022). Kui varasemalt on räägitud, et servad mõjutavad metsakooslusi u 50 m ulatuses metsa sisemuse poole (Ylisirniö *et al.*, 2016), siis meie tulemuste põhjal võib arvata, et puiduseente koosluste puhul on vähemalt viljakates metsades servamõju ulatus suurem. Nimelt oli antud töös siseosa puud metsafragmentide servast keskmiselt umbes 70-80 m kaugusel. Sellest omakorda võib järeldada, et viljakates metsades ei kaitse väikesed metsafragmentid puiduseeni efektiivselt. Lisaks on kontrollalade kooslused omavahel sarnasemad ja metsafragmentides on varieeruvus oluliselt suurem. Seega ei saa ka ennustada, millisesse suunda seenekooslused peale raie piirnevas metsas muutuma hakkavad.

Männikutes ülalkirjeldatud koosluste mustrit ei tuvastatud. Seda, et männikutes erinevusi ei olnud või põhjendada sellega, et männikud on looduslikult hõredamad. Seetõttu muudab servas paiknev männikute keskkonnatingimusi vähem kui tihedamates viljakates metsades, sest servefekt on seda suurem, mida erinevam on piirnev ökosüsteem (Aragón *et al.*, 2015). Teiseks võib koosluste erinevuste puudumist männikutes seletada sealse häiringurežiimiga, mis erineb viljakate metsade omast. Nimelt on männikutes olevad seeneliigid evolutsiooniliselt kohastunud järskude häiringutega metsatulekahjude näol. Viljakates metsade seeneliikidele pole sellist järsu häiringuga kohanemise valikusurvet evolutsiooniliselt varem esinenud (Stokland ja Larsson, 2011). Sarnaselt metsapõlengutele on ka lageraiet järsud häiringud piirnevale metsakooslusele. Seega võivad männikutes olevad seened tulla raiega paremini hakkama kui viljakate metsade

seened. Sarnase tulemuseni jõuti ka Soomes, kus torikseente viljakehade uurimisel nähti, et metsamajandus mõjub kuuskedega seotud seeneliike oluliselt tugevamalt kui mändidega seotud torikseente liike (Penttilä *et al.*, 2006).

Indikaatorliigina tuli kontrollalade mändidel välja ohustatud liik lõhetümak (*Rhodonia placenta*), mida nii Eestis kui mujal kasutatakse põlismetsa indikaatorliigina (Saar *et al.*, 2007; Ruokolainen *et al.*, 2018). Kuna liik tuli indikaatoriks just kontrollaladel, siis viitab ka see asjaolule, et kontrollaladel on põlismetsa tunnused ning väiksemates metsafragmentides on omadused nii palju muutunud, et põlismetsa indikaatorliigid neid ei iseloomusta.

4.3 Puiduseente liigirikkus, dominantsussuhted ja ohustatud liigid metsafragmentides

Minu töö tulemuste põhjal puiduseente liigirikkus, dominantsussuhted ja ohustatud ning patogeensed liigid metsafragmentide servades ja siseosades, ega ka üldiselt metsafragmentide ja kontrollalade vahel ei erinenud. Samas selgus, et sarnaselt ülalkirjeldatule võis ka nendes aspektides puiduseente vastus piirnevale raietele erineda metsatüübiti. Männikutes ei eristunud raieservaga piirnevad alad liigirikkuselt, dominantliikide või nende arvukuse ega ohustatud ning patogeensete liikide arvu poolest kontrollaladest. Viljakates metsades ei eristunud raieservaga piirnevad alad kontrollaladest dominantliikide ega ohustatud ning patogeensete liikide või nende arvukuse poolest, kuid tuvastati oluliselähedane seos liigirikkuse ja uuritud lamatüve asukoha vahel (paiknemise ja ala tüübi koosmõju). See seos vajaks edasist uurimist. Erinevus paistis eriti silma kuuskede puhul: kuuse lamatüvedel oli raietega piirevatel aladel keskmiselt vähem liike kui kontrollaladel. Sarnast mustrit ei märganud haabade puhul. Kuna haabasid oli valimis vähem, ei pruukinud liikide arv nii selgelt eristuda. Lisaks kuna haab on häiringuliik, siis võivad haabadega seotud liigid olla häiringutega rohkem harjunud ning raiel haava puiduseentele nii suurt mõju ei ole (Kivinen *et al.*, 2020).

Ülaltoodud tulemused erinevad mitmest varasemast tööst, kus on nähtud, et servaeffektidel on negatiivne mõju metsa servas olevate puiduseente liigirikkusele (Łuczaj ja Sadowska, 1997; Ruete *et al.*, 2017; Ruete *et al.*, 2016; Siitonen *et al.*, 2005). Erinevus võib olla

tingitud sellest, et need on tööd läbi viidud viljakehade vaatluste põhjal ning käsitlevad vaid kindlat rühma seeni, näiteks torikseeni või vanametsa indikaatorliike. Käesoleva töö raames käsitleti kõiki puidus olevaid seeni. Puidus võivad aga elada erineva niššiga seeneliike, kellele piirnev raie võib väga erinevalt mõjuda. Lisaks tulevad DNA sekveneerimisel välja liigid, kes on puidu sisse sattunud juhuslikult. Näiteks prosambliku (*Cladonia*) uurides leiti, et sambliku mükobiont oli tuvastatav üle 6 cm sügavusel tüve seest, ning kuna ei leitud tõestust, et seen võiks olla tüves vabalt elav, siis eeldati, et seen on sattunud tüvesse vee või putukate abil (Tuovinen *et al.*, 2015).

Põhjused, miks puiduseente liigirikkus, dominanditusseosed ega ohustatud liigid metsafragmentide servades ja siseosades, ega ka üldiselt metsafragmentide ja kontrollalade vahel ei erinenud võib jagada kolmeks:

(1) **Keskkonnatingimused.** Metsafragmentide servades olid väga varieeruvad keskkonnatingimused. Minu mõõtmised näitasid, et metsafragmentide servades on valgustingimused oluliselt varieeruvamad kui kontrollaladel. Mõned servad olid avatumad, kuid mõnel juhul oli serva kasvanud tihe võsa ja valgust oli vähem kui siseosas ning see sõltus nii raiest möödas olnud ajast kui ka servade majandamisvõtetest (nt kas piirnevas puistus oli tehtud valgustusraiet). Lisaks on servamõju tugevus sõltuv serva ilmakaarest (Chen *et al.*, 1995). Kuna Eestis on tuuled valdavalt lõuna- ja läänekaarest ning päikesevalgust rohkem lõunasuunast, siis on metsafragmentide lõunaservad haavatavamad keskkonnatingimuste muutustele ning ka servamõju on suurem. Antud töö valim ei võimaldanud servasid ilmakaarte järgi eristada, mis võis tekitada seletamata varieeruvust. Võib arvata, et servade keskkonnatingimuste varieeruvus kandus üle ka servade lamatüvesid asustavatele puiduseentele mistõttu puudusid ka selgesuunalised erinevused servade ja siseosade vahel. Kuid varieeruvust esines ka kontrollalade sees, kuna uuringus olid kontrollaladeks nii põlismetsas olevad alad kui ka varasema majandusmetsaga piirnevad metsad.

(2) **Varieeruvad seenekooslused** lamatüvedes (nt Baldrian *et al.*, 2016). Lisaks varieeruvatele keskkonnatingimustele võisid seenekooslusi mõjutada ka sellised tüve omadused, mida antud töös ei käsitletud. Antud töösse valiti küll võimalikult sarnaseid puutüvesid (sama puuliik, sarnane kõduaste ning diameeter), kuid lisaks nendele asjaoludele võivad seenekooslusi mõjutada ka näiteks tüve tihedus, niiskussisaldus ja

keemilised omadused (Rajala *et al.*, 2012). Veelgi enam: lisaks puutüvede füüsikalistele ja keemilistele omadustele mõjutavad seenekooslusi ka erinevad populatsioonimehhanismid. Näiteks võib seenekooslus puutüves sõltuda sellest, milline liik esimesena elupaiga hõivab ja dominantsi saavutab (De Meester *et al.*, 2016). Seente puhul on näidatud, et tihti saavutavadki lamatüves dominantsi üks liik või väike arv liike, mis seejärel läbi nišside hõivamise ja elukeskkonna muutmise mõjutavad teiste liikide võimalikkust tüve hõivata (Baldrian *et al.*, 2016).

(3) **Väljasuremisvõlg.** Varasemalt on näidatud, et puiduseentel võib väljasuremisvõlg kesta 100-150 aastat (Junninen ja Komonen, 2011). Antud töös vaadeldud raieservad olid 5-20 aastat vanad, ning uuritud lamatüved võisid eksisteerida juba enne raiet. Seetõttu võib olla, et ehkki peale raiet keskkonnatingimused muutusid, jäid mõned liigid raieeelsest ajast veel tüvedesse alles. Samas ei pruugi keskkonnatingimused raieservas neile liikidele enam sobida piisavalt, et viljakeha moodustada – sel juhul liigi edasist levikut tüvest ei toimu. Teiseks võivad DNA abil välja tulla ka liigid, kes alles hiljuti tüves on surnud, kuid kelle DNA on endiselt tüvest tuvastatav (Frøslev *et al.*, 2019).

4.4 Järeldused

Käesoleva magistritöö põhjal võib järeldada, et eriti viljaka kasvukohatüübi puhul ei pruugi metsafragmendid (väikesed vanametsakillud majandatud metsamaastikus) puiduseeni efektiivselt kaitsta. Seetõttu tuleks võimalusel vältida metsamassiivide tükeldamist väiksemateks fragmentideks. Samas on olemasolevad fragmendid väärtuslikud, kuna neid asustavad mitmed ohustatud puiduseened. Selliste seente kaitsmiseks tuleks otsida võimalust metsafragmentide pindala suurendamiseks, näiteks raiest kõrvale jäetavate puhveralade kaudu. Samas ei andnud töö vastust sellele, milline oleks puiduseente kaitsmiseks vajalik metsafragmendi suurus, seda tuleks täpsustada edasistes uuringutes.

Samuti selgus magistritöö põhjal, et edasistes molekulaarsete meetodite abil puiduseeni käsitlevates servauuringutes tuleks suure varieeruvuse tõttu kasutada suuremat valimit ning kaasata rohkem servade ning tüvede omadusi kirjeldavaid parameetreid. Lisaks oleks oluline teostada metsaservades kordusmõõtmisi (nt paari aasta tagant), et mõõta

liikide väljasuremisvõlaga. Võimalusel võiks andmetes veelgi paremini eristada ka erinevaid liigi- ja elustiili rühmasid seente hulgas, et välja selgitada, millised liigid on servamõju suhtes kõige tundlikumad.

Kokkuvõte

Metsade fragmenteerumine on üheks oluliseks metsade elurikkust ohustavaks teguriks ning fragmenteerumist põhjustab tänapäeval valdavalt metsa raie. Metsamassiividest fragmentidesse levimisel võib osutuda probleemiks metsamassiivi kaugus. Lisaks on metsade servad avatud teistsugusele kooslusele ning servade mikrokliimaatiliste muutuste tõttu muutuvad ka liigirikkus ning kooslused. Servades raie tõttu muutunud tingimused ei pruugi aga olla sobilikud samadele lamatüve seeneliikidele, kes samas tüves varasemalt hakkama said. Puiduseentel on võtmeroll metsaökosüsteemi ainerings, kuna nad oma elutegevuse käigus lagundavad surnud puidumassi. Sedakaudu muutuvad puitu ladestunud toitained taas teistele organismidele omastatavaks. Varasemalt pole palju teada, kuidas mõjutavad lageraiet piirnevate metsade puiduseente elurikkust ning kui kaugemale metsa sisse mõju võiks ulatuda. Magistritöö raames sooviti saada vastuseid küsimustele, kuidas erinevad puiduseente seenekooslused metsafragmentides võrreldes pideva vanametsamassiividega. Selleks uuriti, kuidas mõjutab fragmenteerumine puiduseente kooslusi (liigirikkust, dominantide osakaalu ja liigilist koosseisu) ning ohustatud ja patogeensete liikide hulka.

Töös vaadeldi kõiki lamatüvedes olevaid seeni kahes erinevas metsatüübis (viljakad metsad ja männikud) ning seente määramiseks kasutati DNA-d. Uuringus käsitleti kokku 251 lamatüve 36 uuringualal. Liigirikkuse analüüs ei näidanud, et kontrollalad või raietega piirnevate alade siseosad oleksid liigirikkamad kui metsafragmentide servad. Samuti ei leitud, et ohustatud liike oleks siseosades või kontrollalades oluliselt rohkem. Taimepatogeene ei olnud rohkem raietega piirnevas metsafragmentides. Ka dominantid ja nende osakaal ei erinenud ala tüüpide vahel. Küll aga oli näha, et viljakates metsades olid metsafragmentid ja kontrollalad seenekooslustelt erinevad. See viitab asjaolule, et raiete mõju võib ulatuda seni arvatust kaugemale metsa sisemuse poole ning vaadeldud aladel oli kogu metsafragment raiete poolt mõjutatud. Kuna erinevus esines ainult viljakates metsades, siis sõltub raie mõju ka metsa tüübist ning hõredamates ning häiringutega rohkem harjunud männikutes ei pruugi raie piirneval alal omada nii suurt mõju kui tihedamates viljakates metsades.

Põhjusteks, miks liigirikkuse analüüs ning dominantide, ohustatud liikide ja taimepatogeenide analüüsid ei näidanud raiete mõju võib tuua selle, et metsafragmentide

servad on keskkonnatingimustelt heterogeensed ning seetõttu on ka liigid tüvedes väga varieeruvad. Põhjuseks, miks servades ei tuvastatud vähem liike võib olla ka väljasuremisvõlg ning liigid ei ole servadest veel kadunud ning mõju on tuvastatav pikema ajavahemiku pärast. Lisaks võis probleemiks osutuda uuringu ülesehituse kitsaskohad või probleemid seente määramisel DNA abil.

Summary

Forest fragmentation is one of the major threats to forest biodiversity, and today it is predominantly caused by felling. The distance of the other forest areas can be a problem when spreading to the fragments. In addition, the edges of forests are open to a different ecosystem, and due to the microclimatic changes in the edges, species richness and communities also change. However, the conditions that have changed at the edges due to clear-cutting may not be suitable for the same fungal species that have previously survived in the same trunk. Deadwood-inhabiting fungi play a key role in the forest ecosystem, as they decompose dead wood during their lifetime. In this way, the nutrients deposited in the wood are re-absorbed by other organisms. It is not well-known how clear-cutting affects the biodiversity of deadwood-inhabiting fungi in adjacent forests and how far the edge effect could penetrate. In the framework of the master's thesis, we wanted to get answers to the questions of how the fungal communities of deadwood-inhabiting fungi differ in fragments compared to the continuous old forests. We wanted to see how fragmentation affects dead-wood fungal communities (species richness, proportion of dominants and species composition) and the number of endangered and pathogenic species.

In the study, all fungi in the trunks were observed in two different forest types (spruce-deciduous mixed and pine dominated forests) and DNA was used to determine the fungal identity. In total 251 trunks in 36 plots were studied. The species richness analysis did not show that the control areas or the core of the areas adjacent to the felling were more species rich than the edges bordering the clear-cuts. It was also not found that there were significantly more endangered species in the core or control areas. There were no more plant pathogens in forest fragments adjacent to felling. Dominants and their proportion did not differ between site types either. However, it could be seen that in the spruce-deciduous mixed forests the fragments adjacent to the clear-cuts and the control areas differed in the fungal communities. This suggests that the impact of clear-cuts may extend beyond the forest to a greater extent than previously thought, and that the entire fragment was affected by adjacent felling. As the difference occurred only in spruce-deciduous mixed forests, the effect of felling also depends on the type of forest, and in thinner and more disturbance tolerated pine dominated forests, the felling in the adjacent area may not have as great an effect as in denser forests.

The reasons why the analysis of species richness and the analyzes of dominant and endangered and pathogenic species did not show the effect of felling may be due to the fact that the edges of the areas adjacent to felling are heterogeneous in terms of environmental conditions and therefore the species are very variable. The reason why fewer species were not identified at the edges may also be due to extinction debt, and the species have not yet disappeared from the edges and the effects can be seen over a longer period of time. In addition, bottlenecks in the design of the study or problems with the detection of fungi by DNA could be a problem as well.

Tänuavaldused

Minu suurimad tänuavaldused lähevad juhendaja Kadri Runnelile, eks toetas nii nõu kui jõuga kogu töö vältel, välitöödest ja analüüsides töö lõpliku valmimiseni. Lisaks soovin ma tänada oma teist juhendajat Heidi Tamme, kes aitas ja nõustas töö laboratoorse osaga. Tänan ka inimesi mükoloogia laborist, kelle nõu oli hindamatu: Rasmus Puusepp, Leho Tedersoo, Vladimir Mikryukov, Sten Anslan, Kati Kungas ja Kadi Kutser. Tänan ka kogu looduskaitsebioloogia töörühma eriti Asko Lõhmust, Piret Lõhmust ja Liina Remmi. Tänan ka kõiki, kes mulle välitöödel tuge ja seltsi pakkusid.

Väli- ja laboritööde rahastus tuli RMK finantseeritud projektist "Kaitstavate metsafragmentide eesmärgipärasuse suurendamine". Rahastuse eest tänan ka Eesti Teadusagentuuri, IUT 34-7.

Kasutatud kirjandus

1. Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R. H., Kõljalg, U., 2020. UNITE general FASTA release for Fungi 2. UNITE Community. 10.15156/BIO/786369
2. Abrego, N., Halme, P., Purhonen, J., Ovaskainen, O., 2016. Fruit body based inventories in wood-inhabiting fungi: Should we replicate in space or time? *Fungal Ecology* 20, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.01.007>
3. Abrego, N., Salcedo, I., 2014. Response of wood-inhabiting fungal community to fragmentation in a beech forest landscape. *Fungal Ecology* 8, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.12.007>
4. Abrego, N., Salcedo, I., 2011. How does fungal diversity change based on woody debris type? A case study in Northern Spain. *Ekologija* 57, 109–119. <https://doi.org/10.6001/ekologija.v57i3.1916>
5. Anslan, S., Bahram, M., Hiiesalu, I., Tedersoo, L., 2017. PipeCraft: Flexible open-source toolkit for bioinformatics analysis of custom high-throughput amplicon sequencing data. *Molecular Ecology Resources* 17, e234–e240. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12692>
6. Aragón, G., Abuja, L., Belinchón, R., Martínez, I., 2015. Edge type determines the intensity of forest edge effect on epiphytic communities. *Eur J Forest Res* 134, 443–451. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0863-5>
7. Baker, S.C., Spies, T.A., Wardlaw, T.J., Balmer, J., Franklin, J.F., Jordan, G.J., 2013. The harvested side of edges: Effect of retained forests on the re-establishment of biodiversity in adjacent harvested areas. *Forest Ecology and Management* 302, 107–121. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.03.024>
8. Baldrian, P., Zrůstová, P., Tláškal, V., Davidová, A., Merhautová, V., Vrška, T., 2016. Fungi associated with decomposing deadwood in a natural beech-dominated forest. *Fungal Ecology* 23, 109–122. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.07.001>
9. Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., De Wit, P., Sánchez-García, M., Ebersberger, I., de Sousa, F., Amend, A., Jumpponen, A., Unterseher, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Bertrand, Y.J.K., Sanli, K., Eriksson, K.M., Vik, U., Veldre, V., Nilsson, R.H., 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. *Methods in Ecology and Evolution* 4, 914–919. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12073>
10. Berglund, H., Jonsson, B.G., 2008. Assessing the extinction vulnerability of wood-inhabiting fungal species in fragmented northern Swedish boreal forests. *Biological Conservation* 141, 3029–3039. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.09.007>
11. Boutin, C., Jobin, B., 1998. Intensity of Agricultural Practices and Effects on Adjacent Habitats. *Ecological Applications* 8, 544–557. <https://doi.org/10.2307/2641092>
12. Chen, J., Franklin, J., Spies, T., 1995. Growing-Season Microclimatic Gradients From Clearcut Edges Into Old-Growth Douglas-fir Forests. *Ecological Applications* 5. <https://doi.org/10.2307/1942053>

13. Christensen, M., Emborg, J., Hahn, K., Mountford, E.P., Ódor, P., Standovár, T., Rozenbergar, D., Diaci, J., Wijdeven, P., Meyer, P., Winter, S., Vrška, T., Heilmann-Clausen, J., Walley, R., Adamcik, S., 2005. Wood-inhabiting fungi as indicators of nature value in European beech forests. *Monitoring and Indicators of Forest Biodiversity in Europe-from Ideas to Operationality*. *EFI Proceedings* 51 51, 229–237.
14. Collingham, Y.C., Huntley, B., 2000. Impacts of Habitat Fragmentation and Patch Size Upon Migration Rates. *Ecological Applications* 10, 131–144. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0131:IOHFAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0131:IOHFAP]2.0.CO;2)
15. Davies-Colley, R., Payne, G.W., Elswijk, M., 2000. Microclimate gradients across a forest edge. *New Zealand Journal of Ecology* 24.
16. De Meester, L., Vanoverbeke, J., Kilsdonk, L.J., Urban, M.C., 2016. Evolving Perspectives on Monopolization and Priority Effects. *Trends in Ecology & Evolution* 31, 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.12.009>
17. Egger, K.N., 1995. Molecular analysis of ectomycorrhizal fungal communities. *Can. J. Bot.* 73, 1415–1422. <https://doi.org/10.1139/b95-405>
18. Frøslev, T.G., Kjølner, R., Bruun, H.H., Ejrnæs, R., Hansen, A.J., Læssøe, T., Heilmann-Clausen, J., 2019. Man against machine: Do fungal fruitbodies and eDNA give similar biodiversity assessments across broad environmental gradients? *Biological Conservation* 233, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.02.038>
19. Fu, L., Zhu, Z., Wu, S., Li, W., 2012. CD-HIT: Accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics (Oxford, England)* 28. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts565>
20. Gap Light Analyzer (GLA) . Frazer, G., Canham, C., & Lertzman, K. (1999). Gap light analyzer (GLA): Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour sheye photographs, users manual and program documentation. Burnaby: Simon Fraser University.
21. Grünig, B., Dale, R., Sjödin, A., Chapman, B.A., Rowe, J., Tomkins-Tinch, C.H., Valieris, R., Köster, J., 2018. Bioconda: sustainable and comprehensive software distribution for the life sciences. *Nat Methods* 15, 475–476. <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0046-7>
22. Halme, P., Kotiaho, J.S., 2012. The importance of timing and number of surveys in fungal biodiversity research. *Biodiversity and Conservation* 21, 205–219. <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0176-z>
23. Harper, K., Macdonald, S., Burton, P., Chen, J., Broszofske, K., Saunders, S., Euskirchen, E., Roberts, D., Jaiteh, M., Esseen, P.-A., 2005. Edge Influence on Forest Structure and Composition in Fragmented Landscapes. *Conservation Biology* 19, 768–782. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00045.x>
24. Heilmann-Clausen, J., Aude, E., Christensen, M., 2005. Cryptogam communities on decaying deciduous wood – does tree species diversity matter? *Biodivers Conserv* 14, 2061–2078. <https://doi.org/10.1007/s10531-004-4284-x>
25. Hoppe, B., Purahong, W., Wubet, T., Kahl, T., Bauhus, J., Arnstadt, T., Hofrichter, M., Buscot, F., Krüger, D., 2016. Linking molecular deadwood-inhabiting fungal diversity and community dynamics to ecosystem functions and processes in Central European forests. *Fungal Diversity* 77, 367–379. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0341-x>

26. Jonsson, B., Kruys, N., Ranius, T., Kruys, B., 2005. Ecology of species living on dead wood - Lessons for dead wood management. *Silva Fennica* 39. <https://doi.org/10.14214/sf.390>
27. Jönsson, M., Jonsson, B., 2007. Assessing coarse woody debris in Swedish woodland key habitats. *Forest Ecology and Management* 242, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.01.054>
28. Junninen, K., Komonen, A., 2011. Conservation ecology of boreal polypores: A review. *Biological Conservation* 144, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.07.010>
29. Kivinen, S., Koivisto, E., Keski-Saari, S., Poikolainen, L., Tanhuanpää, T., Kuzmin, A., Viinikka, A., Heikkinen, R.K., Pykälä, J., Virkkala, R., Vihervaara, P., Kumpula, T., 2020. A keystone species, European aspen (*Populus tremula* L.), in boreal forests: Ecological role, knowledge needs and mapping using remote sensing. *Forest Ecology and Management* 462, 118008. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118008>
30. Komonen, A., Müller, J., 2018. Dispersal ecology of deadwood organisms and connectivity conservation. *Conservation Biology* 32, 535–545. <https://doi.org/10.1111/cobi.13087>
31. Kuussaari, M., Bommarco, R., Heikkinen, R.K., Helm, A., Krauss, J., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Rodà, F., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M., Steffan-Dewenter, I., 2009. Extinction debt: a challenge for biodiversity conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 24, 564–571. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.04.011>
32. Laurance, W.F., Lovejoy, T.E., Vasconcelos, H.L., Bruna, E.M., Didham, R.K., Stouffer, P.C., Gascon, C., Bierregaard, R.O., Laurance, S.G., Sampaio, E., 2002. Ecosystem Decay of Amazonian Forest Fragments: a 22-Year Investigation. *Conservation Biology* 16, 605–618. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.01025.x>
33. Leonhardt, S., Hoppe, B., Stengel, E., Noll, L., Moll, J., Bässler, C., Dahl, A., Buscot, F., Hofrichter, M., Kellner, H., 2019. Molecular fungal community and its decomposition activity in sapwood and heartwood of 13 temperate European tree species. *PLOS ONE* 14, e0212120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212120>
34. Lindenmayer, D.B ja Fischer, J. (2006) *Habitat Fragmentation and Landscape Change: An Ecological and Conservation Synthesis* (lk 108-120; 197-212). Washington: ISLAND PRESS
35. Łuczaj, Ł., Sadowska, B., 1997. Edge effect in different groups of organisms: vascular plant, bryophyte and fungi species richness across a forest-grassland border. *Folia Geobot. Phytotax.* 32, 343–353. <https://doi.org/10.1007/BF02821940>
36. Lõhmus, A. 2016. Eesti rangelt kaitstavate metsade tüpoloogiline analüüs. https://envir.ee/sites/default/files/metsade_range_kaitse_2016_alohmus.pdf
37. MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 2001. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press.
38. MacFarlane, D.W., Kane, B., 2017. Neighbour effects on tree architecture: functional trade-offs balancing crown competitiveness with wind resistance. *Functional Ecology* 31, 1624–1636. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12865>

39. Magura, T., 2017. Ignoring functional and phylogenetic features masks the edge influence on ground beetle diversity across forest-grassland gradient. *Forest Ecology and Management* 384, 371–377.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.10.056>
40. Mahmoud, M., Zywicki, M., Twardowski, T., Karlowski, W.M., 2019. Efficiency of PacBio long read correction by 2nd generation Illumina sequencing. *Genomics* 111, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.12.011>
41. MapInfo - Daniel, L., Loree, P., & Whitener, A. (2002). *Inside MapInfo professional: The friendly user guide to MapInfo professional*. Albany, N.Y: OnWord Press.
42. Moose, R.A., Schigel, D., Kirby, L.J., Shumskaya, M., 2019. Dead wood fungi in North America: an insight into research and conservation potential. *Nature Conservation* 32, 1–17. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.32.30875>
43. Nilsson, R.H., Tedersoo, L., Ryberg, M., Kristiansson, E., Hartmann, M., Unterseher, M., Porter, T.M., Bengtsson-Palme, J., Walker, D.M., Sousa, F. de, Gamper, H.A., Larsson, E., Larsson, K.-H., Kõljalg, U., Edgar, R.C., Abarenkov, K., 2015. A Comprehensive, Automatically Updated Fungal ITS Sequence Dataset for Reference-Based Chimera Control in Environmental Sequencing Efforts. *Microbes and Environments* advpub, ME14121.
<https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14121>
44. Nordén, B., Dahlberg, A., Brandrud, T.E., Fritz, Ö., Ejrnaes, R., Ovaskainen, O., 2014. Effects of ecological continuity on species richness and composition in forests and woodlands: A review. *Écoscience* 21, 34–45.
<https://doi.org/10.2980/21-1-3667>
45. Nordén, J., 2009. Communities of wood-inhabiting fungi : Ecological requirements and responses to forest management and fragmentation.
46. Nordén, J., Penttilä, R., Siitonen, J., Tomppo, E., Ovaskainen, O., 2013. Specialist species of wood-inhabiting fungi struggle while generalists thrive in fragmented boreal forests. *Journal of Ecology* 101, 701–712.
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12085>
47. Ottosson, E., Kubartová, A., Edman, M., Jönsson, M., Lindhe, A., Stenlid, J., Dahlberg, A., 2015. Diverse ecological roles within fungal communities in decomposing logs of *Picea abies*. *FEMS Microbiology Ecology* 91.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiv012>
48. Ovaskainen, O., Nokso-Koivisto, J., Hottola, J., Rajala, T., Pennanen, T., Ali-Kovero, H., Miettinen, O., Oinonen, P., Auvinen, P., Paulin, L., Larsson, K.-H., Mäkipää, R., 2010. Identifying wood-inhabiting fungi with 454 sequencing – what is the probability that BLAST gives the correct species? *Fungal Ecology* 3, 274–283. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.01.001>
49. Paal, J., 1997. Eesti taimkatte kasvukohatüüpide klassifikatsioon.
<http://hdl.handle.net/10062/18674>
50. Parisi, F., Pioli, S., Lombardi, F., Fravolini, G., Marchetti, M., Tognetti, R., 2018. Linking deadwood traits with saproxylic invertebrates and fungi in European forests - a review. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 11, 423.
<https://doi.org/10.3832/ifor2670-011>
51. Penttilä, R., Lindgren, M., Miettinen, O., Rita, H., Hanski, I., 2006. Consequences of forest fragmentation for polyporous fungi at two spatial scales. *Oikos* 114, 225–240. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14349.x>

52. Pimm, S.L., 1998. The forest fragment classic. *Nature* 393, 23–24. <https://doi.org/10.1038/29892>
53. Pölme, S., Abarenkov, K., Nilsson, R.H., Lindahl, B., Clemmensen, K., Kauserud, H., Nguyen, N., Kjøller, R., Bates, S., Baldrian, P., Frøslev, T., Adojaan, K., Vizzini, A., Suija, A., Pfister, D., Baral, H.-O., Järv, H., Madrid, H., Nordén, J., Tedersoo, L., 2020. FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity* 105, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>
54. Purahong, W., Wubet, T., Lentendu, G., Hoppe, B., Jariyavidyanont, K., Arnstadt, T., Baber, K., Otto, P., Kellner, H., Hofrichter, M., Bauhus, J., Weisser, W.W., Krüger, D., Schulze, E.-D., Kahl, T., Buscot, F., 2018. Determinants of Deadwood-Inhabiting Fungal Communities in Temperate Forests: Molecular Evidence From a Large Scale Deadwood Decomposition Experiment. *Frontiers in Microbiology* 9.
55. R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
56. Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01376.x>
57. Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2010. Relationship between wood-inhabiting fungi determined by molecular analysis (denaturing gradient gel electrophoresis) and quality of decaying logs. *Canadian Journal of Forest Research* 40, 2384–2397. <https://doi.org/10.1139/X10-176>
58. Rajala, T., Tuomivirta, T., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2015. Habitat models of wood-inhabiting fungi along a decay gradient of Norway spruce logs. *Fungal Ecology* 18, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.08.007>
59. Renvall, P. 1995. Community structure and dynamics of wood-rotting Basidiomycetes on decomposing conifer trunks in northern Finland. *Karstenia*, Volume 35 (1995), Issue 1, pages 1-51. <https://doi.org/10.29203/ka.1995.309>
60. Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
61. Ruete, A., Snäll, T., Jonsson, B.G., Jönsson, M., 2017. Contrasting long-term effects of transient anthropogenic edges and forest fragment size on generalist and specialist deadwood-dwelling fungi. *Journal of Applied Ecology* 54, 1142–1151. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12835>
62. Ruete, A., Snäll, T., Jönsson, M., 2016. Dynamic anthropogenic edge effects on the distribution and diversity of fungi in fragmented old-growth forests. *Ecological Applications* 26, 1475–1485. <https://doi.org/10.1890/15-1271>
63. Runnel, K., Miettinen, O., Lõhmus, A., 2021. Polypore fungi as a flagship group to indicate changes in biodiversity – a test case from Estonia. *IMA Fungus* 12, 2. <https://doi.org/10.1186/s43008-020-00050-y>
64. Runnel, K., Palo, A., Reila, A., Rosenvald, R., Lõhmus, A., 2022. External management effects on the stand structure of protected forest patches. *Applied Vegetation Science* 25, e12655. <https://doi.org/10.1111/avsc.12655>

65. Ruokolainen, A., Shorohova, E., Penttilä, R., Kotkova, V., Kushnevskaia, H., 2018. A continuum of dead wood with various habitat elements maintains the diversity of wood-inhabiting fungi in an old-growth boreal forest. *Eur J Forest Res* 137, 707–718. <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1135-y>
66. Saar, I., Lõhmus, A., Parmasto, E., 2007. Mycobiota of the Poruni old-growth forest (Estonia, Puhatu Nature Reserve) 47, 71–86.
67. Saunders, D.A., Hobbs, R.J., Margules, C.R., 1991. Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation: A Review. *Conservation Biology* 5, 18–32. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1991.tb00384.x>
68. Siitonen, P., Lehtinen, A., Siitonen, M., 2005. Effects of Forest Edges on the Distribution, Abundance, and Regional Persistence of Wood-Rotting Fungi. *Conservation Biology* 19, 250–260. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00232.x>
69. SLU Artdatabanken (2020). Rödlistade arter i Sverige 2020. SLU, Uppsala <https://www.artdatabanken.se/globalassets/ew/subw/artd/2.-var-verksamhet/publikationer/31.-rodlista-2020/rodlista-2020>
70. Stokland, J., Larsson, K.-H., 2011. Legacies from natural forest dynamics: Different effects of forest management on wood-inhabiting fungi in pine and spruce forests. *Forest Ecology and Management* 261, 1707–1721. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.01.003>
71. Tedersoo, L., Lindahl, B., 2016. Fungal identification biases in microbiome projects. *Environmental Microbiology Reports* 8, 774–779. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12438>
72. Terraube, J., Archaux, F., Deconchat, M., van Halder, I., Jactel, H., Barbaro, L., 2016. Forest edges have high conservation value for bird communities in mosaic landscapes. *Ecology and Evolution* 6, 5178–5189. <https://doi.org/10.1002/ece3.2273>
73. Tuovinen, V., Svensson, M., Kubartová, A., Ottosson, E., Stenlid, J., Thor, G., Dahlberg, A., 2015. No support for occurrence of free-living Cladonia mycobionts in dead wood. *Fungal Ecology* 14, 130–132. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.12.003>
74. Várnai, A., Mäkelä, M.R., Djajadi, D.T., Rahikainen, J., Hatakka, A., Viikari, L., 2014. Chapter Four - Carbohydrate-Binding Modules of Fungal Cellulases: Occurrence in Nature, Function, and Relevance in Industrial Biomass Conversion, in: Sariaslani, S., Gadd, G.M. (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp. 103–165. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800260-5.00004-8>
75. Ylisirniö, A.-L., Mönkkönen, M., Hallikainen, V., Ranta-Maunus, T., Kouki, J., 2016. Woodland key habitats in preserving polypore diversity in boreal forests: Effects of patch size, Stand structure and microclimate. *Forest Ecology and Management* 373, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.04.042>

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Geili Pütsepp,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Servamõju puiduseente kooslustele kaitstavates metsafragmentides: DNA meetoditel põhinev uuring“, mille juhendaja on Kadri Runnel ja kaasjuhendaja Heidi Tamm, 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 3.0, 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.

Geili Pütsepp

26.05.2022