TARTU ÜLIKOOL

ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT

BOTAANIKA OSAKOND

TAIMEÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

Tõnis Leib

MULLA ELURIKKUSE VÄHENEMISE JA VÕÕRTAIMEDE MÕJU TAIMEDE JA KROHMSEENTE VAHELISTELE SUHETELE

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Bioloogia ja elustiku kaitse

Põhijuhendaja: Siim-Kaarel Sepp

Kaasjuhendaja: Kadri Koorem

Tartu 2025

Sisukord

Infoleht 4

Sissejuhatus 5

1. Kirjanduse ülevaade 6

1.1. Mullaorganismide elurikkus ja tähtsus 6

1.1.1. Mulla elurikkuse vähenemine ja selle põhjused 7

1.2. Invasiivsed taimeliigid 8

1.2.1. Invasiivsed liigid ja mullaelustik 10

1.3. Arbuskulaarne mükoriisa 11

1.3.1. AM seened ja invasiivsed liigid 12

1.3.2. Globaalsed mõjud ja arbuskulaarne mükoriisa 13

1.4. Krohmseente arvukuse hindamine 15

1.4.1. Masinõpe ja AMFinder 15

2. Metoodika 17

2.1. Kasvuhoonekatse ülesehitus 17

2.2. Mükoriisa kolonisatsiooni määramine 18

2.3. AMFinder 19

2.4. Andmeanalüüs 20

3. Tulemused 22

4. Arutelu 27

4.1. Võõrlikide ja mulla elurikkuse mõju süstlehisele teelehele 27

4.2. AMFinderi meetodi puudused 29

Kokkuvõte 31

Summary 32

Tänusõnad 34

Kasutatud kirjandus 35

Lisad 44

Lisa 1. AMFinderi meetodi programmide efektiivsusest ja vigadest 44

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks 46

Infoleht

Mulla elurikkuse vähenemise ja võõrtaimede mõju taimede ja krohmseente vahelistele suhetele

Mulla elurikkuse vähenemine ja võõrliigid ohustavad elukeskkonda globaalselt, kuid nende koosmõju kohalike liikide arbuskulaarsele mükoriisale (AM) pole teada. Kasvuhoonekatses oli võõrtaimedel katsetaime, süstlehise teelehe biomassile positiivne mõju. Mulla elurikkuse vähenemisel oli AM seente kolonisatsioonile katsetaime juurtes negatiivne mõju. Mõlema teguri selgeid koosmõjusid ei leitud. Lisaks klassikalisele meetodile kasutati AM seente kolonisatsiooni määramiseks masinõppe programmi AMFinder, mis osutus ebatäpseks.

Märksõnad: võõrliigid, mulla elurikkuse vähenemine, süstlehine teeleht, arbuskulaarne mükoriisa, masinõpe

CERCS kood: B270 Taimeökolooga

The Impact of Soil Biodiversity Loss and Non-Native Species on Plant–Glomeromycota Interactions

Soil biodiversity loss and non-native species are two major global threats to biodiversity, but it is not well known how do these factors affect native plant species' ability to form arbuscular mycorrhiza (AM). In a greenhouse experiment, non-native species had a positive effect on the biomass of focal plant species, *Plantago lanceolata*. Soil biodiversity loss had a negative effect on AM fungal colonization in the roots of the focal plant species, but no clear interactions between the two factors were found. In addition to the the classical method, the machine learning program AMFinder was used for determining AM fungal colonization, but it proved to be inaccurate.

Keywords: non-native species, soil biodiversity loss, *Plantago lanceolata*, arbuscular mycorrhizal fungi, machine learning

CERCS code: B270 Plant ecology

Sissejuhatus

Mulla elurikkusel on Maa elusloodusest suur osa, moodustades 58% kõikidest praegu teada olevatest liikidest (Anthony et al., 2023). Samas on mullaelustiku liigirikkus ohus maakasutuse intensiivistumise ja kliimamuutuste tõttu (Yin et al., 2020). Maailma elurikkusele kujutavad ohtu ka invasiivsed liigid, mida peale elupaikade kadumise peetakse suurimaks ohuks elurikkusele (Bellard et al., 2016).

Arbuskulaarne mükoriisa (AM) on seene ja taime kooselu vorm (Smith & Read, 2010), millega on maismaataimedest seotud 72% (Brundrett & Tedersoo, 2018). Kuna nii suur osa taimedest saavad vajalikke toitaineid arbuskulaarmükoriisa kaudu (Smith & Read, 2010), on oluline uurida, kuidas eelnevalt mainitud suured globaalsed ohud mõjutavad AM seente ja taimede suhteid. Töös uurisime, kuidas võõrliigid ja mulla elurikkuse vähenemine mõjutavad ühe tavalise taimeliigi, süstlehise teelehe (*Plantago lanceolata* L.) kasvu ja suhet AM seentega. Töö hüpoteesideks olid:

1) Süstlehise teelehe biomass on väiksem madala mulla elurikkuse ning võõrliikide olemasolu korral, eriti madala mulla elurikkuse ja võõrliikide koos esinemisel.
2) AM seente kolonisatsioon süstlehise teelehe juurtes on madalam madala mulla elurikkuse ning võõrliikide olemasolu korral.

Lisaks võrreldi töö käigus erinevaid juurtest AM seente määramise meetodeid, täpsemalt klassikalist meetodit (McGonigle et al., 1990) ja masinõppe programmi AMFinderit (Evangelisti et al., 2021). Nende põhjal sõnastati kolmas hüpotees:

3) AM seente kolonisatsiooni mustrid on paremini tuvastatavad masinõppe meetoditega, kuna see võimaldab analüüsi kaasata suurema osa juurestikust.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Mullaorganismide elurikkus ja tähtsus

Mullas elab 58 % kõigist planeedil Maal elavatest liikidest (Anthony *et al.*, 2023). Teadmised mullaelustiku kohta on suurenemas, kuna hinnang mullaelustiku kohta on viimase kahekümne aastaga kahekordistunud (Decaëns et al., 2006). Taksonite rühmad, millest suurim osa elab mullas, on valgeliimuklased (*Enchytraeidae*; 98,6%), seened (*Fungi;* 90%), taimed (*Plantae;* 85,5%) ja termiidilised (*Isoptera;* 84,2%) (Anthony et al., 2023). Lülijalgsetest (*Arthropoda*), maailma liigirikkaimast rühmast, elab mullas 30,4% (Anthony *et al.*, 2023). Ühes grammis mullas võib leiduda üle 10 000 bakteriliigi ja kuni miljard bakterirakku (Roesch *et al.*, 2007). Orgaaniline osa moodustab mullast enamasti 1-4% (Brookes, 2001).

Mulla elurikkus ei ole globaalselt ühtlaselt jaotunud. Mullamikroobide biomass on positiivses korrelatsioonis mulla orgaanilise süsiniku sisaldusega (Fierer *et al.*, 2009). Samuti on näidatud mullaelurikkuse sõltuvust taimede elurikkusest ja kasvukoha tootlikkusest (Fierer *et al.*, 2009) ning abiootiliste tingimuste mitmekesisusest ruumis (Bardgett & van der Putten, 2014). Väiksemad ja vabamalt kättesaadava süsiniku ning lämmastikuga mullaagregaadid tähendavad suuremat mikroobide mitmekesisust (Han et al., 2021). Maa-alust liigirkkust uurides ei saa eeldada, et see ühtib maapealse liigirikkusega (T. Wu et al., 2011), samas on näidatud arbuskulaarmükoriissete seente liigirikkuse ühtimist maa-aluste ja maapealsete taimede liigirikkustega (Hiiesalu et al., 2014). Siiski võiks arvestada mulla elurikkust maa-alusest elurikkusest eraldi ja selle paiknemist rohkem uurida.

Mullaorganismidel on suur roll ökosüsteemide funktsioneerimisel. Üldiselt on mulla funktsiooniks orgaanilise süsiniku lagundamine ja selle edasine hoiustamine või tagasi aineringesse paiskamine (Blum, 2005). Mullas on ookeanide järel suuruselt teine süsinikuvaru ning muld hoiab endas rohkem süsinikku kui atmosfäär ja taimestik kokku (European Commission. Directorate General for the Environment., 2011). Väiksem mulla elurikkus tähendab väiksemat taimede maapealse ja -aluse osa biomassi ning väiksemat orgaanilise aine lagundamise kiirust (Hättenschwiler et al., 2005).

Erinevate mullaorganismide funktsioone on aga raske määrata. Näiteks ümarusside (*Nematoda*) puhul ei tingi nende toitumistüüp kohe kindlat funktsiooni (Lazarova et al., 2021), bakteritoidulised liigid võivad suurendada või vähendada bakterite liigirkkust olenevalt teiste liikide kohalolust ja abiootilistest tingimustest (Postma-Blaauw et al., 2005). Lisaks võib mullaorganismide funktsionaalsuse määramist raskendada piiratud teadmine rühma ökoloogiast või ebatäpne määramine, näiteks ümarusse määratakse enamasti vaid perekonnani, kuid nende funktsioonid erinevad liigi tasemel (Lazarova et al., 2021).

Mullaorganismide elurikkus on tähtis ka inimeste tervisele. Suur mullaorganismide elurikkus tähendab nendega kokku puutudes väiksemat võimalust allergiate tekkimiseks (Hanski et al., 2012). Kuna inimeste tervis on tihedalt seotud toiduga, on tähtsateks mulla funktsioonideks kultuurtaimede patogeenide biotõrje ja sobivate mullaorganismidega taimede produktsiooni tõstmine (Wall *et al.*, 2015). Lisaks tähendab suurem hulk mullabaktereid rohkem võimalusi uute antibiootikumide leidmiseks, millest näiteks ühte on näidatud juba töötavana tuberkuloosi vastu (Ling *et al.*, 2015).

1.1.1. Mulla elurikkuse vähenemine ja selle põhjused

Kaheks suureks mulla elurikkuse vähendajaks on maakasutuse intensiivistumine ja kliima soojenemine (Yin *et al.*, 2020). Rahvaarv ja toiduvajadus on kasvamas, mille tõttu ennustatakse 2040. aastaks 26% põllumaadel intensiivistumist ja ainult 3% aladel ekstensiivsemaks muutumist (van Asselen & Verburg, 2013). Maakasutuse intensiivistumisel, alates niitudest ja lõpetades intensiivsete põllumaadega, väheneb mulla üldine elurikkus, biomass ja ka funktsionaalsete rühmade hulk (Ponge *et al.*, 2013; Tsiafouli *et al.*, 2015). Rohkem on mõjutatud kõrgemate troofiliste tasemete mullaloomad, nagu vihmaussid ja röövtoidulised hooghännalised, kes intensiivselt majandatavatel aladel võivad täiesti puududa (Tsiafouli *et al.*, 2015).

Kliima soojenemisega kaasnevatest teguritest, nagu kõrgenenud temperatuur, evapotranspiratsioon, sademete suurenemine või vähenemine, vaesustab tulevikus mullaorganismide kooslusi potentsiaalselt enim temperatuur (Shen et al., 2024; L. Wu et al., 2022). Temperatuuri tõusu suurim mõju mullakeskkonnale on mullaniiskuse vähenemine, ning seetõttu on temperatuurikasvu tagajärjed suurimad nendes kohtades,

kus sademeid on juba vähe või kliima soojenemine vähendab sademete hulka (L. Wu et al., 2022). L. Wu et al. (2022) leidsid katses, kus testiti kliimasoojenemise mõjusid mullakooslustele, et 3-kraadise temperatuuritõusuga vähenes mitmekesisus bakteritel 9,6%, seentel 14,5% ja protistidel 7,5%. Soojenemine vähendas ka arbuskulaarmükoriissete seente fülogeneetilist mitmekesisust, elurikkust ja biomassi (L. Wu et al., 2022). Samas võivad mõned mullaorganismid, nagu lagundajatest seened, temperatuuri tõusuga ka hästi kohaneda (Crowther & Bradford, 2013).

1.2. Invasiivsed taimeliigid

Võõrliik on liik, mis on ületanud loomulikke levimisbarjääre inimese abiga kas teadlikult või teadmatult ning suudab uues kohas ilma inimese abita püsima jääda (Essl et al., 2018). Invasiivseteks defineeritakse võõrliike, millel on negatiivne mõju elurikkusele, ökosüsteemide funktsioneerimisele või inimese heaolule (International Union for Conservation of Nature, 2025).

Uued invasiivid tekivad ka olemasolevate võõrliikide seast. Võõrliigid, kes pole veel muutunud invasiivseks, võivad seda endiselt teha peale nn viivitusfaasi, raskendades ohtlikke võõrliikide tuvastamist (Robeck et al., 2024). Globaalsetest invasiivsetest taimeliikidest omasid viivitusfaasi 35%, mis keskmiselt oli 34 aasta pikkune (Robeck et al., 2024). Invasiivsed liigid muutuvad ajaga vähem konkurentsivõimeliseks, kui kooslus hakkab uue liigiga kohanema (Iacarella et al., 2015). Sama leidsid ka Dostál et al., 2013 – hiid-karuputk (*Heracleum mantegazzianum*) saavutab suurima invasiivse mõju 30 a järel, ning 40-50 aastat peale invasiivseks muutumist taandub.

Invasiivseid liike peetakse elupaikade kadumise järel suurimaks ohuks elurikkusele (Bellard et al., 2016). Seebens et al. (2021) mudelid ennustavad, et aastaks 2050 tõuseb võõrliikide hulk võrreldes 2005. aastaga 36%. Ainuüksi Euroopas ennustatakse keskmiselt 24% võõrtaimeliikide arvukuse tõusu ehk umbes 800-1200 võõramaise taimeliigi lisandumist keskkonda (Seebens et al., 2021).

Invasiivsetel taimdel on ümbritsevale elukeskkonnale suur mõju. Metaanalüüsis leiti invasiivsete taimede olulist mõju teistele taimedele 76,2% , mullale 57,8% ja loomadele 50,2% uuringutest (Pyšek et al., 2012). Kuigi selgitusi sellele, miks osad võõrliigid uues levikuareaalis invasiivseks muutuvad, on palju, on suurematest invasiivsete liikide

hüpoteesidest piisavalt kinnitust leidnud vaid kolm: uudse relva hüpotees (*novel weapon hypothesis*), vaenlasest vabanemise hüpotees (*enemy release hypothesis*) ja invasioonilise lagunemise hüpotees (*invasional meltdown hypothesis*) (Jeschke et al., 2012). Uudse relva hüpotees väidab, et võõrliigil on eelis uues kohas, sest võõrliigi allelopaatiliste (teisi liike mõjutavate) kemikaalidega pole uue paiga taimed koevolutsioneerunud ja seetõttu on nendest kemikaalidest rohkem negatiivselt mõjutatud (Callaway & Ridenour, 2004). Vaenlasest vabanemise hüpotees postuleerib, et võõrliik, kes jõudis uude kohta, kaotas liikumisega oma loomulikud vaenlased ja saab selle tõttu uues kohas vabamalt kasvada ja levida (Keane & Crawley, 2002). Invasioonilise lagunemise hüpotees väidab, et eelmise invasiooni järel on järgmisel invasiivsel liigil tõenäolisemalt suuremad ökoloogilised mõjud ja kergem invasiivseks muutuda (Simberloff & Von Holle, 1999). Teiste hüpoteeside hulgast leidsid Jeschke et al. (2012), et näiteks tihti viidatud kümnete reegel (Williamson et al., 1986), mille järgi 10% uutest liikidest naturaliseeruvad ja nendest omakorda 10% muutuvad invasiivseteks, ei oma eriti suurt toetust (28% artiklitest). Lisaks on korduvalt leitud, et invasiivsed taimed saavutavad suurema edu madala elurikkusega ökosüsteemides ja liigirikkamad ökosüsteemid on invasiividele vähem vastuvõtlikud (Cheng et al., 2024; Yang et al., 2017), kuigi Jeschke et al. (2012) leidsid, et ka see hüpotees leiab toetust vaid 29% artiklites.

Invasiivsetel liikidel võivad olla erinevad tunnused. Mitteinvasiivsed võõrliigid sarnanevad funktsionaalsete tunnuste poolest kohalike liikidega rohkem kui invasiivsed liigid (Divíšek et al., 2018). See tähendab, et liik peab sarnanama kooslusega, et sinna jääda, kuid olema piisavalt erinev, et muutuda probleemiks (Divíšek et al., 2018). Millised võivad need invasiivide tunnused olla? Märkimisväärne mõju liigirikkusele, liikide ohtrusele ning mullanäitajatele oli tõenäoliseim, kui invasiivne liik oli üheaastane rohttaim, omades olulist mõju 88,9% uuringutest (Pyšek et al., 2012). Ohtlikuimad invasiivsed taimeliigid on tuultolmlevad, omades olulist kahju liigirikkusele 91,4% kordadest (Pyšek et al., 2012). Ainukesed sama mõjukad teiste tolmlemisviisidega taimed olid need, mis olid pikemad kui 2,8m, mõjutades liigirikkust oluliselt, 73,1% kordadest (Pyšek et al., 2012). Lisaks on näidatud, et invasiivseks muutuvad kergemini kiire kasvuga taimed (Dawson et al., 2011). Metaanalüüside ülevaates, kus vaadeldi, kas

võõrliikide ja kohalike liikide tunnused erinevad ja kas mõjud kohalikele on negatiivsed, leiti, et 25% artiklitest ei leidnud taimeliikidel erinevusi või mõju, 44% juhtudest olid tulemused mitmesugused ja kontekstist lähtuvad ning 31% artiklitest olid võõrliigid kohasemad kui kohalikud taimed või kohalikele taimedele negatiivsete mõjudega (Boltovskoy et al., 2021). See näitab, et kindlad tunnused ei ole alati võõrliikidega seostatavad ning mõju pole alati negatiivne.

1.2.1. Invasiivsed liigid ja mullaelustik

Invasiivsetel liikidel on palju interaktsioone ka mullaelustikuga, näiteks vihmaussidega. Eisenhauer & Scheu (2008) näitasid, et hariliku vihmaussi olemasolul ei suutnud invasiivsed liigid nii hästi idaneda, sest arvatavasti nad polnud kohastunud vihmaussi poolt söömise ja/või matmisega. Samas võiks eeldada, et väljaspool Euroopat, kus meie vihmaussid on invasiivsed ja kohalikud taimed pole kohastunud vihmausside tegevusega, võivad Euroopa taimeliigid vihmausside olemasolul rohkem võita (Eisenhauer & Scheu, 2008).

Invasiivsetel liikidel on ka mõju mullamikroobidele. See mõju võib aga olla taksonispetsiifiline, näiteks seente puhul näidati, et kottseente (*Ascomycota*) suhteline arvukus võib invasiivsete liikidega tõusta, kuid seente hõimkonna *Rozellomycota* esindajate suhteline arvukus vähenes (X. Wang et al., 2022). Bakterite hulgast oli suurim invasiivide mõju aktinobakteritele (*Actinobacteria*), kelle suhteline arvukus tõusis märkimisväärselt (X. Wang et al., 2022). X. Wang et al. (2022) ei leidnud oma töös invasiivsete liikide mõju mullamikroobide liigirikkusele.

Mullaelustik tervikuna mõjutab ka invasiivsete liikide kasvu. Näiteks on leitud, et invasiivsed taimeliigid saavad võrreldes haruldaste taimeliikidega enda poolt kujundatud mullakooslustega (mullas, kus antud taim on juba varem kasvanud) paremini hakkama, samas kui haruldased taimed kasvavad enda poolt kujundatud mullas halvemini kui teiste taimede poolt kujundatud mullakooslustega (Klironomos, 2002; Meisner et al., 2014). Kui katses eemaldati teised seened peale AM seente, oli nii haruldastel kui invasiivsetel taimedel kasulikum kasvada enda mullas (Klironomos, 2002), mis viitab, et mõlemal on patogeenidest vabanemisel kasvule postiviine mõju. Sellistel uuringutel võib aga olla probleemiks, et eksperimentides ei suudeta arvestada mullakoosluste

muutumise pikaajalisemaid mõjusid, mille tõttu võivad tulemused olla puudulikud (Meisner et al., 2014).

1.3. Arbuskulaarne mükoriisa

Mükoriisa on seene-taime vaheline kooseluvorm, millel on 4 eri tüüpi: erikoidne, orhidoidne, ekto- ja arbuskulaarmükoriisa (Smith & Read, 2010). Kõikidest maismaataimedest moodustavad mükoriisat 80% liikidest ja 92% sugukondadest (B. Wang & Qiu, 2006). Nendest kõige dominantsem on abruskulaarne mükoriisa (AM), mida moodustavad 72-80% maismaataimede liikidest (Brundrett & Tedersoo, 2018). Arbuskulaarset mükoriisat moodustavad seened kuuluvad hõimkonda krohmseened (*Glomeromycota)* (Schüβler et al., 2001). Esimesed selged tõendid arbuskulaarsest mükoriisast on pärit 410 miljoni aasta tagusest ajast, kus olid juba olemas mükoriissed struktuurid (Willis et al., 2013). Kuna AM seente liike on veidi rohkem kui 340 (Öpik et al., 2013), kuid nendega seostuvaid taimeliike on kordades rohkem (Corlett, 2016), siis peavad AM seente liigid seostuma paljude taimede liikidega ning olema selles suhtes generalistlikumad kui taimed, kes saavad olla rohkem valivad.

Arbuskulaarne mükoriisa pakub taimedele mitmeid hüvesid. AM seened ehk krohmseened elavad mullas ja taimede juurtes, kus moodustavad spetsiaalseid struktuure, arbuskuleid, milles toimub taimede ja seente vaheline „kaubavahetus“ (Smith & Read, 2010). Taimed annavad enda juurtes elavatele krohmseentele 1-10% oma toodetud süsinikust (Konvalinková et al., 2017) ja saavad vastu toitaineid, täpsemalt 30-40% taime poolt kasutatavast lämmastikust ja kuni 50% fosforist (Smith & Read, 2010). Peale toitainete kättesaadavuse parandavad krohmseened ka peremeestaimede stressitaluvust, näiteks põua (Augé et al., 2015), soolsuse (Evelin et al., 2019), raskmetallide (Kanwal et al., 2015) ning kuuma (Bunn et al., 2009) ja külma suhtes (S. Chen et al., 2013). Lisaks suurendavad krohmseened taimede taluvust biootiliste stressitekitajate, nagu patogeensete seente, bakterite, viiruste, ümarusside ja herbivooride suhtes (Dowarah et al., 2022). Eelnevatest faktidest saab järeldada, et arbuskulaarsel mükoriisal on globaalselt suur ökoloogiline tähtsus.

Mükoriisad on üldiselt mõlemale poolele kasulikud ehk mutualistlikud, kuid kui taimele maksab mükoriisa hoidmine rohkem kui selle kasud, võib seda nimetada parasitismiks

(Johnson et al., 1997). Keskkonnatingimustest sõltub, kas taime ja seente huvid kattuvad või mitte, millest tuleneb taime-mükoriisa mutualismi-parasitismi kontiinumi ehk pidevustiku teooria (Johnson et al., 1997). Lisakomponendina tekitab ajaline mõõde mükoriisa mutualismi-parasitismi olemuse mõistmises raskusi, näiteks näidati lühilehise tääkliilia (*Yucca brevifolia* Engelm.) puhul, et suur kulu arbuskulaarmükoriisale oli alguses kasvule negatiivse mõjuga, kuid üheksa kuud hiljem oli investeering muutunud võrreldes teiste taimedega tulusaks (Harrower & Gilbert, 2021). Suhtes on ka kolmas osapool: bakterid, kes samuti saavad AM seente vahendusel taime süsinikku ja aitavad AM seentel mineraalained omastada ning võivad samuti olla parasitistlikud (Duan et al., 2025). Need tegurid tähendavad, et krohmseente ja taimede vahelised seosed ei ole alati mutualistlikud ja kindlalt ühtemoodi mõistetavad.

1.3.1. AM seened ja invasiivsed liigid

Arbuskulaarmükoriisa roll invasioonil on suurem, kui varem arvatud (Aslani et al., 2019). Invasiivsed taimeliigid on keskmiselt sama palju arbuskulaarse mükoriisaga seotud ja neil on keskmiselt sama suur osa juurtest AM poolt koloniseeritud kui kohalikel liikidel (Bunn et al., 2015). Siiski on neil kohalike liikidega võrreldes AM seentega läbikäimises eripärasid.

Tõhustatud mutualismi hüpotees (ingl *enhanced mutualism hypothesis*) väidab, et invasiivid võivad uues asukohas paremini hakkama saada, sest nad parandavad või loovad uusi ja tõhusamaid mutualisme (Reinhart & Callaway, 2006). Seda hüpoteesi on kinnitanud näiteks Sheng et al. (2022) artikkel, kus näidati, et kodumaal on invasiivsete liikide biomass negatiivses seoses AM hulgaga, kuid uues kohas negatiivne seos kaob. F. Zhang et al. (2018) näitasid kahe invasiivse liigi (pujulehine ambroosia *Ambrosia* artemisiifolia L. ja karvane ruse *Bidens* pilosa L.) puhul, et invasiivid saavad kohaliku liigiga konkurentsis olles AM külluse tõttu eelise ja suudavad selle tõttu kohaliku liigi välja tõrjuda. Ka kanada kuldvitsa (*Solidago canadensis* L.) puhul on näidatud, et tema edukusel invasiivina mängib rolli kasvu kiirendamine AM seentega (Dong et al., 2021). Lisaks on näidatud, et võõrliigid kipuvad olema seotud generalistlikumate AM seente liikidega (Moora et al., 2011), mis võib teha invasiivsele taimele uues kohas kohanemise lihtsamaks, kuna tõenäoliselt on sobiv AM seen uues kohas juba olemas.

AM ja invasiivsete taimede seost mõjutavad ka teised tegurid, näiteks fosfori hulk mullas, sest mükoriisa kaudu fosfori omastamine on üks mükoriisa olulisemaid funktsioone (Smith & Read, 2010). Chen et al. (2020) leidsid, et AM annab invasiivsetele taimedele kohalike taimede vastu konkurentsieelise kui fosforit on keskkonnas vähe, kuid suure fosfori sisaldusega ei olnud invasiivid enam nii võimekad. Seetõttu võivad AM seened suurendada vähese fosforiga ökosüsteemide ohustatust invasiivsete taimede poolt (Chen et al., 2020). Lisaks võib oluliseks osutuda fosfori molekulaarne vorm, mille sobivuse tõttu võib invasiivne liik saada suurema eelise (L. Chen et al., 2023).

Invasiivid saavad edukad olla ka teiste liikide suhteid AM seentega alla surudes. Näiteks näidati Zhang et al. (2018) uuringus, et invasiivsete liikidega koos kasvaval kohalikul taimel oli madalam AM seente kolonisatsioon kui üksi kasvades, kusjuures trend oli invasiivsetel liikidel vastupidine. Invasiivse liigi mõju suurus AM seentele oleneb suuresti invasiivsest liigist (Řezáčová et al., 2021; Zubek et al., 2016). Invasiivsed liigid võivad vähendada AM seente mitmekesisust (Řezáčová et al., 2021; Zubek et al., 2016). Mittemükoriissed invasiivsed liigid omavad suuremat mõju, surudes üldiselt maha kõiki AM seeni (Stinson et al., 2006; Zubek et al., 2016). Stinson et al. (2006) leidsid, et mittemükoriisse salukõdriku (*Alliara petiolata* M.Bieb.) poolt varasemalt invadeeritud maa-aladel oli seal idanevatel puudel abruskulaarmükoriisat tavalisest kordades vähem või see lausa puudus. See tähendas negatiivset mõju idanevate puude biomassile, limiteerides metsa taastumist, mis tegi salukõdrikule ökosüsteemi sobivamaks (Stinson et al., 2006). Samas on viimati leitud, et asi ei ole nii lihtne, sest vastupidiselt varasemalt arvatule võib salukõdrik ka ise AM seentest kasu saada (Trombley et al., 2025). Teiste taimede AM seente maha surumine võib olla mõjukas tegur invasiivide edukuses.

1.3.2. Globaalsed mõjud ja arbuskulaarne mükoriisa

Mükoriisa tõstab taimede võimekust vastu panna kliimamuutustele, invasiivsetele liikidele ja reostusele, toetades ökosüsteemide toimimist ka häiringute ajal (Bellgard & Williams, 2011). Ajaloolised suured kliimamuutused on korduvalt tekitanud mükoriisale võimalusi laiendada oma peremeestaimede hulka, kuna muutuvad olud sunnivad taimi uutes rasketes oludes kohastuma, mille tõttu tekkisid peale arbuskulaarse mükoriisa ka teised mükoriisatüübid (Bellgard & Williams, 2011). Praeguste suurte kliimamuutuste järel võib mükoriisa jällegi suuri evolutsioonilisi arenguid teha.

Kliimamuutuste eri teguritel saab olla varieeruv mõju AM seentele. Näiteks on leitud, et CO_2 tõus ei muuda suuresti AM seente liigirikkust (Cotton, 2018; Duarte & Maherali, 2022). Samas võib CO_2 tõus muuta AM seente koosluse struktuuri, näiteks võib see tõsta seltsi *Glomerales* kuuluvate AM seente hulka (Cotton, 2018). Temperatuuritõus avaldab aga suurt mõju taimede AM kolonisatsioonile, kusjuures mõju sõltus sellest, kas peremeestaimeks oli kultuurtaim või looduslik taim (Duarte & Maherali, 2022). Duarte & Maherali (2022) katses tõi temperatuuri muutus varasemast madalamast temperatuurist praegusele tavalisele temperatuurile (ingl *subambient, ambient temperature*) kaasa AM seente kolonisatsiooni suurenemise looduslikel liikidel, kuid mitte põllukultuuridel. See näitab, et minevikus võis tõus praegusele temperatuurile AM seente rohkust tõsta (Duarte & Maherali, 2022). Samas artiklis leiti ka, et väiksem ja ebaselgem mõju on sellel, kui tulevikus temperatuur kõrgemaks muutub, kuid ennustatakse, et taimede AM seente kolonisatsioon tõuseb (Duarte & Maherali, 2022). Üldiselt tähendab temperatuuri kasv taimede ja AM seente vahelise seose tugevnemist (Duarte & Maherali, 2022).

Veel üks suur globaalne muutuja, maakasutuse muutus, võib vähendada arbuskulaarse mükoriisa liikide ja biomassi hulka. Näiteks intensiivne kündmine vähendab arbuskulaarse mükoriisa kolonisatsiooni hulka võrreldes harvema või mitte kündmisega ning vähendab ka krohmseente levimisvõimet (Dai et al., 2015). Lisaks on põllul väiksem AM seente mitmekesisus kui metsades ja rohumaadel (Zhu et al., 2021).

Kui globaalsed mõjud võivad vähendada AM seente rohkust, võib samas AM seente kasutamine aidata globaalsete mõjudega, näiteks globaalse toiduvajaduse suurenemisega toime tulla (Brito et al., 2021). Tulevikus vajab põllumajandus endiselt suurt tootlikust, kuid vähem mõjusid üleväetamisest (Schaefer et al., 2021). Krohmseentele sobivate tingimuste loomine suurendab taimede kasvu ning vastupidavust ekstreemsete kliimaolude suhtes (Brito et al., 2021). Brito et al. (2021) pakuvad välja meetodi, kus nn arendajataimed, millel on suur AM seente juureväline niidistik, aitaks tavalisest kiiremini kevadisel põllul AM seeni edasi levitada noortele põllutaimedele, seeläbi varakult tõstes nende taluvust abiootiliste ja biootiliste stressorite vastu. AM seened võivad olla jätkusuutliku põllumajanduse võtmeks, et vähendada väetamise kahjulikke külgi ja puudusi, näiteks lämmastiku ammutamise suur energiakulu või fosfori ressursi piiratus (Schaefer et al., 2021).

1.4. Krohmseente arvukuse hindamine

Kuna krohmseened on mikroskoopilised, siis on nende arvukuse hindamine keerukas. Kasutusel on näiteks fosfolipiidsete rasvhapete (ingl *phospho lipid fatty acid* ehk PLFA) põhine määramine, kus teatud rasvhappeid on mükoriissete hüüfidega mullas rohkem, mille järgi saab arvutada mükoriisa hulka (Olsson et al., 1995). Teiseks võimaluseks on hinnata erinevate DNA või RNA järjestuste põhjal krohmseente liigirikkust, mis võimaldab eristada ka lähedaselt suguluses olevaid krohmseente liike ning anda seeläbi täpset infot AM seente koosluse kohta (Schlaeppi et al., 2016). Kolmandaks, ajalooliselt palju kasutatud, on juurte värvimine, mille läbi saab tumedamaks värvunud krohmseente struktuuride olemasolu määrata puhastatud juure seest (Phillips & Hayman, 1970). Viimasel ajal on selles valdkonnas arengud, on kasutama hakatud masinõpet, et mükoriisa hulka hõlpsamini määrata (Evangelisti et al., 2021).

1.4.1. Masinõpe ja AMFinder

Masinõpe on tehisaru alaosa, mis suudab läbi annoteeritud andmete läbi töötamise õppida ära nende sarnased jooned ning seejärel uuele infole anda oma hinnang (Bini, 2018). Bioloogilised andmestikud on viimaste aastakümnetega kasvanud aina suuremaks ja keerulisemaks, mistõttu on kasulikum kasutada masinõpet (Greener et al., 2022; Hoppe et al., 2022). Süvaõpe (ingl *deep learning*) aitab bioloogias mõista keerulisi ja suuri andmeid, näiteks mahukaid mitme-dimensionaalseid andmeid oleks raske manuaalselt analüüsida (Tarca et al., 2007). Samas on bioloogilistes andmetes väga suur varieeruvus, mis tähendab, et samu meetodeid ei saa pidevalt kasutada ja peab uutele andmestikele loovalt lähenema (Greener et al., 2022).

Evangelisti et al. (2021) töötasid välja kaks närvivõrku arbsukulaarse mükoriisa hüüfide ja teiste struktuuride määramiseks. Mõlemad neist kasutavad konvolutsioonilisi närvivõrke (ingl *convolutional neural network* või CNN) (Evangelisti et al., 2021), mis põhinevad sisendpildi töötlemisel, rakendades erinevaid järjestikuseid kihte pildist olulise teabe eraldamiseks, et jõuda soovitud väljundini vastavalt määratud ülesandele (Tampuu, 2020). CNN1 on mõeldud üldise juurekolonisatsiooni määramiseks ja CNN2 juuresiseste mükoriisastruktuuride jaoks (Evangelisti et al., 2021). Antud töös kasutatava CNN1 põhiline treenimise andmestik koosnes 32-st tubaka perekonda kuuluva *Nicotiana*

benthamiana värvitud ja Clearsee lahusega töödeldud juurte piltidest (Evangelisti et al., 2021). Testiti ka valehinnanguid, mida CNN1 andis kõige rohkem mükoriissete juurte ja juureväliste hüüfide kohta, pidades neid tavalisteks juurteks (Evangelisti et al., 2021).

2. Metoodika

2.1. Kasvuhoonekatse ülesehitus

Testimaks mulla elurikkuse vähenemise ja võõrtaimede mõju krohmseentele oli vaja tekitada mulla elurikkuse gradient. Selleks tuli valmistada kolm erineva elurikkusega mulda, mis saavutati elusa mulla lahjendamisel steriliseeritud mullaga. Muld steriliseeriti gamma kiirgusega ning sellele lisati elusat mulda proportsioonides 1: 1000 ja 1: 1 000 000, et saada keskmise ja madala elurikkusega mullad. Kõrge elurikkusega mulla töötluseks kasutati sama looduslikult kogutud mulda. Et hinnata ainult mulla elurikkuse mõju kasutati inokuleerimise meetodit, kus 80% mullast oli täielikult steriliseeritud, ning selle peale lisati 20% ulatuses vastava elurikkusega mulda, et saada kolme elurikkuse tasemega töötlused. Teiseks mõjuteguriks võeti võõrliigid, mille idandeid istutati potti kas kolm või mitte ühtegi. Võõrliike prooviti valida tunnuste poolest võimalikult erinevad, valituks osutusid kanada kuldvits, basiilikulehine seebilill (*Saponaria ocymoides* L.) ja ida-kitsehernes (*Galega orientalis* Lam.). Keskseks uurimisaluseks liigiks AM kolonisatsiooni määramiseks võeti süstlehine teeleht. Kuna taimed kasvavad kooslustes, lisati pottidesse veel Eestis tavalisi taimeliike, millel vaadati ka katse lõpus krohmseente kolonisatsiooni. Tavalisteks taimeliikideks valiti sügisene seanupp (*Scorzoneroides autumnalis* L.), harilik karutubakas (*Pilosella officinarum* F.W.Schultz ja Sch.Bip.), harilik käbihein (*Prunella vulgaris* L.), longus põisrohi (*Silene nutans* L.), liht-naistepuna (*Hypericum perforatum* L.), arujumikas (*Centaurea jacea* L.), aasristik (*Trifolium pratense* L.), hariliku kuldvits (Solidago virgaurea L.). Igas potis oli seitsmeliigiline taimekooslus, millest kõigil keskel kasvas süstlehine teeleht. Teelehe ümber sümmeetriliselt paigutatud kuus teist taime olid ühegi võõrliigita pottides eelnevalt mainitud kuus kohalikku taimeliiki ning kolme eelmainitud võõrliigiga pottides olid võõrliikide asemel kasvamas kohalikud liigid longus põsirohi, aasristik ja harilik kuldvits. Kolme mulla elurikkusega potid kahe erineva võõrliikide tasemega andsid kokku kuus permutatsiooni, millest tehti kümme kordust.

Taimi kasvatati kolm kuud kasvuhoones. Kasvuhoone keskmine temperatuur oli 21/16 °C päev ja öö ning lisaks loomulikult sisse paistvale valgusele olid kasvuhoones 400W

halogeniidlambid. Taimi kasteti kolm korda nädalas ning potte liigutati juhuslikult kasvuhoones iga kolme nädala tagant ringi.

2.2. Mükoriisa kolonisatsiooni määramine

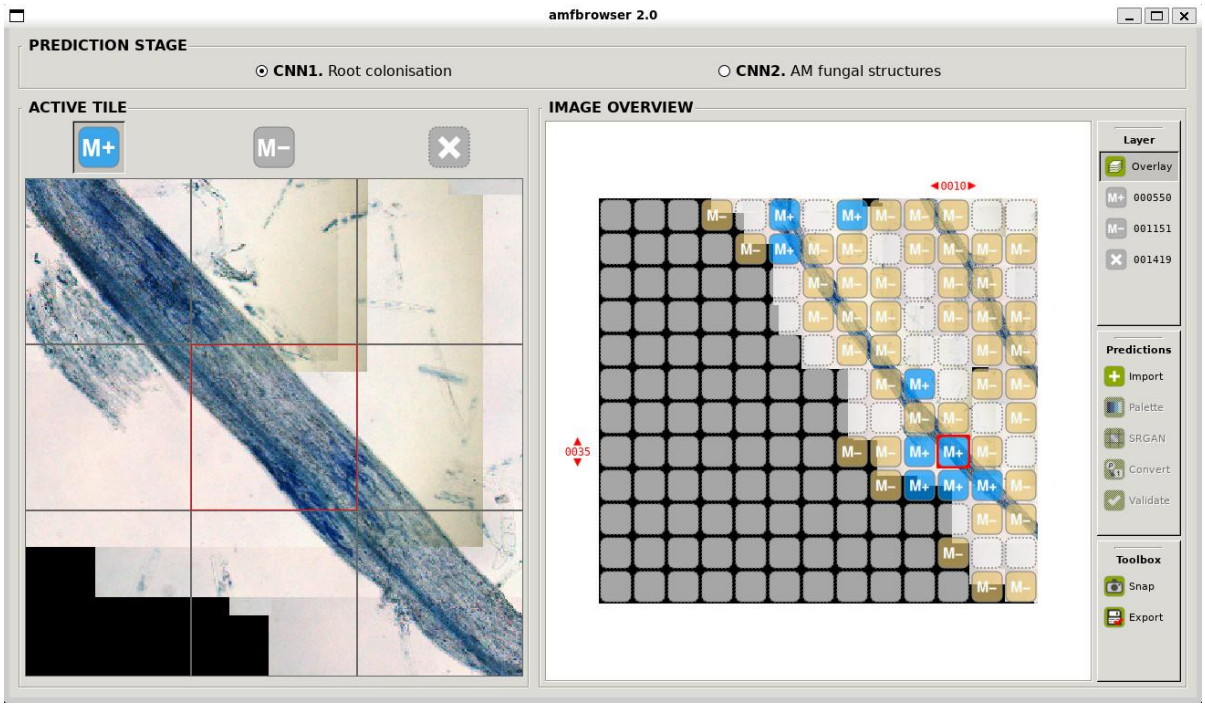
Katse lõpus taimejuured pesti mullast, kuivatati ja lõigati 1 cm pikkusteks tükkideks ning asetati kasettidesse. Juured puhastati 10% KOH lahusega 15 minutit keemise lähedase temperatuuri juures ning seejärel värviti 4% Parkeri tindi ja 5% äädikhappe lahusega 10 minuti jooksul samuti kõrgel temperatuuril (Vierheilig et al., 1998). See meetod tagab juurerakkude algse läbipaistvamaks tegemise ja tindi mõjul mükoriisastruktuuride juurtest tumedamaks siniseks värvumise, mille koosmõjul saab juurest arbuskulaarmükoriisat määrata. Teelehe juured olid tugevamalt pigmenteerunud, mille tõttu neid eelnevalt leotati lisaks keetmisele 24 tundi 10% KOH lahuses. AMFinderiga vaatamiseks mõeldud 60-st süstlehise teelehe juurest esimest 20 (mis langeb kokku madala elurikkuse muldadega pottidega) ei leotatud 24 tundi lisaks, mille tõttu jäid nad tumedamad ja ebaselgemad. Kuna pildid jäid piisavalt erinevad, otsustati AMFinderi treenimist ja analüüsi teha mõlemal pildikogumikul eraldi.

Juurte AM kolonisatsiooni määrati kahe meetodiga: klassikalise, kus manuaalselt valgusmikroskoobiga vaadates määratakse 100-s juure ristlõikes hüüfide, arbuskulite ja vesiikulite esinemine (McGonigle et al., 1990) ning masinõppega määramine, kus kasutati programmi AMFinder, et kolonisatsiooni osakaal määrata mikroskoobikaameraga tehtud terviklikelt juurepiltidelt (Evangelisti et al., 2021).

Juurte kaamerale selgemaks tegemiseks leotati teelehe juuri 1 minut ja 20 sekundit Clearsee lahuses (Kurihara et al., 2015). Klassikalise meetodiga määramiseks sätiti juured slaidile paralleelsete joontena, AMFinderiga määramiseks pandi juured lihtsamaks skännimiseks slaidile lähestikku keskele kokku. AMFinderiga määramiseks skänniti juured ZEISS Labscope programmi Fast Panorama funktsiooniga. Fast Panorama funktsioon n-ö õmbleb mikroskoobi kaadrid kokku üheks tervikuks. Mitmeid pilte oli vaja veel kokku monteerida, et saada slaidist tervik, mida tehti pilditöötlus-programmiga GIMP.

2.3. AMFinder

AMFinderit kasutati masinõppe võimekuse testimiseks samade taimede juurtel nagu klassikalisel meetodil. AMFinderi kood saadi Githubi saidilt (https://github.com/SchornacklabSLCU/amfinder). Masinõppe mudelite kood on kirjutatud Pythonis, mille jaoks oli vaja täpsemalt Python 3.9-t. Koodi jooksutati läbi WSLi (Windows Subsystem for Linux) ja AMFinderi kasutajaliidese Amfbrowseri töötamiseks oli vaja programmi Xming.



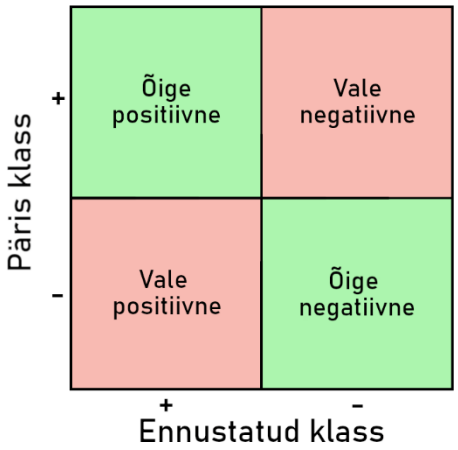
Joonis 1. Kuvatõmmis Amfbrowseri kasutajaliidesest. Vasakul on värvitud pilt juurest ning paremal mudeli ennustused ruutudele. Mükoriisne juur (M+), mittemükoriisne juur (M-) või taust/muu (X) (Evangelisti et al., 2021)

Selleks, et saada värvitud juurtepiltidele hinnangud mükoriisa esinemise osas, kasutati mudeli CNN1 käsku *predict*. See käsk teeb pildi ruudustikuks ja annab igale ruudule hinnangu, kas tegemist on mükoriisse juurega (M+), mittemükoriisse juurega (M-) või taustaga (X). Töös kasutati vaikimisi ruudu suurust 126 pikslit. Peale *predict* käsu kasutamist annoteeriti 5 pilti esimesest ja teisest pildikogumist, kasutades kasutajaliidest Amfbrowser, mida on näha **Joonis 1**. Selleks anti juureruutudele visuaalselt tõesed hinnangud, määrates need M+, M- või X klassi. Seejärel kasutati käsku *train*, millega treeniti edasi närvivõrku CNN1v2.h5, millest tehti kaks uut närvivõrku mõlema pildikogumiku jaoks, esimese pildikogumiku mudel sai nimeks col2 ja teise

pildikogumiku mudel nimetati col3-ks. Mõlemaid närvivõrke treeniti kaks korda 100 epohhi (ingl *epoch*, üks terviklik andmestiku läbi töötamine). Seejärel kasutati jälle käsku *predict,* et saada masinõppe meetodi lõplikud tulemused.

2.4. Andmeanalüüs

Masinõppe mudelite täpsuse hindamiseks arvutati masinõppes tihti kasutuses olevad veamaatriksid (ingl *confusion matrix*). Veamaatriksid näitavad masinõppe mudeli täpsust, kus klassikaliselt näidatakse klassidese (antud juhul positiivne ja negatiivne) jaotamise õigsust protsentides (**Joonis 2**) (Chicco & Jurman, 2020). Veamaatriksitel on üks diagonaal, mis näitab õigeid ennustusi, praegusel näidisgraafikul esitatud rohelisena (**Joonis 2**).



Joonis 2. Veamaatriksi (ingl *confusion matrix*) näidis, mis näitab masinõppe ennustatud klassi võrdluses päris klassiga ja vigade ning korrektsuste tüüpe. Päris veamaatriks näitab ka ennustatud ja päris klasside osakaalusid protsentides. Rohelisena kujutatud õiged ennustused, punasega valed.

Invasiivide ja mulla elurikkuse mõju süstlehise teelehe muutujatele (**Joonis 3**;**Tabel 1**) vaadeldi lineaarse mudeliga (lm) R paketist lme4 (Bates et al., 2015), kus sõltuvaks muutujaks võeti logit transformeeritud AM kolonisatsiooni osakaal, logit transformeeritud osakaal kogu biomassist, maa-alune ja maapealne biomass. Võõrliikide esinemine ja mulla elurikkuse tase olid nendes mudelites kategoorilised muutujad, testiti ka nende kahe kategoorilise muutuja interaktsiooni. Logit transformeerima pidi juurte AM kolonisatsiooni ja biomassi osakaalu tervest potist, sest need muutujad varieeruvad vahemikus 0-1 ehk nad ei ole muidu sobivad lineaarse

mudeliga. Nendele neljale mudelile tehti kõigile II tüüpi Anova (Fox & Weisberg, 2011), millest saadud p-väärtused on esitatud **Tabel 1**.

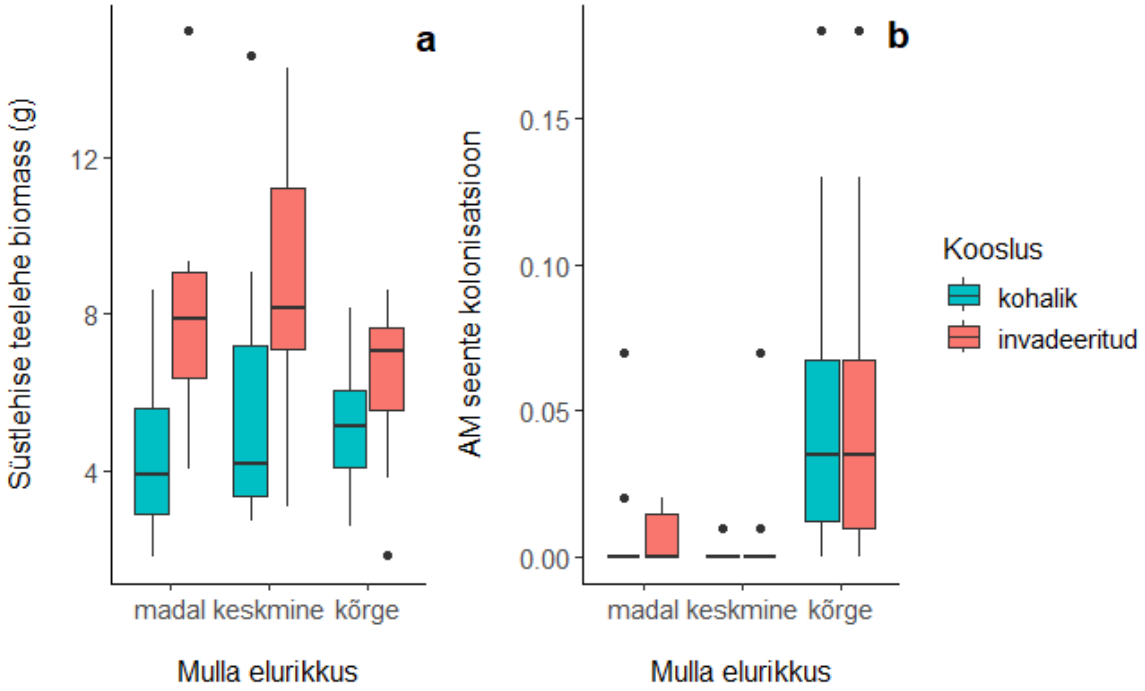
AMFinderi ennustuste (**Joonis 4**) analüüsimisel kasutati samuti lineaarset mudelit (lm) (Bates et al., 2015). Kolonisatsiooni hulk logit-transformeeriti, masinõppe mudeli ja mulla elurikkuse mõju pandi üheks kategooriliseks muutujaks kokku, sest üks mudel täielikult kattub madala elurikkusegaeiseks kategooriliseks muutujaks võeti võõrliikide olemasolu/puudumine. Lõpuks tehti sellele mudelile II tüüpi Anova (Fox & Weisberg, 2011).

Klassikalisel meetodil määratud süstlehise teelehe ja teiste taimede kolonisatsiooni võrdluses kasutati lineaarset segamudelit (lmer) paketist lme4 (Bates et al., 2015). AM kolonisatsioon võeti sõltuvaks muutujaks, sõltumatuks muutujaks võeti kategooriline muutuja, kas liik oli süstlehine teeleht või mingi muu liik ning juhuslikeks muutujateks spetsiifiline taimeliik ja poti number.

3. Tulemused

Süstlehise teelehe biomassi ja AM seente kolonisatsiooni määra sõltuvalt mulla elurikkusest ja invadeeritusest on näha **Joonis 3**. Võõrliikide olemasolul oli süstlehise teelehe kogu biomassile (**Joonis 3a**,**Tabel 1.** Lineaarsetele mudelitele arvutatud p-väärtused, mis näitavad mulla elurikkuse, invadeerituse ja nende interaktsiooni mõju sõltuvatele muutujatele: süstlehise teelehe AM seente kolonisatsioon, maapealne biomass, maa-alune biomass ja biomassi osakaal. Mudel loeti oluliseks kui $p < 0.05$, ning on märgitud **paksus kirjas**.) ning maapealsele biomassile oluline positiivne mõju (**Tabel 1**). Maa-alune biomass ei olnud ühestki tegurist oluliselt mõjutatud (**Tabel 1**). Lisaks oli invasiividel oluline positiivne mõju teelehe osakaalule kogu biomassist (**Tabel 1**).

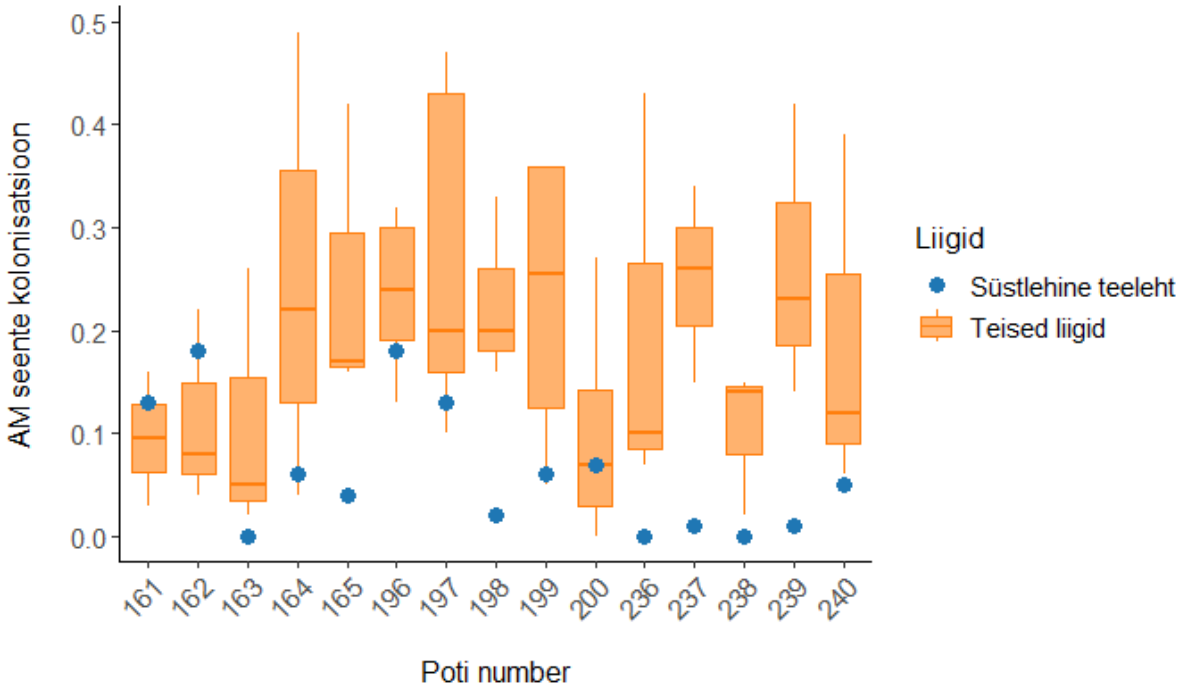
Süstlehise teelehe AM seente kolonisatsioon (**Joonis 3b**) oli kõikides pottides väga madal, 58% juurtes ei leitud mükoriisat. Ainuke selge ja statistiliselt oluline AM kolonisatsiooni erinevus oli kõrge ja muude elurikkusega muldade vahel (**Joonis 3b**, p=0,0001). Kõrgete elurikkusega muldade keskmine AM seente kolonisatsioon oli 5,4%, mis oli kordades rohkem keskmisest (0,45%) ja madalast (0,0%). Seost invasiivide hulga ja AM seente kolonisatsiooni vahel ei leitud, samuti polnud olulist mõju mulla elurikkuse ja invasiooni koosmõjul.



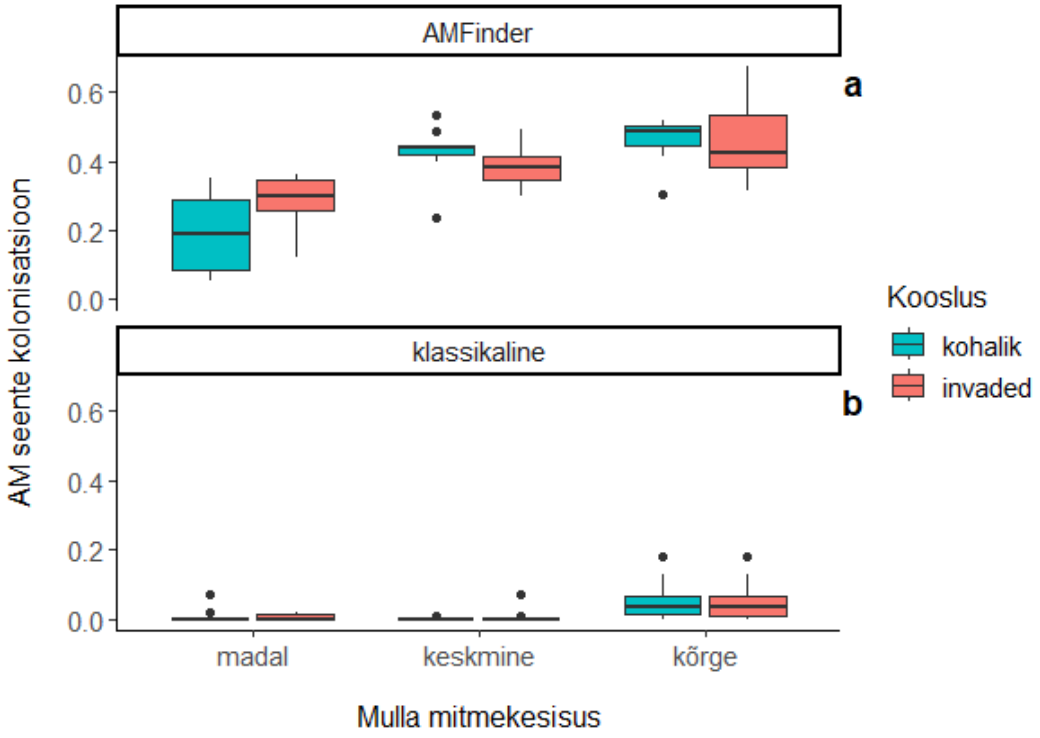
Joonis 3. Mulla elurikkuse ja võõrliikide mõju süstlehise teelehe biomassile (a) ja AM seente kolonisatsioonile (b). Kasti piirid näitavad 1. ja 3. kvartiili ning vurrud näitavad maksimaalselt 1,5 kordset 1. ja 3. kvartiili kaugust, joon kasti sees esitab mediaani ning punktid näitavad erindeid.

Tabel 1. Lineaarsetele mudelitele arvutatud p-väärtused, mis näitavad mulla elurikkuse, invadeerituse ja nende interaktsiooni mõju sõltuvatele muutujatele: süstlehise teelehe AM seente kolonisatsioon, maapealne biomass, maa-alune biomass ja biomassi osakaal. Mudel loeti oluliseks kui $p < 0.05$, ning on märgitud **paksus kirjas**.

	Mulla elurikkus	Invadeeritus	Mulla elurikkus × Invadeeritus
AM seente kolonisatsioon	**5.779e-07**	0.8434	0.7612
Maapealne biomass	0.4714	**4.935e-05**	0.2309
Maa-alune biomass	0.1905	0.6138	0.8889
Osakaal kogu biomassist	0.5594	**2.808e-05**	0.3093



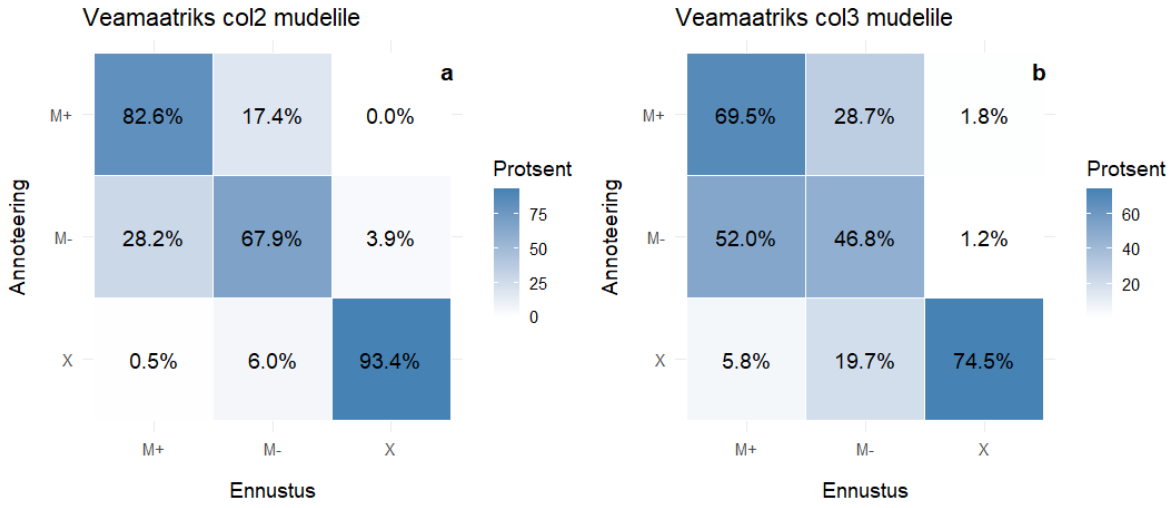
Joonis 4. AM seente kolonisatsioon kõrge elurikkusega muldadega pottide seas süstlehisel teelehel ja teistel liikidel. Pottides 161-165 on kohalike liikidega kooslused ja 196-240 invasiividega. Kasti piirid näitavad 1. ja 3. kvartiili ning vurrud näitavad maksimaalselt 1,5 kordset 1. ja 3. kvartiili kaugust, joon kasti sees esitab mediaani.



Joonis 5. AMFinderi (a) ja klassikalise meetodi (b) erinevus süstlehise teelehe AM seente kolonisatsiooni määramisel. Kasti piirid näitavad 1. ja 3. kvartiili ning vurrud näitavad maksimaalselt 1,5 kordset 1. ja 3. kvartiili kaugust, joon kasti sees esitab mediaani, punktid esitavad erindeid.

Valimisse võetud kõrge elurikkusega muldadega pottides oli süstlehisel teelehel teistest liikidest keskmiselt madalam arbuskulaarse mükoriisa kolonisatsioon (**Joonis 4**), kuid kolonisatsiooni erinevus ei olnud statistiliselt oluline (p = 0.118).

AMFinder hindas mükoriisset kolonisatsiooni pidevalt kõrgemaks kui klassikalisel meetodil määratud tulemused (**Joonis 5**). AMFinderi tulemustes esines statistiliselt oluline masinõppe mudeli ja mulla elurikkuse koosmõju (p<0,001), samuti oli statistiliselt oluline mõju mulla elurikkuse ja invasiivsete liikide interaktsioonil (p=0,02). AMFinderi analüüsi ja klassikalise meetodi vahel peale mudeli mõju eemaldamist ei olnud korrelatsiooni (p=0.28).



Joonis 6. Veamaatriksid (ingl *confusion matrix*) masinõppe mudeliltele col2 (a) ja col3 (b), mis näitavad erinevatesse klassidesse ennustatud andmepunktide osakaalu iga annoteeritud klassi kohta. Mükoriisne juur (M+), mittemükoriisne juur (M-), taust/muu (X). Täpsem kirjeldus veamaatriksite kohta metoodikas. Col2 mudel ennustas madala elurikkusega mulla juuri, col3 ennustas keskmise ja kõrge elurikkusega mulla juuri.

Masinõppe mudelite col2 ja col3 veamaatriksid, mis illustreerivad erinevatesse klassidesse ennustatud andmepunktide osakaalu iga annoteeritud klassi kohta, näitasid, et nii col2 kui ka col3 masinõppemudelid määrasid kõige korrektsemalt tausta, sellest vähem täpselt mükoriisseid juuri ja seejärel mittemükoriisseid juuri (**Joonis 6**). Mõlemate mudelite levinuimad vead olid mittemükoriissete juurte määramine mükoriisseteks. Col3 määras enamiku mittemükoriisseid juuri valesti mükoriisseteks (52%). Mudelid erinesid täpsuse poolest suuresti üksteisest, col2 täpsus oli 83%, col3-l 65%.

Tabel 2. Masinõppe mudelite col2 ja col3 annoteeritud treeningandmete ja ennustuste hulgad ja osakaalud mükoriissete juurte (M+), mittemükoriissete juurte (M-) ja tausta (X) osas

	M+	M-	X
Col2 annoteeritud treeningandmed	109 (*0.8%)*	5310 (*40.2%)*	7773 (*58.9%)*
Col2 ennustused	1628 *(12.3%)*	4096 *(31.0%)*	7468 *(56.6%)*
Col3 annoteeritud treeningandmed	488 *(3.2%)*	5195 *(33.6%)*	9781 *(63.3%)*
Col3 ennustused	3608 *(23.3%)*	4501 *(29.1%)*	7355 *(47.6%)*

Mõlemal mudelil oli treeningandmete hulgas proportsionaalselt vähe mükoriisseid juuri, mille hulka mõlemad määrasid keskmiselt kordades suuremaks (**Tabel 2**). Col3 sai treenimiseks rohkem mükoriisseid juuri, kuid määras neid ebatäpsemalt kui col2 (**Joonis 6**).

4. Arutelu

4.1. Võõrlikide ja mulla elurikkuse mõju süstlehisele teelehele

Esimene hüpotees, mis ennustas, et teelehe biomass on väiksem madala mulla elurikkuse ja võõrliikide olemasolu korral, ei leidnud tõestust. Süstlehise teelehe maapealne biomass oli positiivselt mõjutatud võõrliikide olemasolust, samuti oli süstlehise teelehe osakaal kogu biomassist suurem võõrliikidega koos kasvades. Mulla elurikkuse tasemel polnud teelehe biomassile olulist mõju. Samuti ei leitud tegurite koosmõju. Võib seetõttu eeldada, et sellises lühiajalises katses oli süstlehine teeleht konkurentsivõimelisem antud võõrliikide suhtes kui rohkemate kohalike liikidega kasvades. Süstlehine teeleht on Põhja-Ameerikas invasiivne väga varieeruvates tingimustes (Hanley, 2012). Invasiivsuse üks mehhanisme on looduslikest vaenlasest vabanemine; kuna aga kasvuhoonekatses puudusid herbivoorid ning tõenäoliselt ka paljud õhu kaudu levivad patogeenid, näiteks teelehe jahukaste (*Podosphaera plantaginis* U. Braun & S. Takam.) (Laine & Hanski, 2006), siis saigi teeleht vaenlasteta kasvada. Võib arvata, et süstlehine teeleht sai antud pottides kasvades endale sobivad tingimused, mille tõttu ei pidanud taim kasutama mükoriisa abi. Kuigi teistes töödes on näidatud, et süstlehine teeleht on kõrgelt mükoriisne (De Deyn et al., 2009; Rasmussen et al., 2020), on lisaks leitud, et teelehe biomass tervikuna ei ole mükoriisast sõltuv (De Deyn et al., 2009). Seda näitab ka praeguse töö andmetes maa-aluse biomassi ja AM seente kolonisatsiooni suurenemise puudumine invadeerituse mõjul, mis näitab, et teeleht ei pidanud ka endale sobivamal hetkel panustama maa-alustesse ressurssidesse, et endiselt olla konkurentsivõimeline maa peal.

Teine hüpotees, et AM seente kolonisatsioon on süstlehisel teelehel madalam madala mulla elurikkuse ning võõrliikide olemasolu korral, pidas osaliselt paika. Madalal mulla elurikkusel teelehe arbuskulaarmükoriisne kolonisatsioon peaaegu et puudus ja kõrge elurikkusega pottides oli kolonisatsioon suurem. Võõrliikide olemasolul ei olnud AM seente kolonisatsioonile süstlehise teelehe juurtes olulist mõju. Zubek et al. (2016) leidsid looduses intensiivselt ühe liigi poolt invadeeritud aladel tehtud katses, et süstlehise teelehe kolonisatsioon muutus võõrliikide liikidest sõltuvalt kas suuremaks või väiksemaks. Selle töö potikatse puhul võis võõrliikide mõju jääda olematuks, sest poti

muld polnud monokultuurselt üle võetud nagu Zubek et al. (2016) töös, samuti võib efekti eemaldada looduslike mõjurite potikatsest puudumine. Võimaluseks on ka, et kui Zubek et al. (2016) leidsid, et mõju AM seente kolonisatsioonile sõltus invasiivsest liigist, et praeguse potikatse puhul kolme võõrliigi koosmõju sattus kokkuvõttes olema neutraalne. Üldiselt jäi teelehe AM kolonisatsioon kõikides pottides väga madalaks võrreldes teiste tööde 15-80% osakaaludega (De Deyn et al., 2009; Rasmussen et al., 2020). On küll näidatud, et teelehe kolonisatsiooni määr saab ajas langeda sõltuvalt aastaajast, kuid see juhtub, sest ressursse suunatakse herbivooridega võitlemise vastu ja mitte mükoriisale (Gange et al., 2002). Praeguses katses herbivoore polnud, kuid on võimalik, et kasvamise algstaadiumis oli teelehel mükoriisat rohkem kui peale kolme kuud.

Väheneva mulla elurikkusega väheneb taimede elurikkus, tõuseb rohttaimede produktsioon ja suureneb fosfori mullast välja leostumine (Wagg et al., 2014). Nende tegurite tõttu võiks vähenenud mullaelurikkusega ökosüsteemides peale jääda kiiresti kasvavad rohttaimed ehk ka invasiivsed võõrliigid. Samuti võiks vähese fosfori tingimustes võita taimed, mis suudavad hästi ära kasutada arbuskulaarset mükoriisat ja täpsemalt just need, mis leiavad ka madala elurikkusega mullast endale sobiva seenpartneri. Praeguses katses suutis vähese mükoriisa kasutusega süstlehine teeleht siiski edukas olla, mis võib ka viidata sellele, et mullas oli fosforit piisavalt. Süstlehine teeleht on praeguste tulemuste näitel mükoriissuse poolest plastiline, et ta suudab edukas olla ka ilma mükoriisata. Kuigi teelehe biomassi osakaal tervest potist ei sõltunud elurikkuse tasemest, võiks ta madala elurikkuse puhul üldiselt võita, kui tal endal pole efektiivselt kasvamiseks mükoriisat vaja. Sarnaselt võiksid mulla elurikkuse vähenemisest kasu saada ka teised taimed, mis ei ole mükoriisast nii sõltuvad või selle suhtes plastilisemad. Selle loogika järgi võiksid tõhustatud mutualismi hüpoteesi (Reinhart & Callaway, 2006) tõttu edukaks saanud invasiivsed liigid olla väheneva mulla elurikkuse oludes tulevikus vähem edukad. Lisaks võiksid tulevikus väheneva mulla elurikkusega suurema edu saada taimed, nagu salukõdrik, mis segavad teiste taimede mükoriisaga seondumist (Stinson et al., 2006), tehes taimede elu, mis seenpartneritest rohkem sõltuvad, veelgi raskemaks.

4.2. AMFinderi meetodi puudused

Kolmas hüpotees, et AM seente kolonisatsiooni mustrid on paremini nähtavad masinõppe mudeliga, osutus üldiselt valeks. AMFinderi meetodi kasutamine osutus ebaefektiivsemaks ja ebatäpsemaks, kui klassikaline meetod. Piltide skanneerimisel oli ZEISS Labscope programmil mitmeid programmivigu, mis vähendasid efektiivsust, samuti polnud kõige efektiivsem AMFinderi programm (vaata täpsemalt Lisa 1. AMFinderi meetodi programmide efektiivsusest ja vigadest).

AMFinderiga treenitud masinõppe mudelid col2 ja col3 olid mõlemad üpriski ebatäpsed mükoriissuse määramisel. Mõlemad määrasid väga suure osa mittemükoriisseid juuri mükoriisseteks, mis tõstis mitmekordselt ennustatud mükoriisa osakaalu. Selle tõttu saab järeldada, et statistiliselt olulised mõjud AM kolonisatsiooni ja mulla elurikkuse ning võõrliikide olemasolu interaktsiooni vahel on vähe usaldatavad. Kuna mulla elurikkuse madal tase ja col2 mudel kattuvad täielikult, on võimatu eristada kummagi mõju ulatust, kuid kuna col2 ja col3 erinevad suuresti veamaatriksite osas, võib eeldada, et erinevus võib peaaegu täielikult tuleneda mudelist. On mõneti segadust tekitav, et miks, kui mudelid tekitavad andmetesse palju müra, on näha siis võõrliikide mõju pöördumist positiivsest negatiivseks keskmise ja kõrge mulla elurikkuse juures. On võimalus, et kui praegused mudelid AM seente kolonisatsiooni eriti hästi ei määra, siis need tajuvad teistsugust ökoloogilist interaktsiooni. Interaktsioon võib olla tingitud teelehe konkurentsi muutumisest – teeleht suudab võõrliikidega pottides paremini konkureerida, mistõttu võis juurtes olla rohkem või vähem pigmente mida näiteks üks mudel (col3) määraks vähem ja teine mudel (col2) rohkem mükoriisseks, mille tõttu tekib interaktsiooni statistiliselt oluline pöördumine. Siiski peab seda hüpoteesi kriitiliselt võtma, sest nagu varem välja toodi, ei ole AMFinderi tulemused usaldusväärsed.

Tundub, et AMFinderi mudel oli praeguse andmestiku jaoks alasobitunud (ingl *underfitting*), mis tähendab, et andmestik oli mudeli jaoks liiga raske ning treeningandmete põhjal ei suutnud mudel tunnuseid ära õppida (Tampuu, 2020). Võib arvata, et AMFinderi mudel CNN1, mis oli treenitud väga hästi puhastatud tubakataimede juurtel, ei suutnud suure andmete erinevuse tõttu halvemini puhastatud süstlehise teelehe juuri nii hästi määrata. Puhastamist saaks paremaks teha teiste

puhastusetappide lisamine nagu juurte üleöö 70% etanoolis hoidmine enne KOH-is keetmist või pärast keetmist 10 minutit 3% vesinikperoksiidis leotamine, mis olid puhastamisel efektiivsed ka tumedalt pigmenteerunud ja puitunud juurtel (Moukarzel et al., 2020). Alasobitumist oleks võinud vähendada analüüsiandmetega sarnaste treeningandmete suurendamine. Samast andmestikust rohkemate andmete andmine oleks nii väikese andmestiku puhul olnud ebapraktiline või oleks hakanud juba tulemusi kallutama, sest oleks siis suurema osa analüüsiandmete pealt juba varem õppinud. Laaspere (2024) leidis, et võib-olla saaks AMFinderi analüüsitulemusi paremaks, kui treenida rohkem kui 100 epohhi, mida praeguses töös ka tehti ja jõuti ka treenimise piirini, mis tähendab, et mudel rohkema treenimise peale enam ei paranenud. Praegused tulemused näitavad, et kauem mudeli treenimine ei paranda AMFinderi täpsust ja seetõttu oleks parem kasutusele võtta mõni raskem mudel, nagu Laaspere (2024) ka välja toob. Üheks AMFinderist keerulisemaks mudeliks on näiteks Mask R-CNN, millega on samuti tehtud mükoriisa analüüse (S. Zhang et al., 2024). Kui aga juuri ei saa väga selgelt puhtaks ja teiste mudelite kasutamine ei anna täpseid tulemusi või ei võida ajas, on siiski parem kasutada klassikalist meetodit.

Kokkuvõte

Töö eesmärgid uurida võõrliikide ja mulla elurikkuse vähenemise mõju AM kolonisatsioonile ning AMFinderi sobivust AM kolonisatsiooni määramisel said täidetud. AM seente kolonisatsiooni määr oli oluliselt suurem kõrgema mulla elurikkuse juures, kuid hüpoteesi teisne pool – võõrliikide negatiivne mõju – ei leidnud kinnitust. Süstlehise teelehe biomass oli vastupidiselt hüpoteesile võõrliikidest positiivselt sõltuv, mis võis tuleneda algsest väiksemast konkurentsist nendes pottides . Mulla elurikkuse tase süstlehise teelehe biomassi ei mõjutanud. Samuti polnud võõrliikidel ja mulla elurikkuse vähenemisel selget koosmõju. Süstlehise teelehe AM seente kolonisatsioon oli pidevalt madalam kui teistes uuringutes, kuid see ei vähendanud isendite edukust, näidates vähest sõltuvust mükoriisast.

AMFinderiga AM kolonisatsiooni määramine ei osutunud selles töös eusaldusväärseks. Esiteks esines mitmeid programmivigu, mis tegid töötamise ebaefektiivsemaks. Teiseks ennustasid AMFinderi masinõppe mudelid süstlehise teelehe AM kolonisatsiooni piisavalt ebatäpselt, et meetodi tulemused ei olnud ökoloogiliselt kasutatavad. Metoodikat saaks parandada, tehes kas juuri puhtamaks ja/või võttes kasutusele keerulisema mudeli, mis suudaks mükoriisat tuvastada ka segasematelt piltidelt.

Edasiliikumiseks tuleks võõrliikide ja mulla elurikkuse vähenemise mõjusid uurida looduslikes oludes. Võimalik, et lühiajalises potikatses ei omanud antud võõrliigid süstlehisele teelehele sama sugevat mõju, kui looduslikult invadeeritud kooslustes. Samuti ei pruugi madala mulla elurikkuse mõjud kooslusele ja toitainete ringlusele lühiajalise avalduda. Järgnevates uuringutes saaks vaadata juba tugevalt invadeeritud

Summary

The aim of this thesis was to study the effects of non-native plant species and soil biodiversity loss on the growth of common plant species and AM fungal colonization in the roots of the test species as well as to test the efficiency of AMFinder for estimating AM fungal colonization in the roots of test plant species. Contrary to the hypothesis, the biomass of the test species, *Plantago lanceolata*, was higher when growing with non-native species, which may have occurred because of lower competition in those pots. Soil biodiversity level did not affect *Plantago lanceolata* biomass. Also, there was no significant effect on the interaction between non-native species and soil biodiversity loss. The results indicated that AM colonization rate was significantly higher at high soil biodiversity, demonstrating that the loss of soil biodiversity limits the ability of native plant species to form arbuscular mycorrhiza. The results also indicated that the presence of non-native plant species and the interaction between non-native plant species and decreasing soil biodiversity did not influence AM fungal colonization of a test species. In general, *Plantago lanceolata* had lower AM colonization in the present study than in than in earlier papers, but the plant species was competitive in the pots, which shows that it is not very dependent on AM fungi.

The use of AMFinder to analyze AM colonization rate was found to be inadequate in this thesis. First of all, the programs that were used contained many bugs, which made working with them inefficient. Secondly, the AMFinder machine learning models predicted the AM colonization rate with insufficient accuracy, making the results unusable in ecological conclusions. Methodology could be improved if roots could be better cleared and/or if another more complex machine learning model was implemented to analyze mycorrhizal structures from visually messy pictures.

In future studies, to better understand the effects of soil biodiversity loss and non-native species, longer experiments or studies in the natural environment are needed, as short-term greenhouse experiments might not fully reveal the influence of non-native plant species. Also, soil biodiversity loss has long-term effects on plant communities and nutrient cycling that would not be evident in short-term experiments. Future studies could take advantage of changes that have already occurred in the environment,

incorporate heavily invaded habitats, and specify the effects of the invasion in experimental settings.

Tänusõnad

Soovin tänada oma juhendajaid, Kadri Kooremit ja Siim-Kaarel Seppa toetamise, rahustamise ja suunamise eest. Soovin tänada ka Monikat ja Janat, kes aitasid mind praeguse töö andmete kogumisel. Lisaks soovin tänada sõpru ja lähedasi, et suutsin pärast nendega koos aega veetes töö jaksu jälle leida.

Kasutatud kirjandus

Anthony, M. A., Bender, S. F., & van der Heijden, M. G. A. (2023). Enumerating soil biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *120*(33), e2304663120. https://doi.org/10.1073/pnas.2304663120

Aslani, F., Juraimi, A. S., Ahmad-Hamdani, M. S., Alam, M. A., Hasan, M. M., Hashemi, F. S. G., & Bahram, M. (2019). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant invasion trajectory. *Plant and Soil*, *441*(1), 1–14. https://doi.org/10.1007/s11104-019-04127-5

Augé, R. M., Toler, H. D., & Saxton, A. M. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: A meta-analysis. *Mycorrhiza*, *25*(1), 13–24. https://doi.org/10.1007/s00572-014-0585-4

Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, *515*(7528), 505–511. https://doi.org/10.1038/nature13855

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*, 1–48. https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01

Bellard, C., Cassey, P., & Blackburn, T. M. (2016). Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology Letters*, *12*(2), 20150623. https://doi.org/10.1098/rsbl.2015.0623

Bellgard, S. E., & Williams, S. E. (2011). Response of mycorrhizal diversity to current climatic changes. *Diversity*, *3*(1), 8–90. https://doi.org/10.3390/d3010008

Bini, S. A. (2018). Artificial intelligence, machine learning, deep learning, and cognitive computing: What do these terms mean and how will they impact health care? *The Journal of Arthroplasty*, *33*(8), 2358–2361. https://doi.org/10.1016/j.arth.2018.02.067

Blum, W. E. H. (2005). Functions of soil for society and the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *4*(3), 75–79. https://doi.org/10.1007/s11157-005-2236-x

Boltovskoy, D., Correa, N. M., Burlakova, L. E., Karatayev, A. Y., Thuesen, E. V., Sylvester, F., & Paolucci, E. M. (2021). Traits and impacts of introduced species: A quantitative review of meta-analyses. *Hydrobiologia*, *848*(9), 2225–2258. https://doi.org/10.1007/s10750-020-04378-9

Brito, I., Carvalho, M., & Goss, M. J. (2021). Managing the functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi for the sustainable intensification of crop production. *Plants, People, Planet*, *3*(5), 491–505. https://doi.org/10.1002/ppp3.10212

Brookes, P. (2001). The Soil Microbial Biomass: Concept, Measurement and Applications in Soil Ecosystem Research. *Microbes and Environments*, *16*(3), 131–140. https://doi.org/10.1264/jsme2.2001.131

Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, *220*(4), 1108–1115. https://doi.org/10.1111/nph.14976

Bunn, R. A., Lekberg, Y., & Zabinski, C. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi ameliorate temperature stress in thermophilic plants. *Ecology*, *90*(5), 1378–1388. https://doi.org/10.1890/07-2080.1

Bunn, R. A., Ramsey, P. W., & Lekberg, Y. (2015). Do native and invasive plants differ in their interactions with arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis. *Journal of Ecology*, *103*(6), 1547–1556. https://doi.org/10.1111/1365-2745.12456

Callaway, R. M., & Ridenour, W. M. (2004). Novel weapons: Invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *2*(8), 436–443. https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0436:NWISAT]2.0.CO;2

Chen, E., Liao, H., Chen, B., & Peng, S. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi are a double-edged sword in plant invasion controlled by phosphorus concentration. *New Phytologist*, *226*(2), 295–300. https://doi.org/10.1111/nph.16359

Chen, L., Wang, M., Shi, Y., Ma, P., Xiao, Y., Yu, H., & Ding, J. (2023). Soil phosphorus form affects the advantages that arbuscular mycorrhizal fungi confer on the invasive plant species, Solidago canadensis, over its congener. *Frontiers in Microbiology*, *14*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160631

Chen, S., Jin, W., Liu, A., Zhang, S., Liu, D., Wang, F., Lin, X., & He, C. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase growth and secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress. *Scientia Horticulturae*, *160*, 222–229. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.05.039

Cheng, C., Liu, Z., Song, W., Chen, X., Zhang, Z., Li, B., van Kleunen, M., & Wu, J. (2024). Biodiversity increases resistance of grasslands against plant invasions under multiple environmental changes. *Nature Communications*, *15*(1), 4506. https://doi.org/10.1038/s41467-024-48876-z

Chicco, D., & Jurman, G. (2020). The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation. *BMC Genomics*, *21*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/s12864-019-6413-7

Corlett, R. T. (2016). Plant diversity in a changing world: Status, trends, and conservation needs. *Plant Diversity*, *38*(1), 10–16. https://doi.org/10.1016/j.pld.2016.01.001

Cotton, T. A. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungal communities and global change: An uncertain future. *FEMS Microbiology Ecology*, *94*(11), fiy179. https://doi.org/10.1093/femsec/fiy179

Crowther, T. W., & Bradford, M. A. (2013). Thermal acclimation in widespread heterotrophic soil microbes. *Ecology Letters*, *16*(4), 469–477. https://doi.org/10.1111/ele.12069

Dai, J., Hu, J., Zhu, A., Bai, J., Wang, J., & Lin, X. (2015). No tillage enhances arbuscular mycorrhizal fungal population, glomalin-related soil protein content, and organic carbon accumulation in soil macroaggregates. *Journal of Soils and Sediments*, *15*(5), 1055–1062. https://doi.org/10.1007/s11368-015-1091-9

Dawson, W., Fischer, M., & van Kleunen, M. (2011). The maximum relative growth rate of common UK plant species is positively associated with their global invasiveness. *Global Ecology and Biogeography*, *20*(2), 299–306. https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00599.x

De Deyn, G. B., Biere, A., van der Putten, W. H., Wagenaar, R., & Klironomos, J. N. (2009). Chemical defense, mycorrhizal colonization and growth responses in Plantago lanceolata L. *Oecologia*, *160*(3), 433–442. https://doi.org/10.1007/s00442-009-1312-2

Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006). The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, *42*, S23–S38. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.07.001

Divíšek, J., Chytrý, M., Beckage, B., Gotelli, N. J., Lososová, Z., Pyšek, P., Richardson, D. M., & Molofsky, J. (2018). Similarity of introduced plant species to native ones facilitates naturalization, but differences enhance invasion success. *Nature Communications*, *9*(1), 4631. https://doi.org/10.1038/s41467-018-06995-4

Dong, L.-J., Ma, L.-N., & He, W.-M. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi help explain invasion success of *Solidago canadensis*. *Applied Soil Ecology*, *157*, 103763. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103763

Dostál, P., Müllerová, J., Pyšek, P., Pergl, J., & Klinerová, T. (2013). The impact of an invasive plant changes over time. *Ecology Letters*, *16*(10), 1277–1284. https://doi.org/10.1111/ele.12166

Dowarah, B., Gill, S. S., & Agarwala, N. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi in conferring tolerance to biotic stresses in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, *41*(4), 1429–1444. https://doi.org/10.1007/s00344-021-10392-5

Duan, S., Jin, Z., Zhang, L., & Declerck, S. (2025). Mechanisms of cooperation in the plants-arbuscular mycorrhizal fungi-bacteria continuum. *The ISME Journal*, *19*(1), wraf023. https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf023

Duarte, A. G., & Maherali, H. (2022). A meta-analysis of the effects of climate change on the mutualism between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology and Evolution*, *12*(1), e8518. https://doi.org/10.1002/ece3.8518

Eisenhauer, N., & Scheu, S. (2008). Invasibility of experimental grassland communities: The role of earthworms, plant functional group identity and seed size. *Oikos*, *117*(7), 1026–1036. https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16812.x

Essl, F., Bacher, S., Genovesi, P., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., Katsanevakis, S., Kowarik, I., Kühn, I., Pyšek, P., Rabitsch, W., Schindler, S., van Kleunen, M., Vilà, M., Wilson, J. R. U., & Richardson, D. M. (2018). Which Taxa Are Alien? Criteria, Applications, and Uncertainties. *BioScience*, *68*(7), 496–509. https://doi.org/10.1093/biosci/biy057

European Commission. Directorate General for the Environment. (2011). *Soil: The hidden part of the climate cycle.* Publications Office of the European Union. https://data.europa.eu/doi/10.2779/30669

Evangelisti, E., Turner, C., McDowell, A., Shenhav, L., Yunusov, T., Gavrin, A., Servante, E. K., Quan, C., & Schornack, S. (2021). Deep learning-based quantification of arbuscular mycorrhizal fungi in plant roots. *New Phytologist*, *232*(5), 2207–2219. https://doi.org/10.1111/nph.17697

Evelin, H., Devi, T. S., Gupta, S., & Kapoor, R. (2019). Mitigation of Salinity Stress in Plants by Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: Current Understanding and New Challenges. *Frontiers in Plant Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00470

Fierer, N., Strickland, M. S., Liptzin, D., Bradford, M. A., & Cleveland, C. C. (2009). Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters*, *12*(11), 1238–1249. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x

Fox, J., & Weisberg, S. (2011). *An R Companion to Applied Regression* (2. tr). SAGE Publications.

Gange, A. C., Bower, E., & Brown, V. K. (2002). Differential effects of insect herbivory on arbuscular mycorrhizal colonization. *Oecologia*, *131*(1), 103–112. https://doi.org/10.1007/s00442-001-0863-7

Greener, J. G., Kandathil, S. M., Moffat, L., & Jones, D. T. (2022). A guide to machine learning for biologists. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *23*(1), 40–55. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00407-0

Han, S., Delgado-Baquerizo, M., Luo, X., Liu, Y., Van Nostrand, J. D., Chen, W., Zhou, J., & Huang, Q. (2021). Soil aggregate size-dependent relationships between microbial functional diversity and multifunctionality. *Soil Biology and Biochemistry*, *154*, 108143. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108143

Hanley, M. E. (2012). Seedling defoliation, plant growth and flowering potential in native- and invasive-range Plantago lanceolata populations. *Weed Research*, *52*(3), 252–259. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2012.00910.x

Hanski, I., von Hertzen, L., Fyhrquist, N., Koskinen, K., Torppa, K., Laatikainen, T., Karisola, P., Auvinen, P., Paulin, L., Mäkelä, M. J., Vartiainen, E., Kosunen, T. U., Alenius, H., & Haahtela, T. (2012). Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(21), 8334–8339. https://doi.org/10.1073/pnas.1205624109

Harrower, J. T., & Gilbert, G. S. (2021). Parasitism to mutualism continuum for Joshua trees inoculated with different communities of arbuscular mycorrhizal fungi from a desert elevation gradient. *PLOS ONE*, *16*(8), e0256068. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256068

Hiiesalu, I., Pärtel, M., Davison, J., Gerhold, P., Metsis, M., Moora, M., Öpik, M., Vasar, M., Zobel, M., & Wilson, S. D. (2014). Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: Associations with grassland plant richness and biomass. *New Phytologist*, *203*(1), 233–244. https://doi.org/10.1111/nph.12765

Hoppe, A., Degny, E. M., Siverson, C., Djarnie, F., & Mahmoud, M. (2022). An Overview of Machine Learning in Biology. *2022 International Conference on Computational Science and Computational Intelligence (CSCI)*, 609–612. https://doi.org/10.1109/CSCI58124.2022.00113

Hättenschwiler, S., Tiunov, A. V., & Scheu, S. (2005). Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *36*, 191–218. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.112904.151932

Iacarella, J. C., Mankiewicz, P. S., & Ricciardi, A. (2015). Negative competitive effects of invasive plants change with time since invasion. *Ecosphere*, *6*(7), art123. https://doi.org/10.1890/ES15-00147.1

International Union for Conservation of Nature. (2025). *Invasive alien species and climate change*. https://iucn.org/resources/issues-brief/invasive-alien-species-and-climate-change

Jeschke, J., Aparicio, L. G., Haider, S., Heger, T., Lortie, C., Pyšek, P., & Strayer, D. (2012). Support for major hypotheses in invasion biology is uneven and declining. *NeoBiota*, *14*, 1–20. https://doi.org/10.3897/neobiota.14.3435

Johnson, N. C., Graham, J. H., & Smith, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *The New Phytologist*, *135*(4), 575–585. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x

Kanwal, S., Bano, A., & Malik, R. N. (2015). Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Metals Uptake, Physiological and Biochemical Response of Medicago Sativa L. with Increasing Zn and Cd Concentrations in Soil. *American Journal of Plant Sciences*, *6*(18), 2906–2923. https://doi.org/10.4236/ajps.2015.618287

Keane, R. M., & Crawley, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, *17*(4), 164–170. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02499-0

Klironomos, J. N. (2002). Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature*, *417*(6884), 67–70. https://doi.org/10.1038/417067a

Konvalinková, T., Püschel, D., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., & Jansa, J. (2017). Carbon flow from plant to arbuscular mycorrhizal fungi is reduced under phosphorus fertilization. *Plant and Soil*, *419*(1), 319–333. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3350-6

Kurihara, D., Mizuta, Y., Sato, Y., & Higashiyama, T. (2015). ClearSee: A rapid optical clearing reagent for whole-plant fluorescence imaging. *Development (Cambridge, England)*, *142*(23), 4168–4179. https://doi.org/10.1242/dev.127613

Laaspere, L. (2024). *Karjatamise ja varjutamise mõju krohmseente ning taimede vahelistele interaktsioonidele*. Bakalaureusetöö. Tartu Ülikool, bioloogia ja elustiku kaitse õppekava.

Laine, A.-L., & Hanski, I. (2006). Large-scale spatial dynamics of a specialist plant pathogen in a fragmented landscape. *Journal of Ecology*, *94*(1), 217–226. https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01075.x

Lazarova, S., Coyne, D., G. Rodríguez, M., Peteira, B., & Ciancio, A. (2021). Functional Diversity of Soil Nematodes in Relation to the Impact of Agriculture—A Review. *Diversity*, *13*(2), 64. https://doi.org/10.3390/d13020064

Ling, L. L., Schneider, T., Peoples, A. J., Spoering, A. L., Engels, I., Conlon, B. P., Mueller, A., Schäberle, T. F., Hughes, D. E., Epstein, S., Jones, M., Lazarides, L., Steadman, V. A., Cohen, D. R., Felix, C. R., Fetterman, K. A., Millett, W. P., Nitti, A. G., Zullo, A. M., … Lewis, K. (2015). A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, *517*(7535), 455–459. https://doi.org/10.1038/nature14098

McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*, *115*(3), 495–501. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x

Meisner, A., Hol, W. H. G., Boer, W. de, Krumins, J. A., Wardle, D. A., & Putten, W. H. van der. (2014). Plant–soil feedbacks of exotic plant species across life forms: A meta-analysis. *Biological Invasions*, *16*(12), 2551–2561. https://doi.org/10.1007/s10530-014-0685-2

Moora, M., Berger, S., Davison, J., Öpik, M., Bommarco, R., Bruelheide, H., Kühn, I., Kunin, W. E., Metsis, M., Rortais, A., Vanatoa, A., Vanatoa, E., Stout, J. C., Truusa, M.,

Westphal, C., Zobel, M., & Walther, G.-R. (2011). Alien plants associate with widespread generalist arbuscular mycorrhizal fungal taxa: Evidence from a continental-scale study using massively parallel 454 sequencing. *Journal of Biogeography*, *38*(7), 1305–1317. https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02478.x

Moukarzel, R., Ridgway, H. J., Guerin-Laguette, A., & Jones, E. E. (2020). An improved clearing and staining protocol for evaluation of arbuscular mycorrhizal colonisation in darkly pigmented woody roots. *New Zealand Plant Protection*, *73*, 33–39. https://doi.org/10.30843/nzpp.2020.73.11711

Olsson, P. A., Bååth, E., Jakobsen, I., & Söderström, B. (1995). The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Mycological Research*, *99*(5), 623–629. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80723-5

Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, *55*(1), 158–161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3

Ponge, J.-F., Pérès, G., Guernion, M., Ruiz-Camacho, N., Cortet, J., Pernin, C., Villenave, C., Chaussod, R., Martin-Laurent, F., Bispo, A., & Cluzeau, D. (2013). The impact of agricultural practices on soil biota: A regional study. *Soil Biology and Biochemistry*, *67*, 271–284. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.026

Postma-Blaauw, M. B., de Vries, F. T., de Goede, R. G. M., Bloem, J., Faber, J. H., & Brussaard, L. (2005). Within-trophic group interactions of bacterivorous nematode species and their effects on the bacterial community and nitrogen mineralization. *Oecologia*, *142*(3), 428–439. https://doi.org/10.1007/s00442-004-1741-x

Pyšek, P., Jarošík, V., Hulme, P. E., Pergl, J., Hejda, M., Schaffner, U., & Vilà, M. (2012). A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: The interaction of impact measures, invading species' traits and environment. *Global Change Biology*, *18*(5), 1725–1737. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02636.x

Rasmussen, P. U., Bennett, A. E., & Tack, A. J. M. (2020). The impact of elevated temperature and drought on the ecology and evolution of plant–soil microbe interactions. *Journal of Ecology*, *108*(1), 337–352. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13292

Reinhart, K. O., & Callaway, R. M. (2006). Soil biota and invasive plants. *New Phytologist*, *170*(3), 445–457. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01715.x

Řezáčová, V., Řezáč, M., Gryndler, M., Hršelová, H., Gryndlerová, H., & Michalová, T. (2021). Plant invasion alters community structure and decreases diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied Soil Ecology*, *167*, 104039. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104039

Robeck, P., Essl, F., van Kleunen, M., Pyšek, P., Pergl, J., Weigelt, P., & Mesgaran, M. B. (2024). Invading plants remain undetected in a lag phase while they explore suitable climates. *Nature Ecology & Evolution*, *8*(3), 477–488. https://doi.org/10.1038/s41559-023-02313-4

Roesch, L. F. W., Fulthorpe, R. R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A. K. M., Kent, A. D., Daroub, S. H., Camargo, F. A. O., Farmerie, W. G., & Triplett, E. W. (2007).

Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, *1*(4), 283–290. https://doi.org/10.1038/ismej.2007.53

Schaefer, D. A., Gui, H., Mortimer, P. E., Xu, J., & Gui, H. (2021). Arbuscular Mycorrhiza and Sustainable Agriculture. *Circular Agricultural Systems*, *1*(1), 1–7. https://doi.org/10.48130/CAS-2021-0006

Schlaeppi, K., Bender, S. F., Mascher, F., Russo, G., Patrignani, A., Camenzind, T., Hempel, S., Rillig, M. C., & van der Heijden, M. G. A. (2016). High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, *212*(3), 780–791. https://doi.org/10.1111/nph.14070

Schüβler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and evolution. *Mycological Research*, *105*(12), 1413–1421. https://doi.org/10.1017/S0953756201005196

Seebens, H., Bacher, S., Blackburn, T. M., Capinha, C., Dawson, W., Dullinger, S., Genovesi, P., Hulme, P. E., van Kleunen, M., Kühn, I., Jeschke, J. M., Lenzner, B., Liebhold, A. M., Pattison, Z., Pergl, J., Pyšek, P., Winter, M., & Essl, F. (2021). Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Global Change Biology*, *27*(5), 970–982. https://doi.org/10.1111/gcb.15333

Shen, X., Bai, X., Zhao, C., Tan, Q., Luo, G., Li, C., Ran, C., Zhang, S., Xiong, L., Liao, J., Du, C., Li, Z., Xue, Y., Long, M., Li, M., Luo, Q., Yang, S., Zhang, X., & Xie, Y. (2024). Global response of soil biodiversity to climate and land use changes. *Journal of Cleaner Production*, *471*, 143381. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.143381

Sheng, M., Rosche, C., Al-Gharaibeh, M., Bullington, L. S., Callaway, R. M., Clark, T., Cleveland, C. C., Duan, W., Flory, S. L., Khasa, D. P., Klironomos, J. N., McLeod, M., Okada, M., Pal, R. W., Shah, M. A., & Lekberg, Y. (2022). Acquisition and evolution of enhanced mutualism—An underappreciated mechanism for invasive success? *The ISME Journal*, *16*(11), 2467–2478. https://doi.org/10.1038/s41396-022-01293-w

Simberloff, D., & Von Holle, B. (1999). Positive Interactions of Nonindigenous Species: Invasional Meltdown? *Biological Invasions*, *1*(1), 21–32. https://doi.org/10.1023/A:1010086329619

Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.

Stinson, K. A., Campbell, S. A., Powell, J. R., Wolfe, B. E., Callaway, R. M., Thelen, G. C., Hallett, S. G., Prati, D., & Klironomos, J. N. (2006). Invasive Plant Suppresses the Growth of Native Tree Seedlings by Disrupting Belowground Mutualisms. *PLOS Biology*, *4*(5), e140. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040140

Zhang, F., Li, Q., Yerger, E. H., Chen, X., Shi, Q., & Wan, F. (2018). AM fungi facilitate the competitive growth of two invasive plant species, Ambrosia artemisiifolia and Bidens pilosa. *Mycorrhiza*, *28*(8), 703–715. https://doi.org/10.1007/s00572-018-0866-4

Zhang, S., Wu, Y., Skaro, M., Cheong, J.-H., Bouffier-Landrum, A., Torrres, I., Guo, Y., Stupp, L., Lincoln, B., Prestel, A., Felt, C., Spann, S., Mandal, A., Johnson, N., & Arnold, J. (2024). Computer vision models enable mixed linear modeling to predict arbuscular mycorrhizal fungal colonization using fungal morphology. *Scientific Reports*, *14*(1), 10866. https://doi.org/10.1038/s41598-024-61181-5

Zhu, X., Yang ,Wenying, Sun ,Luying, Song ,Fengbin, & and Li, X. (2021). Anthropogenic land use changes diversity and structure of arbuscular mycorrhizal fungal communities at 100-m scale in northeast China. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *67*(6), 778–792. https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1757660

Zubek, S., Majewska, M. L., Błaszkowski, J., Stefanowicz, A. M., Nobis, M., & Kapusta, P. (2016). Invasive plants affect arbuscular mycorrhizal fungi abundance and species richness as well as the performance of native plants grown in invaded soils. *Biology and Fertility of Soils*, *52*(6), 879–893. https://doi.org/10.1007/s00374-016-1127-3

Tampuu, A. (2020). *Tehisintellekti Algkursus—Kursused—Arvutiteaduse instituut*. https://courses.cs.ut.ee/2020/Tehisintellekti_algkursus/spring/Main/PARTIIIVorgud

Tarca, A. L., Carey, V. J., Chen, X., Romero, R., & Drăghici, S. (2007). Machine learning and its applications to biology. *PLOS Computational Biology*, *3*(6), e116. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0030116

Trombley, J., Celenza, J. L., Frey, S. D., & Anthony, M. A. (2025). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Boost Development of an Invasive Brassicaceae. *Plant, Cell & Environment*. https://doi.org/10.1111/pce.15508

Tsiafouli, M. A., Thébault, E., Sgardelis, S. P., de Ruiter, P. C., van der Putten, W. H., Birkhofer, K., Hemerik, L., de Vries, F. T., Bardgett, R. D., Brady, M. V., Bjornlund, L., Jørgensen, H. B., Christensen, S., Hertefeldt, T. D., Hotes, S., Gera Hol, W. h., Frouz, J., Liiri, M., Mortimer, S. R., … Hedlund, K. (2015). Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, *21*(2), 973–985. https://doi.org/10.1111/gcb.12752

van Asselen, S., & Verburg, P. H. (2013). Land cover change or land-use intensification: Simulating land system change with a global-scale land change model. *Global Change Biology*, *19*(12), 3648–3667. https://doi.org/10.1111/gcb.12331

Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(12), 5004–5007.

Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., & van der Heijden, M. G. A. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(14), 5266–5270. https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111

Wall, D. H., Nielsen, U. N., & Six, J. (2015). Soil biodiversity and human health. *Nature*, *528*(7580), 69–76. https://doi.org/10.1038/nature15744

Wang, B., & Qiu, Y.-L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, *16*(5), 299–363. https://doi.org/10.1007/s00572-005-0033-6

Wang, X., Wang, X., Wang, W., Wang, J., & Yu, F. (2022). Effects of Invasive Plant Diversity on Soil Microbial Communities. *Diversity*, *14*(11), 992. https://doi.org/10.3390/d14110992

Williamson, M. H., Brown, K. C., Holdgate, M. W., Kornberg, H. L., Southwood, S. R., & Mollison, D. (1986). The analysis and modelling of British invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *314*(1167), 505–522. https://doi.org/10.1098/rstb.1986.0070

Willis, A., Rodrigues, F. B., & Harris, P. J. C. (2013). The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *32*(1), 1–20. https://doi.org/10.1080/07352689.2012.683375

Wu, L., Zhang, Y., Guo, X., Ning, D., Zhou, X., Feng, J., Yuan, M. M., Liu, S., Guo, J., Gao, Z., Ma, J., Kuang, J., Jian, S., Han, S., Yang, Z., Ouyang, Y., Fu, Y., Xiao, N., Liu, X., … Zhou, J. (2022). Reduction of microbial diversity in grassland soil is driven by long-term climate warming. *Nature Microbiology*, *7*(7), 1054–1062. https://doi.org/10.1038/s41564-022-01147-3

Wu, T., Ayres, E., Bardgett, R. D., Wall, D. H., & Garey, J. R. (2011). Molecular study of worldwide distribution and diversity of soil animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(43), 17720–17725. https://doi.org/10.1073/pnas.1103824108

Öpik, M., Zobel, M., Cantero, J. J., Davison, J., Facelli, J. M., Hiiesalu, I., Jairus, T., Kalwij, J. M., Koorem, K., Leal, M. E., Liira, J., Metsis, M., Neshataeva, V., Paal, J., Phosri, C., Põlme, S., Reier, Ü., Saks, Ü., Schimann, H., … Moora, M. (2013). Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, *23*(5), 411–430. https://doi.org/10.1007/s00572-013-0482-2

Yang, L., Callaway, R. M., & Atwater, D. Z. (2017). Ecotypic diversity of a dominant grassland species resists exotic invasion. *Biological Invasions*, *19*(5), 1483–1493. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1373-9

Yin, R., Kardol, P., Thakur, M. P., Gruss, I., Wu, G.-L., Eisenhauer, N., & Schädler, M. (2020). Soil functional biodiversity and biological quality under threat: Intensive land use outweighs climate change. *Soil Biology and Biochemistry*, *147*, 107847. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107847

Lisad

Lisa 1. AMFinderi meetodi programmide efektiivsusest ja vigadest

Arbuskulaarmükoriisa kolonisatsiooni määramine masinõppe abiga, nagu seda selles töös tehti, oli puudulik. Probleemid tekkisid juurte kaamerale piisavalt selgeks tegemisel, tarkvara vigadest ning AMFinderi masinõppemudeli ennustuste madalast täpsusest.

Valgusmikroskoobiga töötades on kahel meetodil suured erinevused. Juurte vaatamine klassikalise meetodiga on paindlikum, sest fookust muutes saab mükoriisat otsida erinevatelt tasanditelt. Kaamerale on aga võimalik pildile saada ainult üks tasand, milles esinev mükoriisa võib jääda häguseks ja seetõttu eristamatuks. Samas, kui juured paksuselt slaidide vahel erinevad, võib kaamerapilt kindla fookustasandiga anda objektiivsema vaate. Silmaga määramisel on veel plusse: vajadusel on võimalik suurendust muuta, väiksema kontrastiga juurtelt on endiselt võimalik mükoriisastruktuure eristada ja määrates on võimalik kasutada kindla slaidi ja juure konteksti, sest vaadata saab kaugemale kui hetkel analüüsitav koht.

AMFinderi meetodis kasutati valgusmikroskoobi tarkvara Labscope ja ka täpsemalt selle programmi Fast Panorama funktsiooni, neil esines mitmeid programmivigu, mis vähendasid efektiivsust. Näiteks ei olnud programmis võimalik eksportida rohkem kui ühte pilti korraga. Vahel ei tulnud eksport õigesti välja või eksportimise ajal sulgus programm ning kaotas terve pildiga tehtud progressi. Lisaks ei töötanud hästi Fast Panorama funktsioon, mis sattus tihti juurte skännimisel segadusse ja ei suutnud pilte efektiivselt n-ö kokku õmmelda. See tähendas, et vahel arvas programm kaamera valesse kohta, mis hakkas siis varasemat pilti üle kirjutama, mille tõttu ei saanud sama pilti jätkata ning pidi uuesti alustama. Lisaks oli programmil üldiselt puudusi mööda juuri edasi liikumisega, kuna funktsioon on pigem mõeldud keerulisemate kontuuridega objektide skännimiseks. Need asjaolud tegid juurte skännimise ajamahukamaks ning tülikamaks kui klassikalise meetodiga juurte vaatamine.

AMFinderi kasutamisega esines samuti probleeme. Vähemate IT-oskustega inimestel on raske juba programmi paigaldada ning programm nõuab mitmeid lisaprogramme, et töötada. Isegi koos tehnilise abiga oli lisaprogrammide korrektne ühildamine ja tekkivate

probleemide kõrvaldamine ajamahukas. Peale AMFinderi paigaldamist ei esinenud suuremaid programmivigu.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Tõnis Leib,

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

„Mulla elurikkuse vähenemise ja võõrtaimede mõju taimede ja krohmseente vahelistele suhetele“

,mille juhendajad on Kadri Koorem ja Siim-Kaarel Sepp,

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 Commonsi litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Tõnis Leib

22.05.2025