

TARTU ÜLIKOOL

LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND

MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT

BOTAANIKA OSAKOND

**Seente elurikkus kõrgusgradiendil: Helani mäestiku seenestik**

Bakalaureusetöö

12 EAP

Polina Pochekutova

Juhendaja:

Leho Tedersoo, PhD

TARTU 2025

## INFOLEHT

### **Seente elurikkus kõrgusgradiendil: Helani mäestiku seenestik**

Käesolev bakalaureusetöö uurib mullas elavate seente mitmekesisust ja ökoloogilist jaotust Hiina Helani mäestiku kõrgusgradiendil. Uuringu käigus analüüsiti 20 mullaproovi, mis koguti kõrgustel 1124-2422 meetrit üle merepinna. Molekulaarsete meetodite abil tuvastati 5997 seente taksonoomilist üksust, mis kuulusid 24 hõimkonda. Peamised leiud näitavad, et seente mitmekesisus suureneb monotoonselt kõrguse kasvades, mis erineb paljudest varasemate uuringute tulemustest. Domineerivad hõimkonnad *Ascomycota* ja *Basidiomycota* näitasid selgeid muutusi kõrgusgradiendi ulatuses. Keskkonnafaktoritest olid kõige olulisemad kõrgus, pH, orgaaniline süsinik ja lämmastikusisaldus. Taimestiku tüüp mõjutas samuti märkimisväärselt seenekoosluste koosseisu. Tulemused annavad olulise panuse mägiökosüsteemide seente ökoloogia mõistmisesse ja kliimamuutuste võimalike mõjude hindamisse.

**Märksõnad:** seened, kõrgusgradient, elurikkus, mägiökosüsteemid, metatriipkoodimine

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

### **Fungal diversity along an elevation gradient: Mycobiota of Helan Mountain**

This bachelor's thesis investigates the diversity and ecological distribution of soil fungi along an elevation gradient of Helan Mountain range in China. The study analyzed 20 soil samples collected from elevations ranging from 1,124 to 2,422 meters above sea level. Using molecular methods, 5,997 fungal taxonomic units belonging to 24 phyla were identified. The main findings show that fungal diversity increases monotonically with elevation, which differs from many previous studies. The dominant phyla *Ascomycota* and *Basidiomycota* showed clear changes across the elevation gradient. Among environmental factors, elevation, pH, organic carbon, and nitrogen content were most significant. Vegetation type also significantly influenced fungal community composition. The results provide important contributions to understanding fungal ecology in mountain ecosystems and assessing potential climate change impacts.

**Keywords:** fungi, elevation gradient, biodiversity, mountain ecosystems, metabarcoding

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

# SISUKORD

<b>KASUTATUD LÜHENDID</b> .....	<b>5</b>
<b>SISSEJUHATUS</b> .....	<b>6</b>
<b>1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1 Kõrgusgradient ökoloogilistes uuringutes</b> .....	<b>8</b>
1.1.1 Globaalne tähtsus.....	8
1.1.2 Seosed kliimamuutustega.....	8
<b>1.2 Keskkonnafaktorid kõrgusgradiendil</b> .....	<b>9</b>
1.2.1 Globaalsed tegurid.....	9
1.2.2 Kohalikud muutujad.....	9
<b>1.3 Mulla omadused, mis kujundavad seente elurikkust</b> .....	<b>10</b>
1.3.1 Abiootilised tegurid.....	11
1.3.2 Biootilised tegurid.....	12
<b>1.4 Seente mitmekesisuse mustrid kõrgusgradientidel</b> .....	<b>13</b>
1.4.1 Mitmekesisuse trendid.....	13
1.4.2 Taksonoomilised ja funktsionaalsed nihked.....	14
<b>2 EKSPERIMENTAALOSA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1 Töö eesmärgid</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2 Materjal ja meetodika</b> .....	<b>17</b>
2.2.1 Valimi kirjeldamine.....	17
2.2.2 Molekulaarsed meetodid.....	17
2.2.2.1 Mulla proovide kogumine ja DNA eraldamine.....	17
2.2.2.2 PCR.....	18
2.2.2.3 Andmeanalüüs ja bioinformaatika.....	19
<b>2.3 Tulemused</b> .....	<b>22</b>
2.3.1 Seente taksonoomilise koostise ülevaade.....	22
2.3.2 Seente funktsionaalse koosseisu ülevaade.....	27
2.3.3 Seente gildide jaotuse ülevaade.....	28
2.3.4 Elurikkuse mustrid.....	29
2.3.5 Koosluste struktuuri mustrid.....	32
2.3.6 Taimestiku mõju seenekoosluste koosseisule.....	34
2.3.7 Koosluste erinevusi kujundavad taksonid.....	36
2.3.8 Indikaatorliikide mustrite ülevaade.....	37
2.3.9 Statistiliste mudelite tulemused.....	37
<b>2.4 Arutelu</b> .....	<b>39</b>

<b>KOKKUVÕTE.....</b>	<b>43</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>45</b>
<b>KIRJANDUSE LOETELU.....</b>	<b>47</b>
<b>KASUTATUD VEEBIADRESSID .....</b>	<b>59</b>
<b>KASUTATUD TEHISINTELLEKT .....</b>	<b>60</b>
<b>LISAD .....</b>	<b>61</b>
<b>Lisa 1. Proovide nimekiri.....</b>	<b>61</b>
<b>Lisa 2. Mulla keemilised parameetrid.....</b>	<b>62</b>
<b>Lisa 3. Kasutatud praimerite järjestused.....</b>	<b>63</b>
<b>Lisa 4. Seente esimesed 15 kõige levinumad OTUd .....</b>	<b>65</b>
<b>Lisa 5. Elurikkuse näitajad proovide kaupa.....</b>	<b>66</b>

## **KASUTATUD LÜHENDID**

**AIC** ingl k Akaike information criterion

**AM** ingl k arbuscular mychorriza, arbuskulaarne mükoriisa

**EM** ingl k Ectomychorriza, ektomükoriisa

**FDR** ingl k False Discovery Rate, valeavastusmäär

**ITS** ingl k Internal transcribed spacer, sisemine transkribeeritav speisser

**NMDS** ingl k Non-metric multidimensional scaling

**OTU** ingl k Operational taxonomic unit, operatiivsed taksonoomilised üksused

**PCR** ingl k Polymerase chain reaction, Polümeraasi ahelreaktsioon

**PERMANOVA** ingl k Permutational multivariate analysis of variance, permutatsiooniline mitmemõõtmeline dispersioonanalüüs

**SOM** ingl k Soil organic matter, mulla orgaaniline aine

## SISSEJUHATUS

Seened on mägiökosüsteemides ühed olulisemad komponendid, kuid võrreldes tasaste alade uuringutega on nende mitmekesisust ja ökoloogilisi funktsioone kõrgusgradientidel märkimisväärselt vähem käsitletud. Praeguseks on kirjeldatud ligikaudu 155 000 erinevat seeneliiki, kuid arvatakse, et liikide koguarv võib ulatuda mitme miljoni (Niskanen et al., 2023). Kirjeldatud seeneliikidest moodustavad spetsiifiliselt mägiökosüsteemidele kohandunud taksonid vaid väikese osa. Mäestikud katavad ligikaudu 12% Maa maismaapinnast väljaspool Antarktikat ja hõlmavad ligikaudu 33% kogu maismaa liikide mitmekesisusest (Körner et al., 2011; Sundqvist et al., 2013a). Samas jääb mägedes elavate seente ökoloogiline roll ja mitmekesisus suuresti väheuuritud valdkonnaks.

Mägiökosüsteemide seenekoosluse uurimine aitab paremini mõista kõrgusgradientidel toimuvad ökoloogilisi protsesse, sest seened täidavad mäestikualadel erakordselt mitmekesiseid rolle. Seened toimivad lagundajatena, mutualistidena, patogeenidena ning toitainete mobiliseerijatena. Mägedes leiduvad ektomükorissed (EM) seened moodustavad eluliselt olulis juursümbioosi puittaimedega, võimaldades neil kasvada toitainetevaestes muldades ning aidates kaasa metsaökosüsteemide stabiilsusele. Saprotroofsetel seentel on kriitiline roll orgaanilise aine lagundamisel kõrgel merepinnast, kus temperatuuri ning niiskuse kõikumised mõjutavad märkimisväärselt lagenemisprotsesse.

Kliimamuutuste tagajärjel toimuvad mägiökosüsteemides ulatuslikud muutused, mis mõjutavad kõiki bioloogilisi komponente, sealhulgas seenekooslusi. Kõrgenev keskmine temperatuur, muutuvad sademete mustrid ning äärmuslike ilmastikunähtuste sagenemine võivad põhjustada seenekooslustes struktuurseid nihkeid, mille tagajärjed võivad häirida kogu mägiökosüsteemi funktsioneerimist. Eriti tundlikud on kõrgmäestike piirkonnad, kus soojenemine toimub tavalisest kiiremini. Nende muutuste tõttu on mägiseente uurimine muutunud üha aktuaalsemaks, sest piiratud teadmiste tõttu on keeruline välja tuua adekvaatseid lahendusi mägiökosüsteemide kaitsmiseks ning tuleviku muutuste prognoosimiseks.

Hiina Helani mäestik pakub eriti huvitavat uurimisobjekti mitmel põhjusel. Geograafiliselt asub see üleminekutsoons, kus kohtuvad erinevad kliimavööndid ning bioomid. Mäestiku kõrgusvahemik võimaldab uurida seenekoosluste muutusi suhteliselt kompaktsel alal, samal ajal katma märkimisväärse ökoloogilise gradiendi. Piirkonna taimestik varieerub kõrbelaadsetest rohumaadest kuni tihedate okasmetsadeni, pakkudes mitmekesiseid elupaiku erinevatele seente gildidele ehk eluviisitüüpidele.

Käesoleva bakalaureusetöö raames analüüsiti Helani mäestikust kogutud mullaproove (n=20) piki kõrgusgradienti vahemikus 1124-2422 meetrit üle merepinna. Töö eesmärk oli kirjeldada ning analüüsida seenekoosluste struktuuri ning mitmekesisuse muutumist kõrgusgradiendil. Uurimuse käigus on käsitletud erinevate kõrguskategooriate omavahelisi erinevusi taksonoomilises koostises, elurikkuses ning koosluse struktuuris. Lisaks analüüsiti keskkonnafaktorite mõju seenekoosluste kujunemisele ning tuvastati indikaatorliike erinevatele kõrgustele. Mullaproovidest eraldati DNA, kasutades MagAttract PowerSoil Pro DNA Kit (Qiagen, USA) komplekti. DNA eraldusele järgnes ribosomaalse RNA operonis leitavate sisemiste transkribeeritavate vahejärjestuste (ITS) amplifitseerimine polümeraasi ahelreaktsiooni abil. Koostatud raamatukogud sekveneeriti ehk järjestati Oslo Ülikooli laboris PacBio instrumendil ning saadud tulemused analüüsiti bioinformaatiliste ning statistiliste meetoditega.

Töö on teostatud TÜ Ökoloogia ja Maateaduste Instituudi botaanika osakonna mükoloogia õppetoolis. Uurimistöö panustab laiemasse arusaama seente ökoloogilistest muustritest kõrgusgradientidel ning pakub olulist teavet kliimamuutuste võimalike mõjude hindamiseks mägiökosüsteemidele.

# 1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1 Kõrgusgradient ökoloogilistes uuringutes

### 1.1.1 Globaalne tähtsus

Mäed kujutavad endast looduslikke kaitsealasid: need sisaldavad piiratud geograafilises piirkonnas erinevaid keskkonnategureid, mistõttu on need sobiv koht loodusteadustesökoloogiliste ja evolutsiooniliste hüpoteeside püstitamiseks ja testimiseks (Lomolino, 2001). Mäestikele on tavaline suur keskkonna heterogeensus, mis soodustab nii kõrget elurikkust kui ka endemismi. Mägedes asub umbes pool Maa bioloogiliste mitmekesisuse tulipunktidest (Chape et al., 2005)

Teadlased on juba sadu aastaid, alates von Humboldti ajast 19. Sajandi alguses, kasutanud kõrgusgradiente, et uurida, kuidas organismid reageerivad muutuvatele keskkonnatingimustele, eriti temperatuurile (Körner, 2007; Sundqvist et al., 2013a).

### 1.1.2 Seosed kliimamuutustega

Kõrgusgradiendid mängivad olulist rolli globaalse kliimamuutuse uurimises. Mäed on eriti tundlikud kliimamuutusele, kuna soojenemine toimub kõrgematel kõrgustel palju kiiremini kui madalamatel (Pepin et al., 2015). Näiteks Euroopa Alpides on keskmine õhutemperatuur kasvanud 20. sajandil kuni 2°C ning mudelid ennustavad ligikaudu 0,25°C soojenemist iga kümnendi kohta kuni 21. sajandi keskpaigani (Gobiet et al., 2014).

Tulevaste kliimatingimuste ökoloogiliste vastuste prognoosimiseks kasutatakse kõrgusgradiente „ruum-aja-asenduse“ (ingl k Space-for-Time substitution) lähenemise viisil (Blois et al., 2013; Pickett, 1989). See viis eeldab, et tänapäeval madalamatel kõrgustel leiduvad sarnased ökoloogilised tingimused, mis tekivad kõrgematel kõrgustel soojenemise käigus.

Mäed on olulised ka globaalsetes biokeemilistes tsüklites, kuna toimivad oluliste süsinikusidujatena ja väga olulised veeallikad: kõrgel sajab rohkem ja lume sulades tuleb puhast magevett.. Mäeökosüsteemid akumulatsioonid sageli suuri orgaanilise aine koguseid mullas, tänu aeglasemale lagunemiskiirusele kõrgematel kõrgustel (Girardin et al., 2010; Schuur et al., 2001). Seepärast mõistmine kuidas mikroobikooslused mägedes kõrguse muutudes varieeruvad on oluline, et prognoosida mulla süsinikutsüklite reaktsioone kliimamuutuse tingimustes (Reyes et al., 2017).

## 1.2 Keskkonnafaktorid kõrgusgradiendil

Kõrgusgradiendid on alad, kus mitmed keskkonnategurid süstemaatiliselt muutuvad. Mõned neist muutustest on globaalselt universaalsed ja ennustatavad, teised aga varieeruvad ja sõltuvad konkreetse piirkonna geograafilisest asukohast ja selle eripäradest.

### 1.2.1 Globaalsed tegurid

Körner (2007) toob välja neli peamist atmosfäärilist muutust, mis on otseselt seotud kõrgusega ja märkimisväärselt mõjutavad elusorganisme. Esiteks iga kilomeetri tõusuga väheneb õhurõhk ja atmosfääri gaaside osarõhk umbes 11% võrra, alustades merepinna tasemelt 1013 hektopaskaliga. See mõjutab oluliselt gaasivahetust nii loomadel kui ka taimedel.

Õhutemperatuuri järkjärguline langus on samuti oluline ja märgatav tegur kõrgusgradiendil. Keskmiselt iga 100 meetri kõrguse suurenemisega langeb temperatuur 0,55 °C võrra, kuigi see võib varieeruda sõltuvalt õhuniiskusest ja kohalikest meteoroloogilistest tingimustest (Barry, 2008; Rolland, 2003). Kõrgemate alade madalam temperatuur mõjutab otseselt organismide metabolismi, füsioloogilisi protsesse ja elutsükleid.

Kõrguse kasvades suureneb kiirguse intensiivsus, eriti pilvitu taeval korral. Kuna õhk muutub õhemaks ja atmosfäär läbipaistvamaks, nii sissetulev päikesekiirgus kui ka väljuv soojuskirgus kasvavad kõrgusega (Becker & Bugmann, 2001).

Kõrgusega suureneb ka UV-B kiirguse (lainepikkus 280-320 nm) osakaal kogukiirgusest, mis on tigitud atmosfääri õhenemisest, mis filtreerib vähem kahjuliku kiirgust.

Need tegurid on universaalsed ja ennustatavad kõigil mäestike kõrgusgradientidel üle maailma, siiski nende täpne määr võib varieeruda sõltuvalt laiuskraadist ja kohalikest tingimustest (Körner, 2007; Nagy et al., 2003).

### 1.2.2 Kohalikud muutujad

Lisaks universaalsetele muutustele kõrgusgradientidel esineb ka mitmeid keskkonnategureid mis ei järgi ühtseid globaalseid mustreid, vaid sõltuvad geograafilisest piirkonnast, kliima tüübist ja teistest geofüüsikalistest iseärasusest.

Sademetes hulk ja niiskusrežiim ei järgi ühtseid globaalseid mustreid. Sademete muustrid võivad olla väga varieeruvad, mõnes piirkonnas sademete hulk suureneb kõrgusega, teistes aga väheneb või näitab unimodaalset mustrit (Körner, 2007; Looby & Martin, 2020; Siles & Margesin, 2016). Vee kättesaadavus mõjutab oluliselt organismide füsioloogiat ja levikut. Niiskus on taimede jaoks fotosünteesi ja toitainete omastamise regulaator, mistõttu

niiskusgradiendid määravad sageli taimestiku koosseisu (Crimmins et al., 2011). Liiga niisked tingimused kõrgusel võivad vähendada hapniku kättesaadavust mullas, mis omakorda mõjutab juurte hingamist ja mikroobide aktiivsust (Silver et al., 1999).

Mullatüübid ja füüsikalised-keemilised omadused, nagu sügavus, lõimis, pH ja toitainete kättesaadavus varieeruvad oluliselt kõrgusgradientidel. Kuid sellise varieeruvuse jaotus sõltub enamasti veerežiimist, taimestikust ja lokaalsetest geoloogilistest protsessidest (Egli et al., 2014; Körner et al., 2003; Sundqvist et al., 2013b).

Vastupidiselt levinud arusaamisele ei suurene tuule kiirus kõrgusega lineaarselt. Mäestikud tervikuna on sageli vähem tuulised kui avatud tasandikud, kuna topograafilised barjäärid vähendavad tuule kiirust (Körner, 2007). Ugevad tuuled siiski esinevad näiteks mäetippudel, aga ei iseloomusta tervet kõrgusgradienti. Reljeefi varieeruvus loob keerulisi tuulemustreid, mis mõjutavad nii mikrokliimat kui ka organismidele mõjuvat füüsilist stressi (Sundqvist et al., 2013a).

Sesoonsus muutub kõrgusgradientidel vastavalt geograafilisele piirkonnale. Parasvöötme ja boreaalsete ökosüsteemide piirkondades kasvuperiood tavaliselt lüheneb kõrguse suurenedes madalamate temperatuuride tõttu. Piirkondades, kus niiskus suureneb kõrgusega, võib kasvuperioodi pikkus suureneva kõrgusega tänu paranenud niiskustingimustele (Körner, 2007). Sellised vastandlikud mustrid näitavad, kui oluline on ökoloogiliste protsesside uurimisel arvestada konkreetset piirkondlikku konteksti.

Varieeruvad keskkonnafaktorid loovad keerulisi vastastikmõjusid ehk interaktsioone, mis ei piirdu lihtsa kõrgusgradiendiga, ning on olulised mägiste piirkondade ökoloogiliste reaktsioonide mõistmisel (McCain & Grytnes, 2010; Sundqvist et al., 2013b). Nende faktorite erinev koosmõju erinevates mäestikes võivad selgitada, miks organismide reaktsioonid kõrguse suhtes võivad erineda piirkonniti ning miks ühes piirkonnas tehtud uuringute tulemusi ei saa alati otseselt üle kanda teistele kõrgusgradientidele.

### **1.3 Mulla omadused, mis kujundavad seente elurikkust**

Muld on keeruline ja dünaamiline keskkond, mille omadused oluliselt mõjutavad seente koosluste struktuuri ja funktsioneerimist. Seente elurikkus ja selle geograafilise jaotumise mustrid on tugevalt seotud nii abiootilise kui ka biotiliste mullaparametritega, mis varieeruvad oluliselt nii kõrgusgradientide lõikes kui ka globaalselt (Tedersoo et al., 2014).

### 1.3.1 Abiootilised tegurid

Mulla pH on üks põhilisemaid tegureid, mis kujundab kooslusi erinevates ökosüsteemides. Kuigi seened on üldiselt vähem tundlikud mulla pH kõikumistele kui bakterid, mõjutab pH oluliselt seente elurikkust, mis võib taskonite kaupa varieeruda (Rousk et al., 2010a). Seened suudavad koloniseerida väga laias pH vahemikus muldasid, kusjuures eri taksonitel on erinevad pH optimumid. (Tedersoo et al., 2020)

Mulla niiskusrežiim on kriitiline tegur, mis kujundab seente koosluse struktuuri ja funktsioneerimist. Niiskus mõjutab seente levimist, toitainete omastamist ja paljunemist (Crowther et al., 2014; Manzoni et al., 2014; Schimel et al., 2007). Samuti eri seenerühmadel on niiskuse suhtes erinev tolerantsus (Bahram et al., 2012). Kuivades ja poolkuivades ökosüsteemides võib vee kättesaadavuse mõju ületada isegi temperatuuri mõju (Wang et al., 2015). Pikaajalised muutused sademete hulgas ja mulla niiskuses võivad põhjustada nihkeis seenekoosluste koosseisus kõikides ökosüsteemides (Hawkes et al., 2011).

Kuna seened on heterotroofsed organismid, mulla orgaanilise aine (SOM – soil organic matter) osakaal ja keemiline koostis on eriti tähtsad tegurid (Treseder, 2008). SOMi keemiline koostis, eriti ligniini sisaldus ja süsiniku-lämmastiku (C:N) suhe, määravad, millised seenetaksonid domineerivad teatud mullatüüpides (Talbot et al., 2013). Näiteks saprotroofid eelistavad lihtsasti lagundatavaid süsinikuallikaid, mistõttu nad domineerivad madala C:N suhtega muldades (Schneider *et al.*, 2012). Samas kõrgema C:N suhtega muldades saavad konkurentsivõimeliseks seened, mis on võimelised keerulisemaid süsinikuühendeid lagundama.

Toitainete kättesaadavus, eriti lämmastiku ja fosfori omastamine, mängib samuti olulist rolli seente elurikkuses, koosluste kujunemises ja funktsioneerimises (Fisher et al., 2013). Erinevates ökosüsteemides esinevad toitainete piirangud varieeruvad märkimisväärselt. Jahedates ja niisketes tingimustes on tavaline lämmastiku puudus (Treseder, 2008). Geoloogiliselt vanades troopilistes muldades on pigem fosfori sisaldus taimede jaoks kasvu piirav faktor (Vitousek et al., 2010). Piiratud toitainete kättesaadavus mõjutab saprotroofsete ja mükoriisete seente vahelist suhet. Seejuures mükorriisid seened muutuvad domineerivamaks pigem toitainetevaestes muldades tänu oma võimele mobiliseerida orgaanilises aines sisalduvaid toitaineid taimedelt saadavate fotosünteesiproduktide kaasabil (Johnson et al., 2010). Inimtegevus võib samuti oluliselt mõjutada toitainete kättesaadavust ja keemilist koostist. Eelkõige põllumajanduslik väetamine või lämmastikusaaste võivad muuta seenestiku

ökoloogilist funktsionaalsust ja liigilist koosseisu (Cairney & Meharg, 1999; Dean et al., 2014; Lilleskov et al., 2011).

Temperatuur on universaalne organismide füsioloogiat ja ökoloogiat mõjutav tegur ning seened pole selles suhtes erandlikud. Eri seeneliikidel on erinevad temperatuuritaluvused ja -optimumid, mis on kujunenud evolutsiooniliste protsesside käigus (Treseder *et al.*, 2014). Temperatuur mõjutab otseselt seente metabolismi, kasvu ja paljunemist. Temperatuuril on kaudne mõju teistele keskkonnatingimustele nagu niiskus ja orgaanilise aine lagunemine (Bradford et al., 2016; Karhu et al., 2010).

### **1.3.2 Biotilised tegurid**

Taimkatte koosseis on üks peamisi biotilisi tegureid, mis kujundab seente elurikkust enamikus maismaa ökosüsteemides. Taimed mõjutavad seeni mitmesuguste mehhanismide kaudu, sealhulgas sümbioosete suhete, kõdu keemilise koostise ja juureeritiste kaudu. Globaalsed uuringud on näidanud, et taimeliikide rikkus korreleerub positiivselt seeneliikide rikkusega (Tederloo et al., 2014). Erinevad taimerühmad seostuvad erinevate seenekooslustega. Näiteks okaspuumetsi iseloomustab tavaliselt ektomükoriisete seente domineerimine, samal ajal kui rohumaadel on levinumad arbuskulaar-mükoriisid seened (Kivlin et al., 2017; Smith & Read, 2010). Varasemad uuringud näitavad, et puuliikide identiteet ja mitmekesisus on olulised tegurid, mis mõjutavad seente elurikkust ja koosluse koosseisu Vahemere ökosüsteemide kõrgusgradiendil (Saitta et al., 2018)..

Mulla ning muu substraadi kvaliteet ja keemiline koostis varieeruvad nii ökosüsteemide vahel kui ka nende sees, mõjutades oluliselt lagundajate seente kooslusi (Cornwell et al., 2008). Taimed produtseerivad erineva keemilise koostisega varist, näiteks katteseemnetaimede lehekõdu on üldiselt toitainerikkam ja kergemini lagundatav võrreldes paljasseemnetaimede lehekõduga.

Konkurents seente ja teiste mullaorganismide vahel kujundab seenekoosluste struktuuri näiteks Gadgili efekti kaudu. Ektomükoriisid seened takistavad vabalt elavatel saprotroofidel orgaanilise aine lagundamist, konkureerides nendega süsiniku ja lämmastiku pärast. See mehhanism võib suurendada süsiniku akumulatsiooni muldades (Fernandez & Kennedy, 2016; Gadgil & Gadgil, 1971). Sarnaselt võivad bakterite ja seente vahelised interaktsioonid varieeruda olenevalt keskkonnatingimustest. Kuivades keskkondades on seened sageli konkurentsivõimelisemad, samas kui bakterid domineerivad niisketes tingimustes (Boer et al., 2005; Rousk et al., 2010a).

Seentele, mis elavad sümbioosis taimedega, on peremeesliigi spetsiifilisus oluline nähtus. See mõjutab ka seente biogeograafilisi mustreid vastavalt nende peremeestaimede levikule (Tedersoo et al., 2014). Mõned seened on peremeesorganismi suhtes spetsiifilisemad kui teised; näiteks paljud ektomükoriissed seened on seotud vaid ühe või mõne peremeestaimeliga, samas kui arbuskulaar-mükoriissed seened on üldiselt vähem spetsiifilised (Brundrett, 2009; Smith & Read, 2010).

## 1.4 Seente mitmekesisuse mustrid kõrgusgradientidel

### 1.4.1 Mitmekesisuse trendid

Kõrguse ja seente mitmekesisuse vahelise seose uurimisel on eri mäestikes ja taksonoomilistes rühmades dokumenteeritud mitmeid erinevaid mustreid. Seente mitmekesisuse mustrid kõrgusgradiendil on sageli kontekstist sõltuvad ega järgi ühtset universaalset mudelit, mis erineb taimede ja loomade keskmise kõrgusega seotud mitmekesisusest. Viimastel aastakümnetel tehtud uuringud on tuvastanud neli peamist seente mitmekesisuse mustritüüpi kõrgusgradientidel: monotoonselt kahanev, monotoonselt kasvav, keskmistel kõrgustel tipuga (unimodaalne) ja U-kujuline, (st. madalama mitmekesisusega keskmistel kõrgustel; Wang *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2022). Samuti esinevad keerukamad mustrid ja statistiliselt olulised trendid võivad isegi puududa (Looby & Martin, 2020).

Kõige sagedamini on uuringud täheldanud seeneliikide arvu ja mitmekesisuse monotoonselt vähenemisest kõrguse kasvades. Näiteks Bahram *et al.* (2012) äitasid Iraani Hürkaania metsades ektomükoriisaseente liikide arvu pidevat langust madalamatest aladest kõrgematesse. See võib seostuda karmimate keskkonnatingimustega, nagu madalam temperatuur, lühenenud kasvuperiood ja piiratud ressursid. Sarnased tulemused järjepideva seente mitmekesisuse vähenemisega said Shigyo ja Hirao (2021) jaheda parasvöötme mägimetsade ökosüsteemis.

Teine oluline muster on maksimaalne mitmekesisus keskmistel kõrgustel. Korea poolsaare mägede uuringud näitasid unimodaalset mustrit, kus seenerühmad nagu *Tremellomyces* ja patogeenid saavutasid maksimumi keskmistel kõrgustel (Chen et al., 2024) uroopa metsades, 17 erineval kõrgusgradiendil läbi viidud uuringud tõid välja, et EM seentel on unimodaalne elurikkuse-kõrguse seos, kui arvesse võtta ka kliimatilised ja edaafilised faktorid. See viitab, et lisaks temperatuurilise mõjutavale ECM seente levikut ja mitmekesisust ka metsanduslikud häiringud ja peremeestaimede levik (Barbi *et al.*, 2025)

Himaalaja piirkonna uuringud on korduvalt näidanud U-kujulisi mustreid, kus seente liigirikkus on madalaim keskmisel, ent suureneb nii madalamates kui ka kõrgemates piirkondades (Yang

et al., 2022). Segila mägedes Kagu-Tiibeti metsades (3500-4300 m) läbiviidud uuringud näitavad, et mulla ülemiste horisontide seente liigirikkus järgis selget U-kujulist mustrit kõrgusgradientide ulatuses, samas kui alumiste mullahorisontide seente mitmekesisus näitas kergelt monotoonselt kahanevat mustrit (He et al., 2024). See mitmekesisuse mustrite vertikaalne kihistumine rõhutab seda, et nii mullaprofiili sügavus kui ka muud mikroklimaatilised tingimused mõjutavad oluliselt mitmekesisust.

Üksikud uuringud on dokumenteerinud ka monotoonselt seente mitmekesisuse suurenemist kõrguse kasvades. Jaheda parasvöötme mägimetsade ektomükoriisaseened mitmekesisus kasvas kõrgusega (Shigyo & Hirao, 2021). Alpi tundra ökosüsteemis suurenes mulla seente mitmekesisus kõrgusega, kusjuures mulla süsiniku ja lämmastiku suhe oli selle muutuse peamine tegur (Ni et al., 2018). Eed uurimustööd näitavad, et ökosüsteemide lokaalsed omadused, nagu suurem niiskus või varjuline mikrokliima, võivad ületada üldiste temperatuurigradientide mõju.

Mitmetes uuringutes ei leitud mingeid väljendunud kõrgusega seotud mustreid. Näiteks Korea mäe Hallasani peal ei näidanud uuringud olulisi elurikkuse mustreid mööda kõrgusgradienti (Chen et al., 2024). Argentinas tehtud uuring ei tuvastanud mullaseente mitmekesisuse varieeruvust, kuid funktsionaalsed rühmad näitasid eelistust erineva metsatüübile (Geml et al., 2014).

Keerulised mitmetasemelised mustrid on uurimustöodes samuti dokumenteeritud, kus mitmekesisusel on mööda gradienti mitu tippu või madalpunkti. Koreaas asuva Mäe Jiri peal näitasid *Ascomycota* ja *Dothideomycetes* keerulist mustrit, kus elurikkus esmalt vähenes, siis kasvas ja lõpuks jälle vähenes (Chen et al., 2024). Sellised variatsioonid peegeldavad eri keskkonnategurite koostoimet ja taksonoomiliste rühmade spetsiifilisi reaktsioone kõrgusega seotud muutustele.

Üks aspekt, mis sageli uuringutes vahele jäetakse, on mustrite ajas muutumine. Alpi ökosüsteemide pikaajalised vaatlused näitavad, et kuigi üldised mitmekesisuse mustrid võivad püsida, spetsiifilised kooslused muutuvad kliimamuutuste ja inimtekkeliste häiringute mõju (Kazenel et al., 2019)l. See viitab, et kõrgusgradientide looduslikud eksperimendid võivad ajas olla vähem stabiilsed kui traditsiooniliselt arvatud.

#### **1.4.2 Taksonoomilised ja funktsionaalsed nihked**

Seenekoosluste taksonoomiline koostis läbib kõrgusgradientide ulatuses märkimisväärsed muutusi, peegeldades keerulisi interaktsioone keskkonna filtreerimise, leviku piirangute ja biotiliste interaktsioonide vahel. Need muutused toimuvad mitmel taksonoomisel tasandil,

alates hõimkondade dominantsuse nihkumisest kuni liikide vahetumiseni funktsionaalsetes rühmades.

Hõimkonna tasandil on enim dokumenteeritud mustriks kottseente (*Ascomycota*) ja kandseente (*Basidiomycota*) vastastikune seos. Kõrguste suurenedes väheneb *Basidiomycota* suhteline arvukus ning *Ascomycota* osakaal kasvab. Seda järjepidevalt suundumust on täheldatud Hiina mäestikes (Guo et al., 2020) ning ka Euroopa Alpide metsades (Siles & Margesin, 2016). Lisaks on paljudes ökosüsteemides domineerivaks hõimkond *Mortierellomycota*, kelle esinemise mustrid sõltuvad enamasti regionaalsetest teguritest ja metsatüüpidest. Näiteks võib *Mortierellomycota* sageli tipneda keskmistel kõrgustel, kus tingimused orgaanilise aine kogunemiseks on optimaalsed (Li et al., 2022)

Kottseentel suureneb klassi *Leotiomycetes* suhteline arvukus kõrgusega, olles positiivselt seotud sademete hulga ja mulla orgaanilise aine sisaldusega. Samas klassi *Sordariomycetes* arvukus kipub kõrguse suurenedes vähenema (Chen et al., 2024; Siles & Margesin, 2016). Kandseentel väheneb üldjuhul klassi *Agaricomycetes* esinemine kõrguse suurenedes, kuid klassi sees võivad erinevatel taksonitel esineda erisuunalisi mutstreid, sõltuvalt nende ökoloogilistest strateegiatest.

Seente funktsionaalne jaotus lisab olulist ökoloogilist tähendust. Ektomükoriissed seened domineerivad sageli kogu kõrgusgradiendil, kuid näitavad selgeid koostise muutusi. Šotimaa uuringud näitasid tugevat kõrguslikku jaotust EM seente mitmekesisuses vaid 300 meetri kõrguse ulatuses, kusjuures erinevad liigid näitasid kitsaid kõrgusliku vahemike ja minimaalset kattuvust (Jarvis et al., 2015).

Arbuskulaar-mükoriissed (AM) seened seevastu vähenevad tavaliselt monotoonselt kõrguse kasvades, peegeldades peremeestaimede vahetust ning EM seente ülekaalu kõrgematel aladel (Kazenel et al., 2019) Samas võivad AM seened omandada suurema rolli alpirohumaadel, kus nad moodustavad juursümbioosi rohttaimedega.

Saprotroofsete seente kõrgusmustrid varieeruvad tugevalt rühmiti. Puitu lagundavad basidiomütseetid kipuvad vähenema koos puiduressursside vähenemisega, samas kui lehekõdu lagundajad ja mullasaprotroofid võivad suurenedada keskmistel kõrgustel (Tedersoo et al., 2014). Substraadispetsiifilisus lisab nende mustritele veelgi keerukust, sest paljud liigid on kohandunud lagundama kindlaid taimetüüpe või keemilisi ühendeid (Gomez-Hernandez et al., 2012).

Taimepatogeensed seened, mis on väga tundlikud keskkonnatingimuste ja peremeestaimede koosluse muutuste suhtes, kipuvad samuti kõrgusega vähenema (Chen et al., 2024). Teatud

spetsialiseerunud patogeenid võivad olla siiski kohandunud spetsiifiliste kõrge kõrguse peremeestaimega ja kõrgetel aladel moodustada lokaalseid mitmekesisuse kuumi punkti.

Funktsionaalne mitmekesisus ja redundantsus varieeruvad samuti kõrgusgradienditi ning neil on oluline mõju tagajärjed ökosüsteemi stabiilsusele. Näiteks võib funktsionaalne mitmekesisus tipneda erinevatel kõrgustel kui taksonoomiline mitmekesisus, mis viitab et seos ligikooesseisu ja ökosüsteemi talitluse vahel ei pruugi olla lineaarne (Delgado-Baquerizo et al., 2018). Ekstreemses kõrgustes elavad seenekooslused võivad olla taksonoomiliselt vaesemad, kuid samas funktsionaalselt piisavad, sest sisaldavad kõrgspetsialiseerunud taksoone, kes suudavad säilitada kriitilisi ökosüsteemi funktsioone.

Tunnusepõhised lähenemisviisid näitavad, et morfoloogilised, füsioloogilised ja elulookirjelduse tunnused omavad erinevad kõrgusmustreid, mis ei pruugi vastata taksonoomilistele piiridele. Näiteks, võivad seeneeoste suurus, hüüfide läbimõõt ja ensümaatilise aktiivsus süstemaatiliselt varieeruda kõrgusega, peegeldades optimeerimist erinevate keskkonnatingimuste ja ressursside hankimise strateegiate jaoks (Treseder & Lennon, 2015).

Need taksonoomilised ja funktsionaalsed nihked kõrgusgradientidel mõjutavad ökosüsteemi toimimist märkimisväärselt, eriti seoses toitainete ringluse, taimekoosluste dünaamika ja ökosüsteemi reaktsioonidega keskkonnamuutustele. Seenekoosluste kõrgus viitab sellele, et erinevatel kõrgustel võivad erineda võime süsiniku sidumiseks, toitainete säilitamiseks ja taimede produktiivsuse toetamiseks. Nende mustrite mõistmine muutub olulisemaks, kuna kliimamuutused muudavad liikide levikut ja mitmekesisuse mustreid mägiökosüsteemides üle maailma.

## **2 EKSPERIMENTAALOSA**

### **2.1 Töö eesmärgid**

Käesoleva bakalaureusetöö peamine eesmärk on uurida seenekoosluste elurikkuse mustreid piki kõrgusgradienti Helani mäestikus Hiinas ning selgitada välja, kuidas need kooslused on seotud erinevate keskkonnatingimustega. Uuring keskendus mikroobikoosluste, eriti seente mitmekesisuse analüüsimisele 20 erinevas asukohas, mis paiknesid kõrgustel 1124 kuni 2422 meetrit üle merepinna. Töö peamine hüpotees on, et seenekoosluste struktuuri ja mitmekesisust mõjutavad oluliselt nii kõrgusgradient kui ka erinevad mullaparameetrid.

Uurimistöö spetsiifilised eesmärgid on järgmised: 1) määrata seente taksonoomiline struktuur erinevatel kõrgustel, selgitades välja domineerivad hõimkonnad, klassid, seltsid ja perekonnad;

2) analüüsida, kuidas abiootilised keskkonnategurid (näiteks pH, orgaaniline süsinik, lämmastik, fosfaat ja teised mullaparameetrid) mõjutavad seente elurikkust; 3) tuvastada seenekoosluste elurikkuse ja struktuuri dünaamika kõrgusgradiendil; 4) tuvastada olulised indikaatorliigid, mis on iseloomulikud teatud kõrgustele või keskkonnatingimustele; 5) määrata seente funktsionaalsed rühmad ja analüüsida nende jaotust erinevatel kõrgustel, et mõista seente ökoloogilist rolli mägistes ökosüsteemides.

Antud uurimistöö annab olulise panuse ökoloogilistesse teadmistesse, aidates mõista, kuidas keskkonnatingimused mõjutavad bioloogilist mitmekesisust kõrgusgradiendil. Sellised teadmised on eriti olulised kliimamuutuste kontekstis, kuna mägiökosüsteemid on eriti tundlikud muutuvate kliimatingimuste suhtes. Töö aitab samuti paremini mõista seente funktsionaalset rolli ökosüsteemides ning nende potentsiaalset vastust keskkonnatingimuste muutustele. Uuringu tulemused loovad aluse tulevasteks uuringuteks, mis võivad keskenduda täpsematele küsimustele seente ökofüsioloogia, ökosüsteemi funktsioonide ja vastastikmõjude kohta.

## **2.2 Materjal ja meetodika**

### **2.2.1 Valimi kirjeldamine**

Uuring viidi läbi Helani mäestik, mis asub Hiina Ningxia provintsis. Mullaproovid koguti 2023. aasta oktoobris 20 proovivõtukohest piki kõrgusgradienti vahemikus 1124 kuni 2422 meetrit üle merepinna. Proovikohad esindasid erinevaid ökosüsteeme, ulatudes kuivadest rohumaadest madalamal kõrgusel kuni okasmetsadeni kõrgematel aladel. Proovivõtukohtades dokumenteeriti ka domineeriva taimestiku koosseis, klassifitseerides iga ala kuue peamise vegetatsioonitüübi alla: okasmetsa, laialehiste metsa, metsastiku, mägikarjamaa, parasvöötme karjamaa ja kõrbeline karjamaa. Näüüsi eesmärgil jagati proovivõtukohtad nelja kõrguskategooriasse: madal (1000-1500 m), keskmiselt madal (1500-1800 m), keskmiselt kõrge (1800-2100 m) ja kõrge (2100-2500 m). Proovivõtukohtade koordinaatide, kõrguste ja bioomidega tabel on välja toodud lisa 1.

### **2.2.2 Molekulaarsed meetodid**

#### **2.2.2.1 Mulla proovide kogumine ja DNA eraldamine**

Mulla proovide kogumiseks kasutati komposiitproovide meetodit, sarnaselt globaalsete seente mitmekesisuse uuringutega (Körner, Paulsen and Pelaez-Riedl, 2003; Sundqvist, Sanders and Wardle, 2013). Iga proovivõtukoht kujutab ennast ühtlase taimkattega 2500 m<sup>2</sup> suurust ringikujulist ala. Aladel valiti juhuslikult 20 taimeindiviidi (elistatavalt puud või suured

põõsad), mis asusid üksteisest vähemalt 8 meetri kaugusel. Igalt taimelt võeti kaks alamproovi mulla ülemisest kihist (5 cm sügavuselt) 1-1,5 meetri kauguselt tüvest vastassuundades, kasutades nuga. Iga mullasüdamiku servadest eraldati umbes 5-10 g mulda. Kokku koguti 40 alamproovi igast kohast, mis segati ühtseks komposiitprooviks ja paigutati zip-kottidesse. Proovide kogumisel järgiti Tedersoo *et al.* (2014) protokoll.

Pärast kogumist kuivatati mullaproovid toatemperatuuril õhu käes. Proovide homogeniseerimiseks hõõruti zip-kotti ja selle sisu intensiivselt käsitsi. Seejärel koguti kuiv mullatolm 2 ml mahuga Eppendorf tuubidesse, kuhu lisati materjali edasiseks homogeniseerimiseks kaks 2 mm diameetriga metallkuuli. Proovid homogeniseeriti raputil 10 minuti jooksul sagedusel 30 Hz .

Mullaproovidest määrati mitmeid keemilisi parameetreid, et iseloomustada mullaomadusi piki kõrgusgradienti. Analüüsitud parameetrite hulka kuulusid mulla pH, orgaanilise süsiniku kogusisaldus (g/kg) ja lämmastiku kogusisaldus (g/kg), millest arvutati süsiniku ja lämmastiku suhe (C:N). Täiendavalt määrati ka stabiilsete isotoopide väärtused (Delta 15N ja Delta 13C), mis annavad olulist teavet lämmastiku- ja süsinikuringe protsesside kohta mullas. Lisaks määrati oluliste toitainete sisaldus, sealhulgas fosfaadi (mg/kg), kaaliumi (mg/kg), kaltsiumi (mg/kg) ja magneesiumi (mg/kg) kontsentratsioonid. Need mullaparameetrid kaasutati hiljem statistilistes analüüsides, et uurida nende seoseid seenekoosluste struktuuri ja mitmekesisusega kõrgusgradiendil. Tabel keemilisi parameetridega on esitatud lisa 2.

Igast proovist kaaluti DNA eraldamiseks 0,25 g materjali. Mullaproovidest eraldati DNA kasutades *MagAttract PowerSoil ProDNA* kitti *KingFisher* DNA eraldamise robotil (Qiagen, Germantown, USA) vastavalt tootja protokollile (Qiagen, 2020).

#### **2.2.2.2 PCR**

Pärast DNA eraldust amplifitseeriti rDNA ITS regioon (ingl k Internal Transcribed Spacer), kasutades PCR meetodit. umbes 600 aluspaari pikkuse ITS regiooni, amplifitseerimiseks kasutati järgmist praimeripaari: pärisuunalist ITS9munngs praimerit ja vastassuunalist ITS4ngsuni praimerit (Tedersoo and Anslan, 2019). Mõlemad praimerid olid varustatud proovispetsiifiliste indeksitega. Praimerite täpsemad järjestused on esitatud lisa 3.

Kõik PCR reaktsioonid viidi läbi duplikaatidena 25 µl reaktsioonimahus. PCR reaktsioonisegu koosnes järgmistest komponentidest: 1 µl uuritavat DNAd, 5,5 ul FIREPol Mastermix segu (Solis BioDyne, Tartu, Eesti), 0,5 µl mõlemat praimerit lõpliku kontsentratsiooniga 0,2 µM ning 18,5 µl deioniseeritud vett.

PCR programm sisaldas järgmisi etappe:

Esialgne denaturatsioon 95 °C 15 minutit

Amplifikatsioonitsüklid (30-37 korda):

- Denaturatsioon 95 °C 30 sekundit
- Annealing 55 °C 30 sekundit
- Ekstensioon 72 °C 1 minut

Lõplik ekstensioon 72 °C 10 minutit

Amplifikatsiooni tulemusi analüüsiti 1% agarosgeelil, kuhu lisati 1 µl etiidumbromiidi visualiseerimiseks. Elektroforees toimus 100 V pingel 20-25 minutit. DNA bände visualiseeriti 280 nm UV-valguses ja geelepiildid analüüsiti. Nõrkade bändide korral korrati reaktsiooni suurenedes amplifikatsioonitsüklite arvu. Seejärel 0,5-20 µl igast PCR produktist segati kokku vastavalt DNA bändi tugevusele geelipildil.

Produktide segu puhastati *FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit* produkti abil (Favorgen Biotech Corp, Ping Tung, Taiwan), järgides tootja protokollit. SMARTbell DNA raamatukogu tehti Oslo Ülikoolis asuvas asutuses Norwegian Sequencing Centre. Seal toimus ka DNA raamatukogu sekveneerimine Pacific Biosciences (PacBio) Revio platvormil, mis võimaldab kõrge läbilaskevõimega pikkade aplikonide järjestuste määramist.

### 2.2.2.3 Andmeanalüüs ja bioinformaatika

Sekveneerimistulemuste analüüs viidi läbi optimiseeritud bioinformaatilise töövoos abil. Seenekoosluste analüüsi aluseks oli *NextITS* (v. 1.0) tarkvara pakett (Mikryukov et al., 2022), mis pakub integreeritud lahenduse seente metatriipkoodimise (ingl k *metabarcoding*) andmete töötlemiseks.

Esimeses etapis *NextITS* töövoog (Mikryukov et al., 2022) käivitati programmi (v.3.11.1) abil, et tagada arvutuslik korratavus eri süsteemides (Kurtzer et al., 2017). See etapp sisaldas PacBio toorlugemite esialgset töötlemist, sealhulgas demultipleksimine *LIMA* (v. 2.12.0) abil (PacificBiosciences/barcoding, 2025), praimersekventside eemaldamine *cutadapt* (v. 5.0) tarkvara abil (Martin, 2011), ITS-piirkonna eraldamine *ITSx* (v. 1.1.3) abil (Bengtsson-Palme et al., 2013) ja kimäärade tuvastamine *VSEARCH* (v. 2.29.4) programmiga (Rognes et al., 2016). kõik protsessid olid juhitud läbi *NextFlow* (v. 24.10.5) töövoohalduri (Di Tommaso et al., 2017).

Analüüsi teine faas keskendus järjestuste klasterdamisele operatiivseks taksonoomilisteks üksusteks (ingl. k. operational taxonomic units, OTU). *NextITS* töövoos rakendati esmalt dereplitseerimist, et tuvastada ja kokku panna identsed järjestused, vähendades järgnevate

analüüside arvutuslikke kulusid. Seejärel rakendati *UNOISE* algoritmi (Edgar, 2016) alfa parameetriga 6.0 ja minimaalse suuruse lävendiga 1, et korrigeerida potentsiaalseid sekveneerimisvigu, säilitades samas tõelise bioloogilise varieeruvuse. See eelklasterdamise samm parandas lõplike OTUde usaldusväärtust, vähendades müra andmestikus.

Järjestuste klasterdamine viidi läbi *VSEARCH* programmi abil 98% sarnasuse lävendiga, mida kasutatakse tavaliselt seente liigitasandil eristamiseks (Nilsson et al., 2019). Samuti kasutati täiendavaid kvaliteedikontrolli meetmeid, sealhulgas maksimaalse eeldatava vea tõenäosust (MEEP) lävendiga 0,6 ja kimääri skoori lävendiga 0,6, et parandada OTU tuvastamise täpsust. Seejärel rakendati *LULU* algoritmi OTU tabeli kureerimiseks, et tuvastada ja ühendada potentsiaalsed liigsed OTUd järjestuse ja koosinemise mustrite põhjal (Frøslev et al., 2017). See samm on eriti väärtuslik mitmekesisuse kunstliku suurenemise vähendamiseks metatriipkoodimise uuringutes. Tehisintellekti *Claude* (Sonnet 3.7, Anthropic, 2025) kasutati R-koodi struktureerimise ja vigade parandamise abistamiseks andmeanalüüsi käigus.

Saadud OTUde taksonoomiliseks määramiseks kasutati *BLAST+* pakettis (v. 2.16.0) *BLASTn* töörista kasutades *EUKARYOME* andmebaasi (v. 1.9.4), mis sisaldab põhjaliku kollektsooni kureeritud seente ja teiste eukarüootide ITS järjestusest (Tedersoo et al., 2024). Otsingu jaoks kasutati optimeeritud parameetrid: E-väärtuse (E-value) lävend  $1e^{-5}$  ja kuni 10 võimalikku vastet OTU kohta.

Kõik statistilised analüüsid viidi läbi R programmeerimiskeeles (V 4.5.0) (R core team, 2025) programmiga *Rstudio* (Posit team, 2025). Peamised kasutatud pakettid olid *phyloseq* seeneandmete statistiliseks töötlemiseks (nt. *estimate\_richness()*, *distance()*, *tax\_glom()*, *psmelt()*, *plot\_ordination()*) (McMurdie & Holmes, 2013), *ggplot2* jooniste loomiseks (Wickham, 2016), *dplyr* andmete töötlemiseks (*group\_by()*, *summarise()*, *filter()*, *arrange()*, *mutate()*, *left\_join()*) (Wickham et al., 2023), *vegan* ökoloogiliste arvutuste jaoks (*adonis2()*, *metaMDS()*, *envfit()*, *mantel()*, *varpart()*) ja *indicspecies* indikaatorliikide leidmiseks (Cáceres & Legendre, 2009).

Andmed olid laetud *phyloseq* objektina, mis sisaldas endas proovide ja OTUde maatriksit, taksonoomilist informatsiooni ja keskkonnaandmeid. Pärast filtreerimist jäi algsest 10409 OTUst alles 5997 seente OTU. Suhtelised arvukused olid arvutatud kasutades *transform\_sample\_counts* funktsiooni, et võimaldada proovide võrdlemist.

Samuti eristati ka kõrguskategooriad: madal (1000-1500 m), keskmiselt madal (1500-1800 m), keskmiselt kõrge (1800-2100 m) ja kõrge (2100-2500 m). Suhtelised arvukused arvustati *transform\_sample\_counts* funktsiooni abil proovide võrdlemise võimaldamiseks.

Elurikkust analüüsiti nelja mõõdiku abil: täheldatus OTUde arv, Shannon indeks, Simpsoni indeks ja pööratud Simpsoni indeks. Indeksid arvutati *estimate\_richness* funktsiooni abil toorloenduse põhjal.

Andmete normaaljaotust kontrolliti Shapiro-Wilki testiga. Kuna enamik elurikkuse näitajatest ei järginud normaaljaotust, kasutati mitteparameetrilisi teste. Kõrgusekategoriate vahelisi erinevusi testiti Kruskal-Wallise testiga *kruskal.test* funktsiooniga. Elurikkuse ja kõrguse vahelisi seoseid uriti Spearmani korrelatsiooniga *cor.test* funktsiooni abil. Seose hindamisel testiti kolm mudelit (lineaarne, ruut- ja kuupmudel) ja parima mudelit valiti Akaike informatsiooni kriteeriumi (AIC) alusel.

Koosluste mustrite erinevusi analüüsiti Bray-Curtis kauguse abil, mis arvutati *distance* funktsiooni *method="bray"* parameetriga. NMDS ordinatsiooni viidi läbi *metaMDS* funktsiooni abil 999 permutatsiooniga. Ordinatsiooni kvaliteeti hinnati stressi väärtuste abil.

Kõrguse mõju koosluste mustrite testiti PERMANOVA abil *adonis2* funktsiooni kasutades. Efekti suurused hinnati R-ruudu väärtustena. Paarviised võrdlused kõrguskategoriate vahel viidi läbi *pairwise.adonis* funktsiooni abil. P-väärtused korrigeeriti FDR (ingl k *False Discovery Rate*; valeavastusmäär) meetodiga *p.adjust* funktsiooni abil.

Taksonoomilise koosseisu analüüsimiseks kasutati *tax\_glom* funktsiooni OTU-de ühendamiseks valitud taksonoomilisel tasemel. Andmed teisendati joonistamiseks sobivasse formaati *psmelt* funktsiooniga. Suhtelised arvukused arvutati *transform\_sample\_counts* funktsiooniga ja andmed teisendati visualiseerimiseks *psmelt* funktsiooni abil. Taksonoomilise koostise erinevusi testiti PERMANOVA abil sama *adonis2* funktsiooni kasutades.

SIMPER analüüs, tehtud *simper* funktsiooniga, näitas millised taksonid põhjustavad kõige rohkem erinevusi kõrgusrühmade vahel. See arvutab iga taksoni panust ja järjestab neid olulisuse järgi. Indikaatorliike otsiti *multipatt* funktsiooniga parameetritega *func = "r.g"* ja 999 permutatsiooniga. OTU maatriks pöörati ümber *t(otu\_matrix)*, et proovid oleksid ridadena ja OTU-d veergudena, nagu funktsioon vajab

Funktsionaalse analüüsi jaoks kasutati phyloseq objektis olevaid *Guild* ja *Trophic\_Mode* parameetrid, mis pärinesid kahest peamisest andmebaasist: FUNGuild (Nguyen *et al.*, 2016) ja FungalTraits (Pölme *et al.*, 2020). Need andmed ühendati seente taksonoomilise informatsiooniga perekonna tasemel, kasutades *left\_join* funktsiooni. Mõlemad andmebaasid andsid täiendavat informatsiooni seente funktsionaalsete rollide kohta ökosüsteemis. Funktsionaalsete rühmade ja kõrguse vaheliste korrelatsioonide analüüs viidi läbi kasutades Spearmani korrelatsiooni. P-väärtused parandati FDR meetodiga.

Taimestiku ja seente funktsionaalsete rühmade vahelised seoseid analüüsiti taksonoomilise koostise muutuse kaudu, keskendudes ektomükoriisete seente jaotusele erinevates peremeestaimede kooslustes.

Indikaatorliikide analüüs tehti nii kõrguskategooriate kui ka keskkonnafaktorite jaoks. Keskkonnafaktorid kategoriseeriti kolmeks rühmaks (madal, keskmine ja kõrge) kvantiilidega. Statistiliselt olulised indikaatorid määratleti *summary* funktsiooni abil, kusjuures tulemused FDR korrigeerimisele.

Kõik joonised loodi *ggplot2* paketi abil. Taksonoomilise koostise jaoks kasutati virnadiagramme *geom\_bar*, mitmekesisuse jaoks punktgraafikud *geom\_point* ja kastdiagramme *geom\_boxplot*. Ordinatsiooni tulemused esitati hajumisdiagrammidena *plot\_ordination*. Juhuslike protsesside jaoks kasutati *set.seed* funktsiooni. Kontrolliti puuduvad väärtusi *complete.cases* funktsiooni abil ja andmete struktuuri.

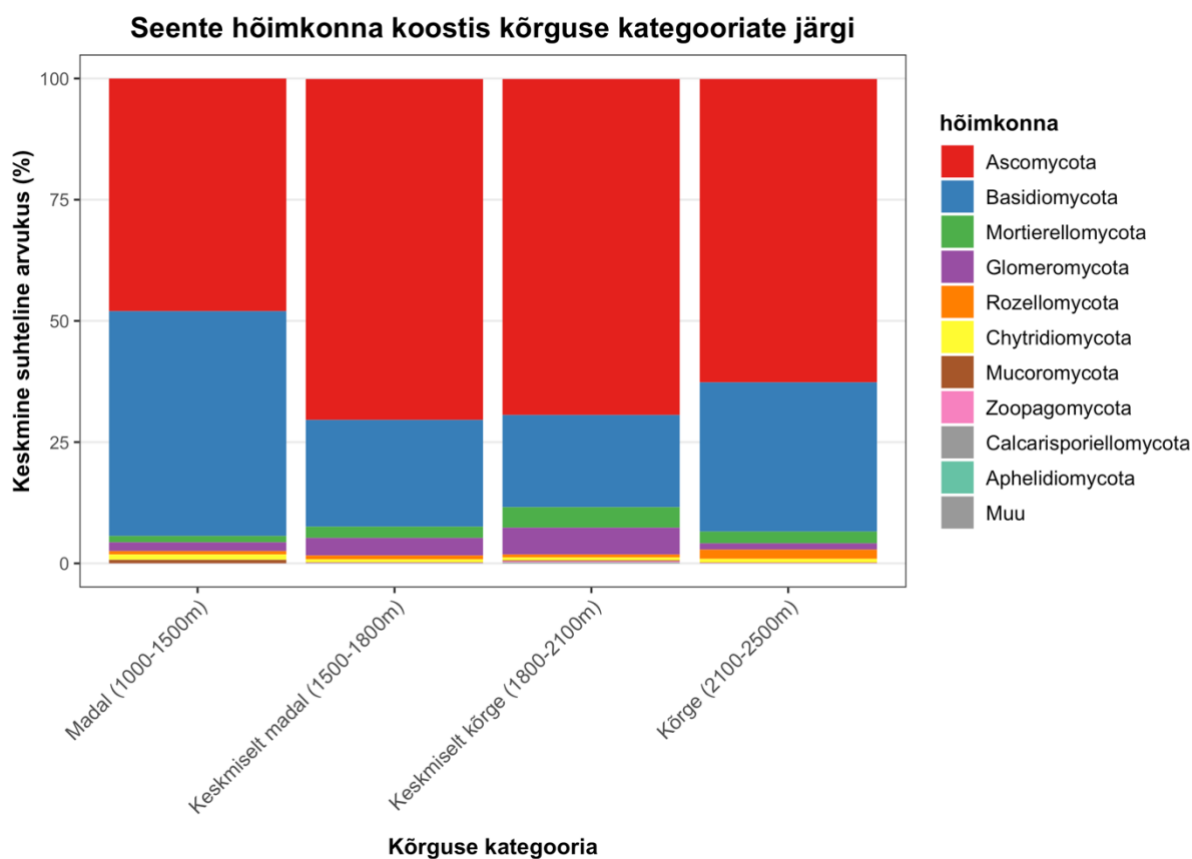
Mitmese testimise probleem lahendati FDR korrigeerimisega kõikides analüüsides. PERMANOVA kasutamisel kontrolliti rühmade homogeensust. NMDS ordinatsiooni stabiilsust testiti mitme käivitamisega. Statistilise olulisuse lävi oli määratud  $p < 0,05$ , kusjuures kõik p-väärtused olid korrigeeritud mitmese testimise suhtes.

## 2.3 Tulemused

### 2.3.1 Seente taksonoomilise koostise ülevaade

Helani mägede seenekooslustes tuvastati suur taksonoomiline mitmekesisus: 5997 OTUd kuulusid 24 hõimkonda, 99 klassi, 167 seltsi, 355 sugukonda ja koguni 773 perekonda seeni.

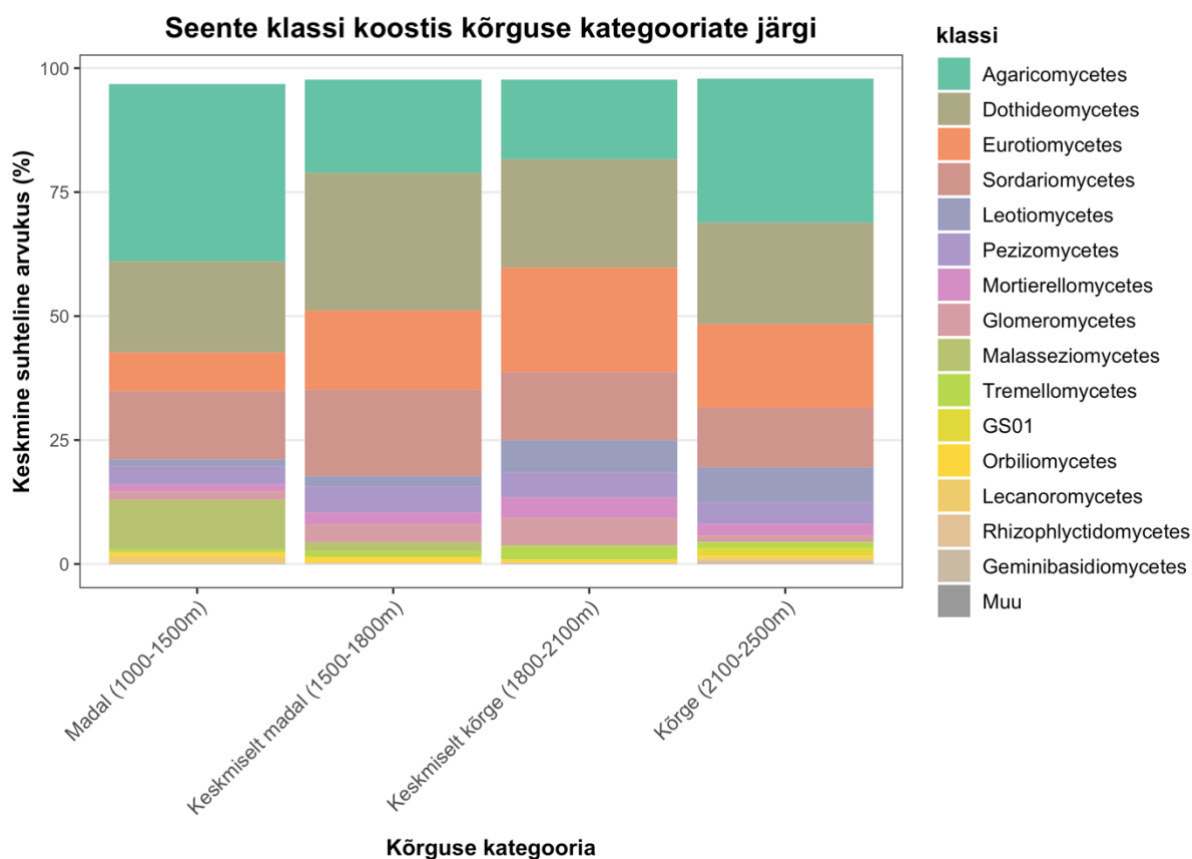
*Ascomycota* ja *Basidiomycota* domineerisid kogu vaadeldud kõrgusvahemikus, moodustades kokku üle 85% OTUdest, kuid nende suhteline osakaal muutus märgatavalt. Madalaimal kõrgusel (1124 m) oli *Basidimycota* osakaal suurim, moodustades ligikaudu 80% OTUdest.



**Joonis 1.** Seente hõimkondade suhtelise arvukuse virndiagramm nelja kõrguskategooriate järgi. „Muu“ kategooria sisaldab kõiki vähem kui 0,5% suhtelise arvukusega

Madalamal alal (1000-1500 m) moodustab *Basidiomycota* ligi 50% kooslusest, keskmistel kõrgustel (1500-1800 m ja 1800-2100 m) langeb selle osakaal 30% lähedale. Samas *Ascomycota* osakaal suureneb keskmistes kõrgustes 70% lähedale ja Kõrgemais vahemikus (2100-2500 m) on *Ascomycota* osakaal ligikaudu 60-65% OTUdest.

Väiksema osakaaluga hõimkonnad nagu *Mortierellomycota* (3-7%), *Glomeromycota* (1-5%), *Rozellomycota*, *Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Zoopagomycota*, *Calcarisporiellomycota* ja *Aphelidiomycota* moodustavad kokku 5-10% kooslusest. Eriti märkimisväärne on *Glomeromycota* suurem esindatus keskmistel kõrgustel (1800-2100 m).

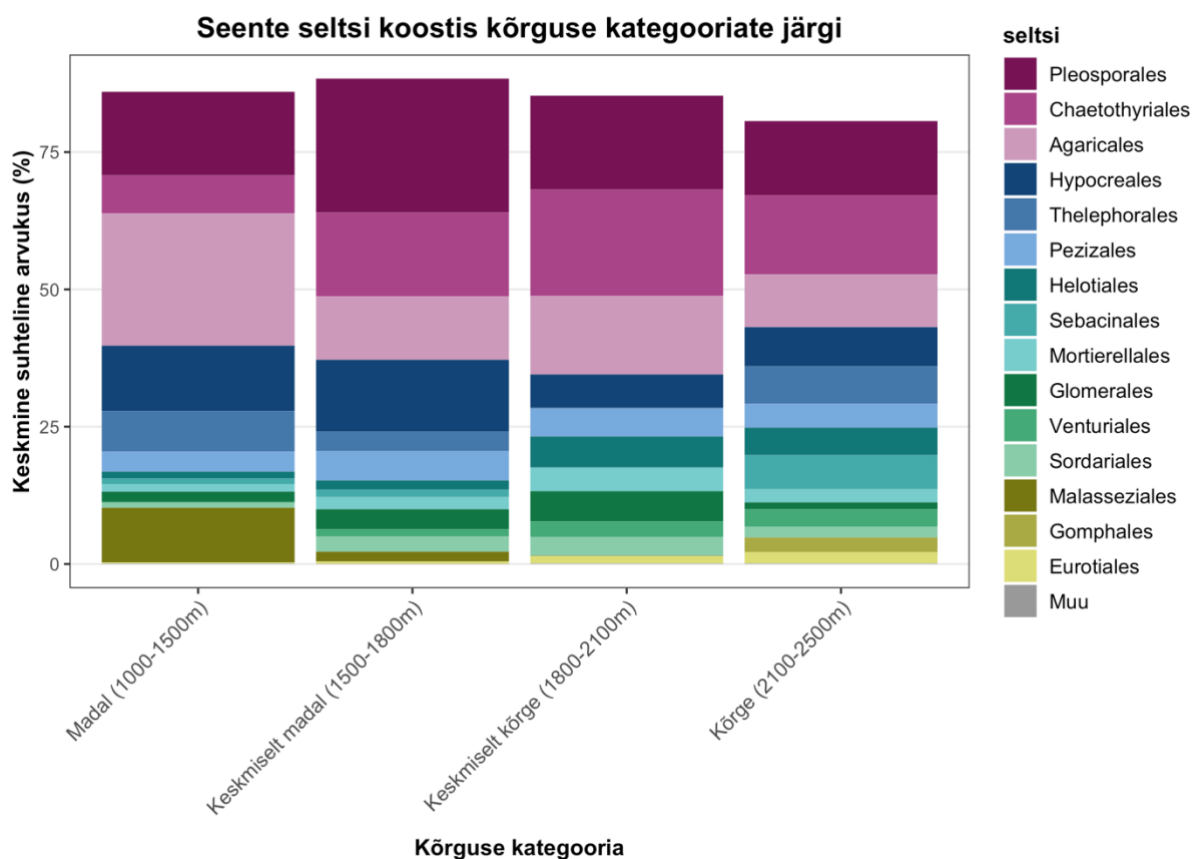


**Joonis 2.** Seente 99 klassi suhtelise arvukuse virndiagramm kõrguskategooriate järgi. „Muu“ kategooria sisaldab kõiki vähem kui 1% suhtelise arvukusega klasse.

Klassi tasemel on tuvastatud 99 erinevat seentaksonit, mis näitab olulist fülogeneetilist mitmekesisust. Suurima OTUde osakaaluga klassideks on *Agaricomycetes* (Basidiomycota), *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Sordariomycetes* ja *Leotiomyces* (kõik *Ascomycota*).

*Agaricomycetes* domineerib madalamatel kõrgustel (moodustades kuni 50% kooslusest), kuid selle rühma osakaal väheneb kõrguse kasvades. *Dothideomycetes* ja *Eurotiomycetes* moodustavad keskmiselt 10-20% kooslusest, kusjuures *Dothideomycetes* osakaal on suurem keskmistel kõrgustel. *Sordariomycetes* (5-15%) on kõige arvukam keskmistel kõrgustel, samas kui *Leotiomyces* (5-10%) osakaal näitab kasvavat trendi kõrguse suurenemisega.

Väiksemat, kuid siiski märkimisväärset osa kooslusest moodustavad *Mortierellomycetes*, *Glomeromycetes*, *Tremellomycetes*, *Pezizomycetes*, *Malasseziomycetes* ja *GS01* klassitasemel takson, mis kuulub hõimkonda *Rozellomycota*. Ülejäänud 88 klassi olid vähem esindatud, kuid annavad panuse koosluse üldisesse mitmekesisusse.



**Joonis 3.** Seente 167 seltsi suhtelise arvukuse virndiagramm kõrguskategooriate järgi. „Muu“ kategooria sisaldab vähem kui 1% suhtelise arvukusega 153 seltsi.

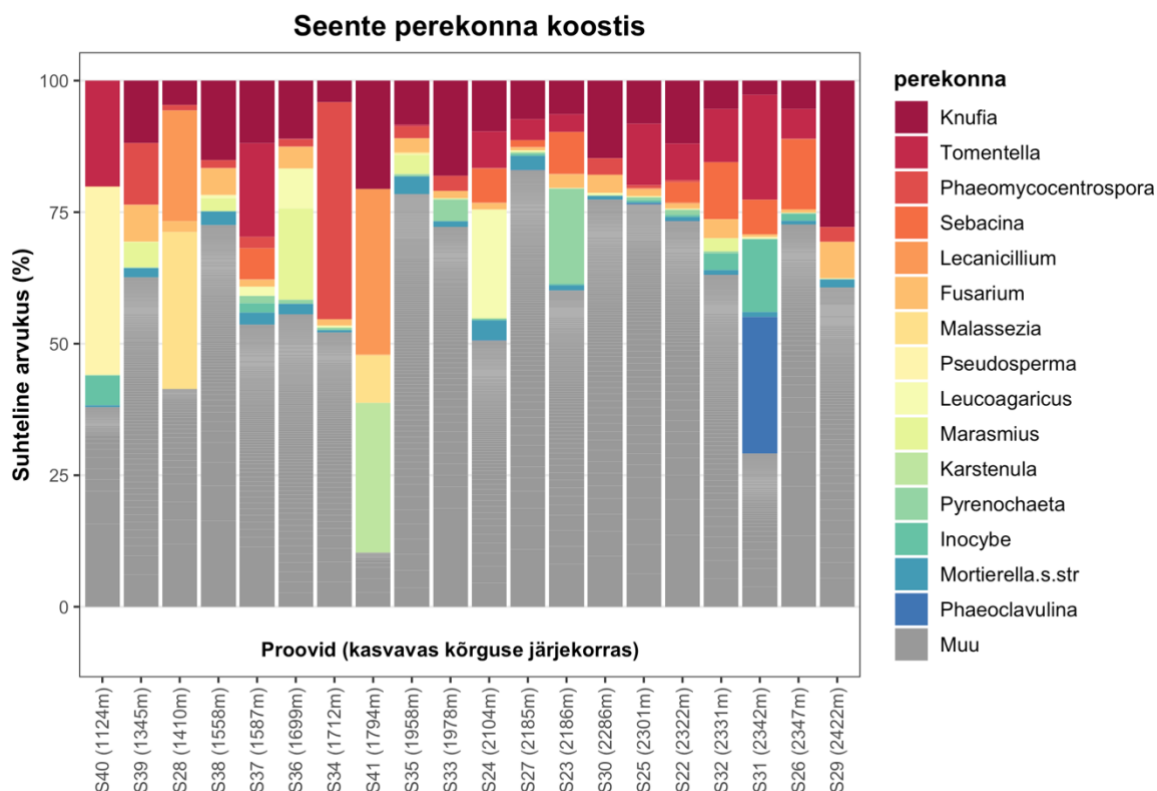
Seltside tasemel tuvastati 167 erinevat taksonit, mis viitab jätkuvalt kasvavale mitmekesisusele keskmisel taksonoomilisel tasemel. Domineerivad seltsid on *Pleoporales*, *Chaetothyriales*, *Agaricales*, *Hypocreales* ja *Thelephorales*.

*Pleoporales* (10-25%) ja *Chaetothyriales* (10-25%) on kaks kõige arvukamat seltsi erinevatel kõrgustel, kuigi nende osakaal varieerub märkimisväärselt prooviti. *Agaricales* osakaal (5-20%) on suurem madalamatel kõrgustel ning väheneb kõrguse kasvades. *Hypocreales* (5-15%) säilitab suhteliselt stabiilse osakaalu erinevatel kõrgustel.

*Thelephorales* seltsi osakaal on kõrgem keskmistel kõrgustel (5-10%). *Helotiales*, *Sebaciales*, *Mortierellales*, *Glomerales*, *Venturiales*, *Sordariales*, *Malasseziales*, *Gomphales* ja *Eurotiales* seltsid moodustavad igaüks 1-5% kooslusest, kuid nende täpne osakaal varieerub olenevalt kõrgusest. Ülejäänud 153 seltsi moodustavad igaüks alla 1% kooslusest, kuid kokku annavad olulise panuse (25-30%) koosluse üldisesse koosseisu.

Sugukonna tasemel esines 355 erinevat seentaksonit. Peamised sugukonnad on *Trichomeriaceae* (*Chaetothyriales*), *Thelephoraceae* (*Thelephorales*), *Agaricaceae* (*Agaricales*), *Dothidotthiaceae* (*Dothideales*), *Sebacinaceae* (*Sebaciales*), *Inocybaceae*

(*Agaricales*), *Nectriaceae* (*Hypocreales*), *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*), *Pyronemataceae* (*Pezizales*), *Mortierellaceae* (*Mortierellales*) ja *Glomeraceae* (*Glomerales*).



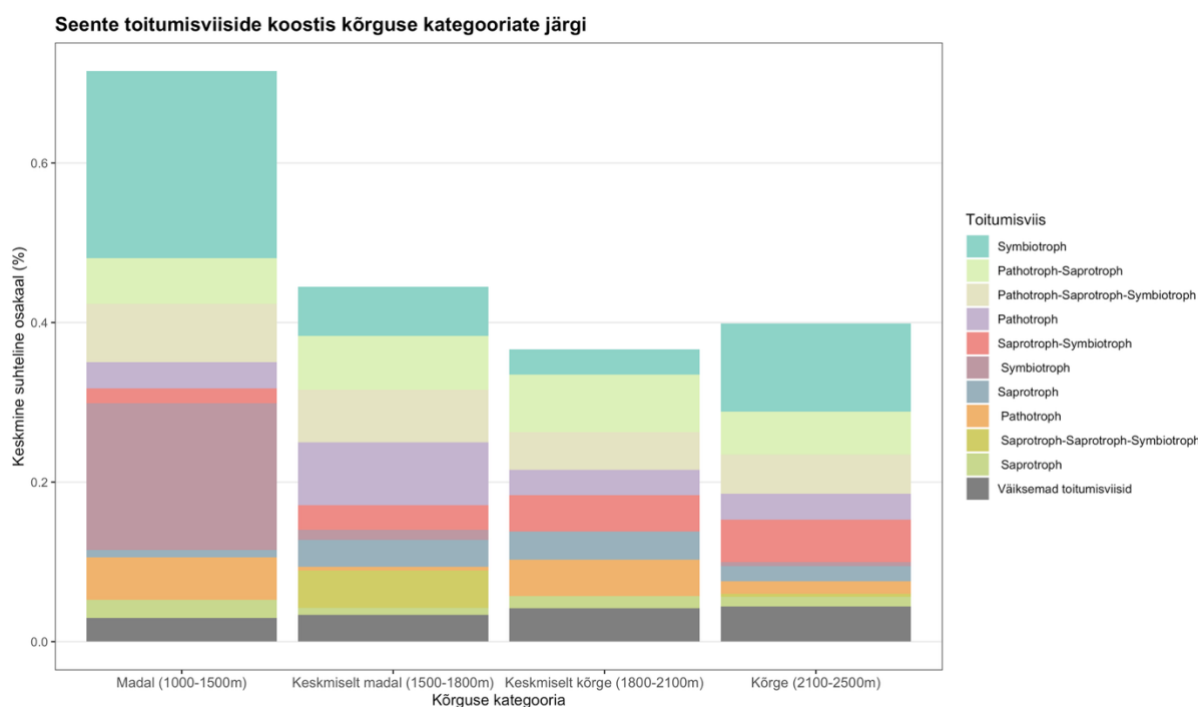
**Joonis 4.** Seente 733 perekonna suhtelise arvukuse virndiagramm eri proovide järgi. „Muu“ kategooria sisaldab segu väiksema suhtelise arvukusega perekondasid.

Perekonna tasemel tuvastati 773 erinevat seenerühma. See suur taksonite arv peegeldub ka graafikudel, kus "Muu" kategooria moodustab 40-80% kooslusest. Domineerivad perekonnad on *Knufia*, *Tomentella*, *Phaeomycoentrospora*, *Sebacina*, *Lecanicillium*, *Fusarium* ja *Malassezia*, kuid ükski neist ei ületa ühelgi kõrgusel 15% osakaalu. Selline suur mitmekesisus perekonna tasemel viitab sellele, et seenekooslused Helani mäestikus on äärmiselt heterogeensed, sisaldades palju erinevaid taksonid, mis kõik moodustavad suhteliselt väikese osa kogu kooslusest. Kõige arvukam OTU kuulus perekonda *Phaeomycoentrospora* (2,53% koguarvukusest), millele järgnesid *Knufia* sugukonda kuuluvad taksonid. Tabel kõige arvukamate seente OTUdega on toodud lisas 4.

Üldiselt Helani mägede seenekoosluste taksonoomiline koostis on väga mitmekesine kõikidel taksonoomilistel tasemetel. Mida madalam on taksonoomiline tase, seda vähem nähtavad selged mustrid graafikudel, sest erinevate taksonite arv kasvab märkimisväärselt.

## 2.3.2 Seente funktsionaalse koosseisu ülevaade

Seente Toitumisviiside (ingl k *trophic mode*) analüüs näitas, et sümbiotroofid, saprotroofid ja patotroofid, samuti mitmesugused kombinatsioonid nendest viisidest esinesid kõigil kõrgustel. Sümbiotroofe oli eriti palju madalamatel kõrgustel (1000–1500 m), kus nad moodustasid umbes 60% kooslusest, mis korreleerus *Basidiomycota* (eriti ektomükoriised *Agaricomycetes*) suure arvukusega. Keskmistel kõrgustel (1500–2100 m) oli erinevate toitumisviiside tasakaalustatum jaotus, samas kui suurtel kõrgustel (2100–2500 m) täheldati sümbiotroofide mõõdukat suurenemist võrreldes keskmiste kõrgustega.



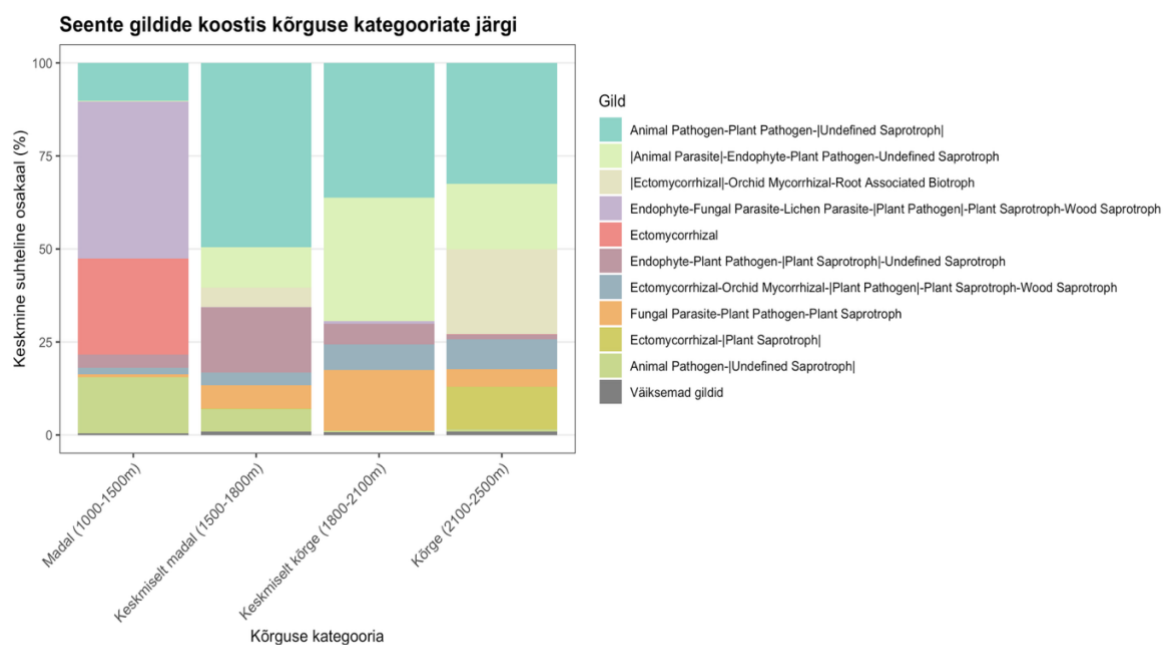
**Joonis 5.** Seente toitumisviiside virndiagramm kõrguskategooriate järgi.

Saprotroofid näitasid kõrgusgradiendi ulatuses suhteliselt stabiilset arvukust. Pärast FDR korrektsiooni mitmese testimise jaoks ükski toitumisviis ei näidanud statistiliselt olulisi korrelatsioone, mis näitab, et kõrgus üksi ei pruugi toitumisviise jaotuse määramisel olla tugev tegur selles mäestikus.

Toitumisviiside analüüs erinevate taimestikutüüpide aladel näitas seevastu selgemaid mustreid kui kõrgusgradiendi analüüs. Sümbiotroofid, eriti ektomükoriissed seened, domineerisid okasmetsa ja laialehise metsa ökosüsteemides, moodustades vastavalt 55-70% ja 45-60% kogu seenekooslusest, samas kui rohumaa-tüüpi taimekooslustes oli nende osakaal märkimisväärselt madalam, ainult 20-40%. Saprotroofide osakaal oli suurim mägikarjamaa ökosüsteemides, kus nad moodustasid ligikaudu 40-50% kogu seenekooslusest. Patogeenide osakaal oli suhteliselt stabiilne eri taimekooslustes, jäädes 10-15% vahele.

### 2.3.3 Seente gildide jaotuse ülevaade

Gildide analüüs näitas, et EM seened, endofüüdid, määratlemata saprotroofid, loompatogeenid, taimepatogeenid, väljaheidete saprotroofid, seenparasiidid, taimede saprotroofid ja puidu saprotroofid olid uuritud kõrgusvahemikus valdavad funktsionaalsed rühmad. EM seened näitasid bimodaalset jaotust, kõrgema arvukusega madalatel (1000-1500 m) ja kõrgetel (2100-2500 m) aladel ning vähesema esinemisega keskmistel kõrgustel. See muster oli eriti nähtav madalaimal proovivõtu alal (1124 m), kus ektomükoriissed seened moodustasid ligikaudu 40% kooslusest.



**Joonis 6.** Seente ökoloogiliste gildide suhtelise arvukuse virndiagramm kõrguskategooriate järgi.

Endofüüdid näitasid suuremat arvukust keskmistel kõrgustel (1500-2100 m) võrreldes madalate ja kõrgete aladega. Määratlemata saprotroofid säilitasid suhteliselt ühtlase esinemise kõigil kõrgustel, mis võiks viidata stabiilsele rollile orgaanilise aine lagundamisel kogu mäestiku ökosüsteemis. Loomade parasiidid, taimepatogeenid ja mükoparasiidid moodustasid igaüks väiksema osa kooslusest, kuid olid järjepidevalt esindatud üle kogu kõrgusvahemiku.

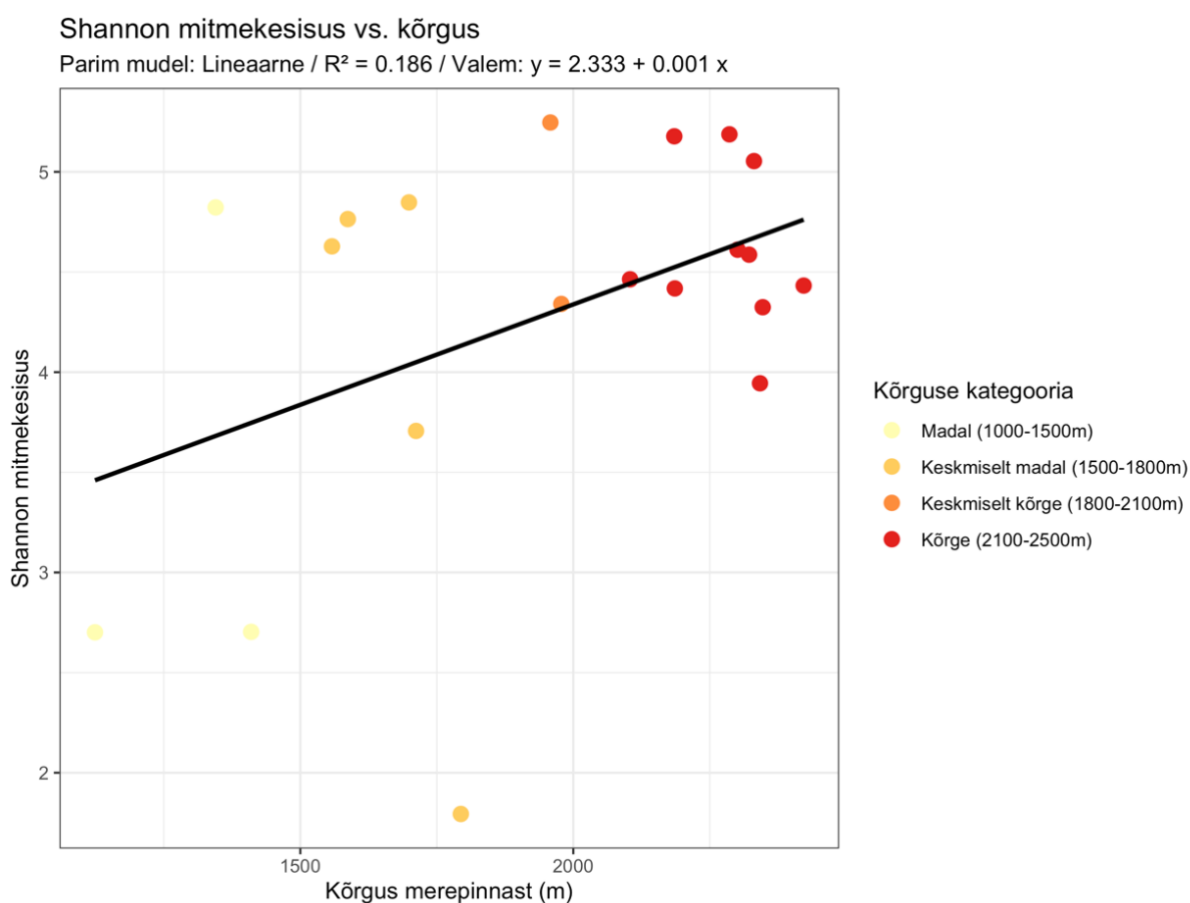
Sarnaselt toitumisviisidele ei näidanud ükski gild pärast FDR korrigeerimise statistiliselt olulist korrelatsiooni kõrgusega. Tugevaim korrelatsioon, kuigi statistiliselt mitte oluline, täheldati EM biotroofi puhul (Andmestik:  $\rho = 0,410$ , kohandatud  $p = 0,709$ ), viidates potentsiaalsele, kuigi nõrgale, positiivsele seosele kõrgusega.

Seente gildide jaotus oli tugevalt seotud taimeistiku tüübiga. EM seente osakaal varieerus märkimisväärselt erinevate peremees-puuliikide vahel, olles kõrgeim okaspuude domineerimisega aladel keskmiselt 60-70%-iga, järgnesid laialehised metsad 40-50%-ga ning madalaim osakaal 10-20% oli metsata aladel. Arbuskulaar-mükoriissed seened näitasid vastupidist mustrit, olles arvukamad mägikarjamaa ja parasvöötme karjamaa ökosüsteemides. Puidu saprotroofid olid ootuspäraselt kõige arvukamad metsaökosüsteemides, moodustades seal kuni 15% kooslusest, samas kui karjamaadel jäi nende osakaal alla 5%.

### 2.3.4 Elurikkuse mustrid

Elurikkuse analüüs näitas selgeid mustreid kõrgusgradiendil. Kõik elurikkuse näitajad: täheldatud liikide arv, Shannoni mitmekesisuse indeks, Simpsoni mitmekesisuse indeks ja pööratud Simpsoni indeks - tuvastasid seente mitmekesisuse suurenemist kõrguse kasvades.

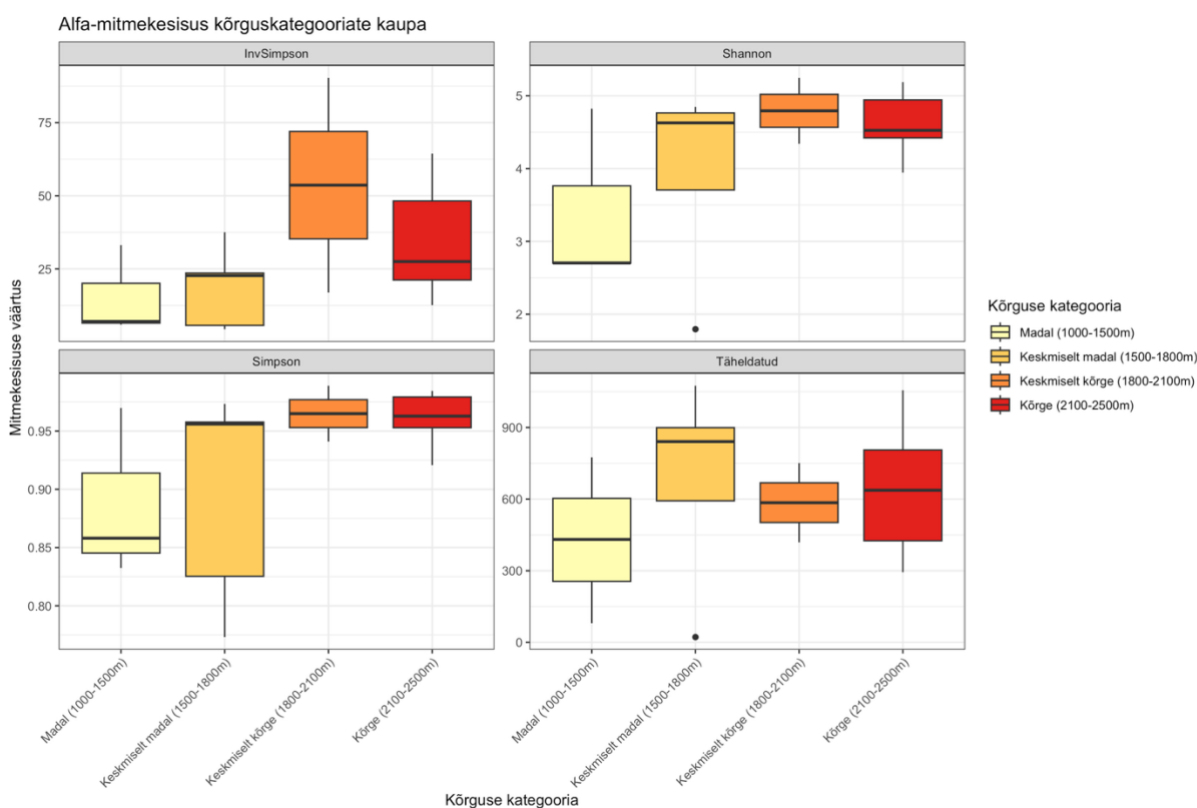
Täheldatud liikide arv märkimisväärselt varieerus erinevatel kõrgustel, 20 OTU kuni üle 900 OTU proovi kohta. Kõrgemat alade elurikkuse mediaanväärtused jäid 600-800 OTU vahele, samas kui madalamatel kõrgustel jäi mediaan 300-500 OTU piiridesse.



**Joonis 7.** Shannoni mitmekesisuse indeksi hajumisdiagramm kõrguse suhtes, demonstreerides tugevat positiivset Spearmani korrelatsiooni ( $\rho = 0,43$ ,  $p < 0,05$ ).

Shannoni mitmekesisuse indeks näitas kõige selgemat positiivset korrelatsiooni kõrgusega ( $\rho = 0,43$ ,  $p = 0,05$ ), seletades 18,6% mitmekesisuse variatiivsusest lineaarse mudeli kaudu ( $R^2 = 0,186$ ,  $p < 0,05$ ). Madalaimas kõrgusgrupis oli Shannoni indeksi mediaan umbes 2,7 samas kui kõrgematel aladel ulatus see 4,5ni. Selline kasv näitab et mitte ainult liikide arv, vaid ka nende ühtlane jaotus paranevad kõrguse suurenedes, viidates väiksemale domineerivate liikide mõjule kõrgematel aladel.

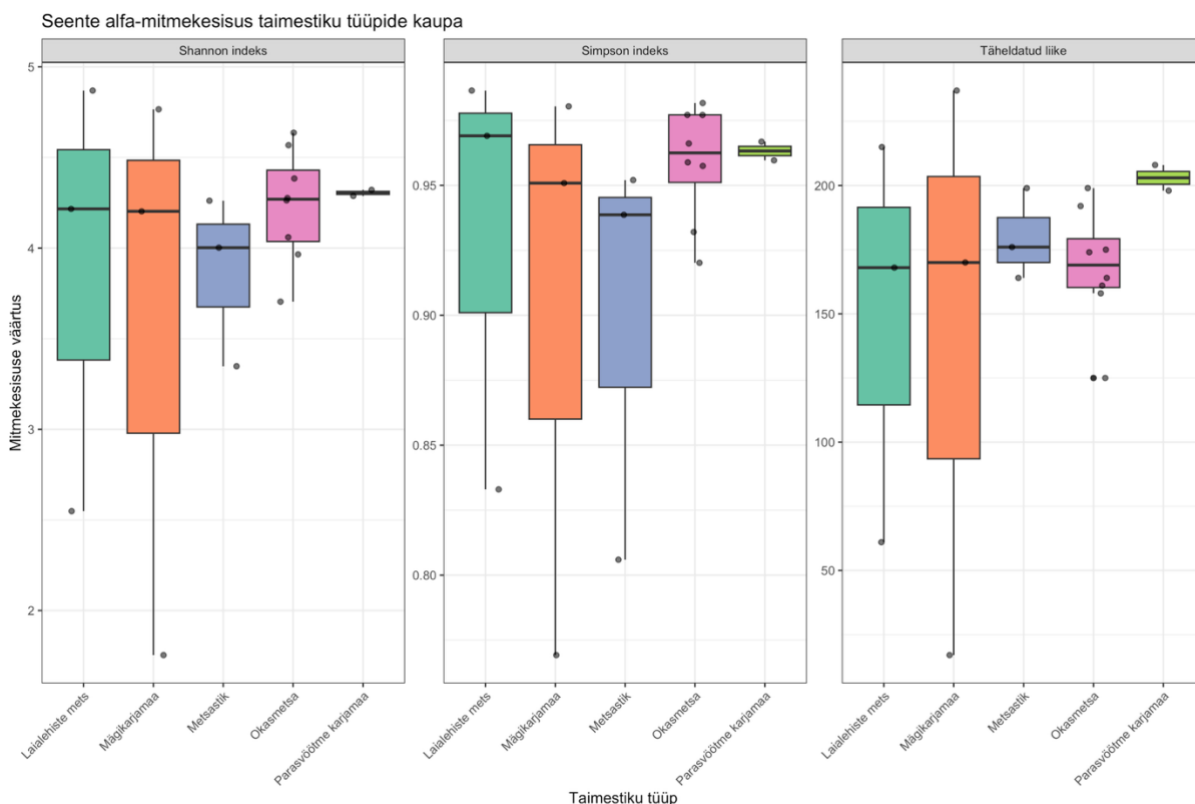
Simpsoni mitmekesisuse indeks ja pööratud Simpsoni indeks kinnitasid seda mustrit, näitades järkjärgulist mitmekesisuse kasvu mööda kõrgusgradienti. Simpsoni indeks seletab 22,6% variatiivsusest ( $R^2 = 0,226$ ,  $p < 0,01$ ), samas kui pööratud Simpsoni indeks seletab 11,7% variatiivsusest lineaarse mudeli kaudu. ( $R^2 = 0,117$ ,  $p < 0,05$ )



Joonis 8. Elurikkuse tulpdiagrammid nelja elurikkuse näitaja kohta kõrguskategooriate kaupa.

Lisaks kõrgusgradientide mõjule analüüsi ka taimestikutüüpide seost seente elurikkusega. Kruskal-Wallis testid näitasid statistiliselt olulisi erinevusi seente mitmekesisuses eri taimestikutüüpide vahel (Shannon:  $\chi^2 = 11,62$ ,  $df = 5$ ,  $p = 0,040$ ; Simpson:  $\chi^2 = 10,89$ ,  $df = 5$ ,  $p = 0,044$ ; täheldatud liikide arv:  $\chi^2 = 9,75$ ,  $df = 5$ ,  $p = 0,082$ ). Erinevate taimestikutüüpide võrdlus näitas, et kõrgeim seente mitmekesisus esines okasmetsades (Shannon mediaan = 4,2) ja laialehistes metsades (Shannon mediaan = 3,9), sellele järgnesid metsastik (Shannon mediaan = 3,7) ja mägikarjamaa (Shannon mediaan = 3,5). Madalaim mitmekesisus täheldati

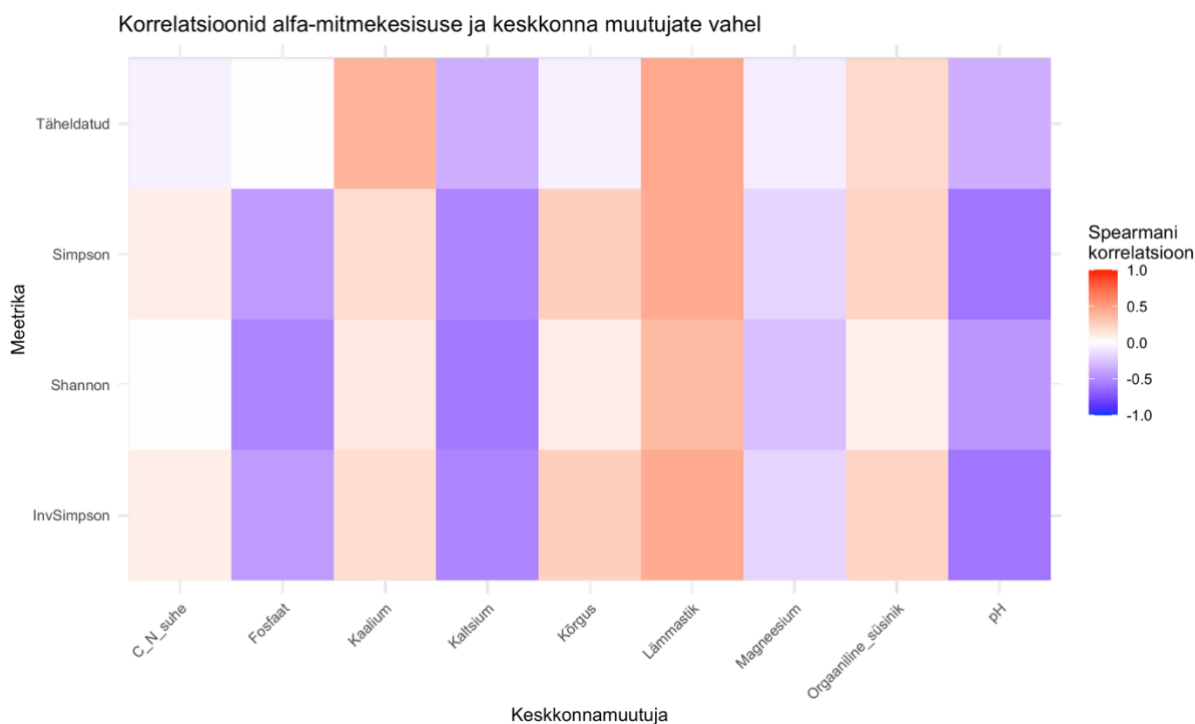
parasvõotme karjamaa (Shannon mediaan = 3,2) ja kõrbelise karjamaa ökosüsteemides (Shannon mediaan = 2,9).



**Joonis 9.** Seente elurikkuse tulpdiagramm kolme näitaja kohta taimestiku tüüpide järgi.

Taimestikutüübi mõju seente mitmekesisusele oli osaliselt sõltumatu kõrgusest, mis viitab taimkatte iseseisvale rollile seenekoosluse mitmekesisuse kujundamisel. Kui vaadeldi kõrguse ja taimestikutüübi kombineeritud mõju, ilmnis, et kõrgematel aladel asuvad metsaökosüsteemid (nii okasmetsad kui ka laialehised metsad) olid kõrgeima seente mitmekesisusega.

Keskkonnategurite analüüs näitas, et kõrgus oli kõige tihedamalt korreleeritud kõigi mitmekesisuse indeksitega (Shannon:  $\rho = 0,43$ ,  $p < 0,05$ ; pööratud Simpson:  $\rho = 0,34$ ,  $p < 0,10$ ). Lämmastiksisaldus oli samuti oluliselt seotud mitmekesisusega, näidates positiivseid korrelatsioone eriti Shannoni ( $\rho = 0,35$ ,  $p < 0,05$ ) ja pööratud Simpsoni indeksitega ( $\rho = 0,41$ ,  $p < 0,05$ ). Mulla pH näitas nõrkapositiivset seost bioloogilise mitmekesisusega (Shannoni indeks  $\rho = 0,25$ ,  $p = 0,10$ ), samas kui orgaanilise süsiniku sisaldus oli positiivselt seotud mitmekesisusega (Shannoni indeks  $\rho = 0,32$ ,  $p < 0,05$ ), mis on kooskõlas ootusega, et suurem orgaanilise aine kogus toetab mitmekesisemate heterotroofide koosluste arengut.



**Joonis 10.** Soojuskaart elurikkuse ja üheksa keskkonnamuutuja vaheliste Spearmani korrelatsioonide kohta; C\_N – süsiniku-lämmastiku suhe.

Kruskal-Wallise testid kinnitasid statistiliselt olulised erinevused kõrguskategooriate vahel kõikide mitmekesisuse näitajate osas (Shannon:  $\chi^2 = 8,97$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0,030$ ; Simpson:  $\chi^2 = 9,84$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0,020$ ; pööratud Simpson:  $\chi^2 = 8,12$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0,044$  Tähdeldatud:  $\chi^2 = 7,23$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0,065$ ). Madal kõrguskategooria erines oluliselt kõigist teistest kategooriatest, omades märgatavalt madalamat mitmekesisust, samas kui kõrge kõrguskategooria näitas kõige suuremat mitmekesisust.

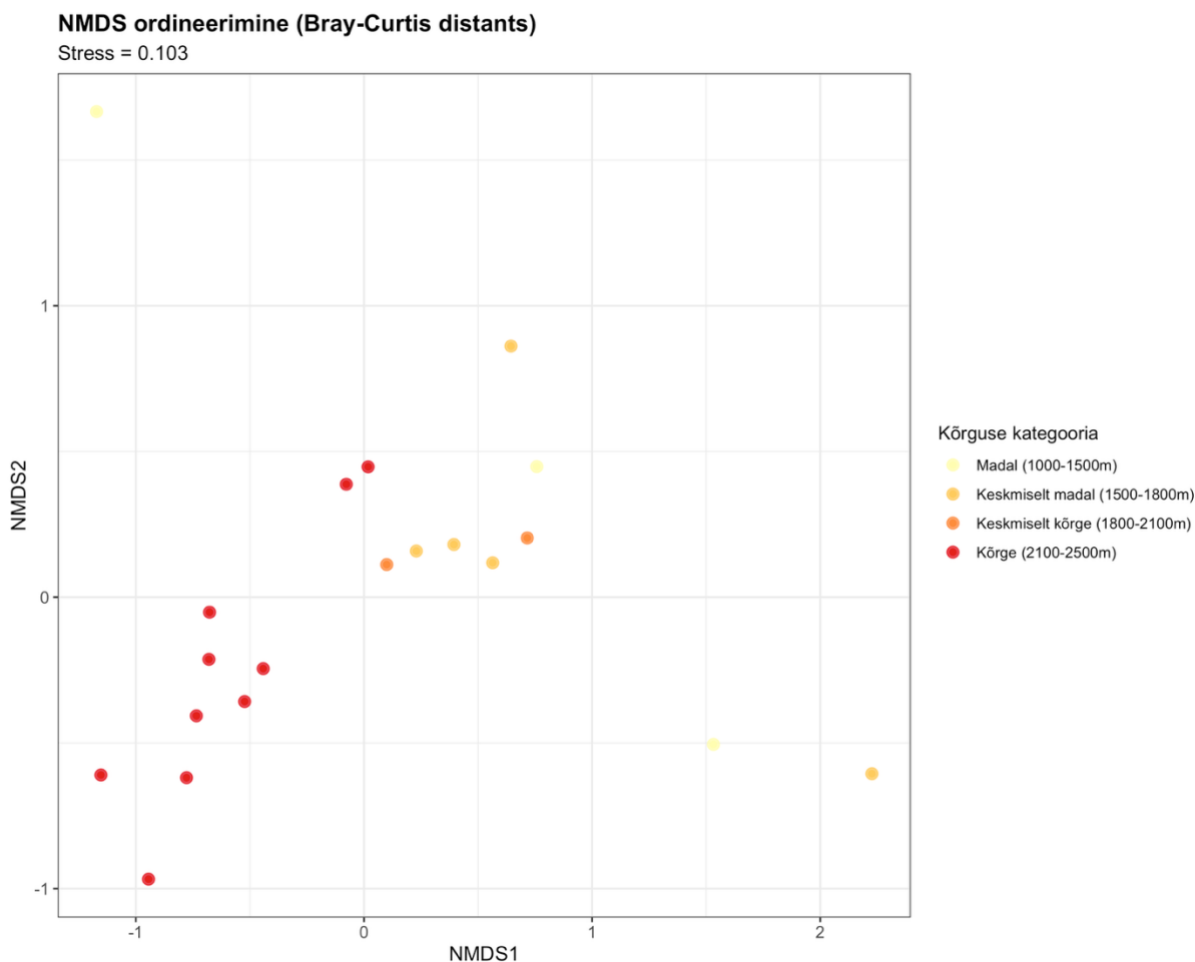
Need tulemused viitavad sellele, et nii kõrgus kui ka taimestiku tüüp on olulised tegurid, mis kujundavad seente elurikkust Helani mäestik. Seente mitmekesisuse muster järgib monotoonselt kasvavat trendi kõrgusega, mis erineb paljudest teistest mägi-ökosüsteemide uuringutest, kus on enim täheldatud maksimaalsete väärtustega keskmistel kõrgustel või U-kujulisi mustreid. Samas näib, et taimestiku koosseis pakub täiendavat selgitust seente mitmekesisuse varieeruvusele, eriti puittaimede domineerimisega aladel, kus mitmekesisus on üldjuhul kõrgem.

### 2.3.5 Koosluste struktuuri mustrid

Koosluste analüüs näitas selgeid ruumilisi mustreid seenekoosluste koosseisus kõrgusgradiendil. PERMANOVA viitas, et kõrgus on statistiliselt oluline tegur seenekoosluste koosseisu kujundamisel ( $F = 2,98$ ,  $R^2 = 0,142$ ,  $p = 0,002$ ). Kõrgus ükski seletab 14,2% koosluste variatiivsusest, mis on ökoloogiliselt oluline hulk. Kõrguskategooriate-põhine analüüs näitas

veelgi tugevamat mõju ( $F = 1,80$ ,  $R^2 = 0,252$ ,  $p = 0,002$ ), seletades 25,2% koguvarieeruvusest, mis viitab sellele, et kategooriate põhine lähenemine tabab paremini seenekoosluste tegelikku varieeruvust.

Mittemeetriline mitmemõõtmeline skaleerimisanalüüs Bray-Curtisi distantssi põhjal paljastas tugeva segregatsiooni erinevate kõrguste vahel. Ordinatsiooni stressi väärtus 0,103 viitab rahuldavale konfiguratsiooni kvaliteedile ja usaldusväärsetele tulemustele.



**Joonis 11.** Seenekoosluste NMDS (mittemeetriline mitmemõõtmeline skaleerimine) ordinatsiooni hajumisdiagramm Bray-Curtis kaugusmaatriksi põhjal (stress = 0,103).

NMDS ordinatsioon näitas, et madala kõrguse proovid paiknesid ordiatsiooniruumis laiali, samas kui kõrgete aladeproovid moodustasid selgelt eraldiseisva rühma. Keskmiste kõrguste proovid asetsesid üldiselt nende kahe rühma vahel, näitades järkjärgulist üleminekut seenekoosluste koosseisus. Esimene ordinatsiooni telg peegeldas peamiselt kõrgusgradienti, samas kui teine telg esindas teisi keskkonnamuutujaid.

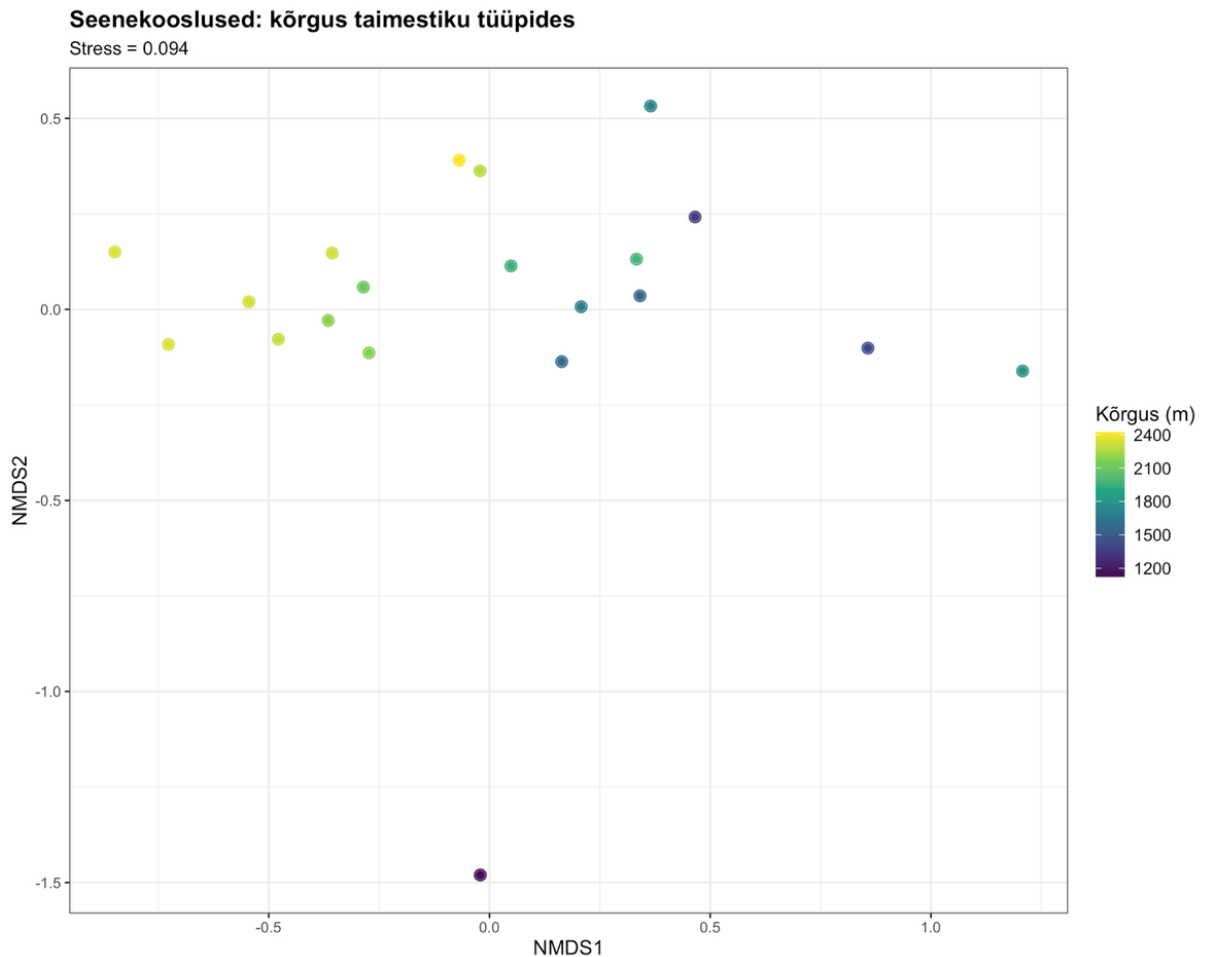
Keskkonnafaktorite ja taimestiku koosmõju analüüs näitas olulist seenekoosluste varieeruvuse selgitamisvõime paranemist. Ainult keskkonnafaktorid (kõrgus, pH, orgaaniline süsinik, lämmastik, C:N suhe, fosfaat, kaalium, kaltsium, magneesium) seletasid 60,1% varieeruvusest,

samas kui taimestiku lisamine tõstis seletatava varieeruvuse 76,1%-ni ( $F = 1,47$ ,  $R^2 = 0,761$ ,  $p = 0,001$ ). Taimestik üksi seletas 28,9% seenekoosluste varieeruvusest, mis näitab selle olulist rolli kui ökoloogilist filtrit. Varieeruvuse jaotamine näitas, et enamik taimestiku mõjust (9,7% koguvarieeruvusest) on jagatud keskkonnafaktoritega, viidates sellele, et keskkonnatingimused kujundavad taimkooslusi, mis omakorda mõjutavad seenekooslusi.

Paarviised võrdlused näitasid, et kõige suuremad erinevused seenekoosluse koosseisus esinevad Kõrge ja madala kõrguse vahel ( $F = 2,42$ ,  $R^2 = 0,180$ ,  $p = 0,009$ ) ning kõrge ja keskmiselt madala kõrguse vahel ( $F = 2,95$ ,  $R^2 = 0,185$ ,  $p = 0,006$ ). Lähedased kategooriad ei erinenud statistiliselt oluliselt (kõik  $p > 0.10$  pärast FDR korrektsiooni) erinevad, mis viitab järkjärguliste muutustele seenekoosluste koosseisus.

### **2.3.6 Taimestiku mõju seenekoosluste koosseisule**

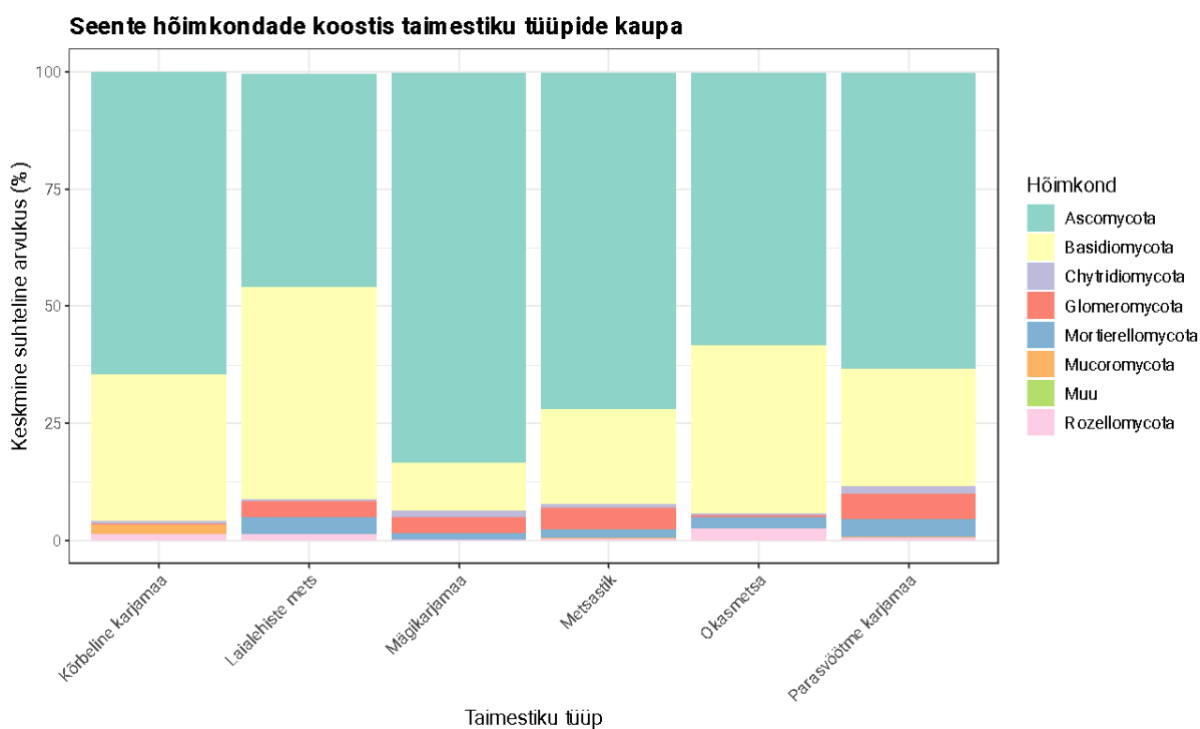
Taimkattetüübi mõju seenekooslustele analüüsiti PERMANOVA meetodil, mis näitas, et see selgitab 36,6% seenekoosluste varieeruvusest ( $F = 1,62$ ,  $R^2 = 0,366$ ,  $p = 0,001$ ). See tulemus osutab taimestiku tüübi oluliste rollide seenekoosluste kujundamisel, mis on märkimisväärselt suurem kõrguse 14,2% mõjust. Taimestiku ja kõrguse ühis mõju selgitas 43,3% koosluste varieeruvusest ( $F = 1,65$ ,  $R^2 = 0,433$ ,  $p = 0,001$ ), samas kui nende interaktsioon selgitas 63,5% varieeruvusest ( $F = 1,57$ ,  $R^2 = 0,635$ ,  $p = 0,001$ ). Need tulemused viitavad taimestiku ja kõrguse keerukale koosmõjule seenekoosluste kujundamisel.



**Joonis 12.** Seenekoosluste NMDS ordineerimine taimeistiku tüüpide kaupa. Stress = 0,094. Erinevad taimekogukonna tüübid moodustavad eristatavad klastrid ordinatsioonruumis.

NMDS ordinatsioon näitas, et eri taimkattetüüpidega alad moodustavad ordinatsiooniruumis eraldiseisvad rühmad, kusjuures okasmetsa ja laialehise metsa proovid moodustasid kõige kompaktsemad rühmad.

Hõimkondade tasemel näitas taimkattetüübi analüüs, et *Basidiomycota* osakaal oli kõrgem laialehise metsa ökosüsteemides (60-70%), järgnesid okasmetsa (45-55%) ja puhmastik (40-45%), samal ajal kui karjamaa-tüüpi ökosüsteemides domineeris selgelt *Ascomycota* (60-75%). *Mortierellomycota* esines kõrgemas osakaalus parasvöötme karjamaa ökosüsteemides, samas kui *Glomeromycota* oli arvukam mägikarjamaa ja kõrbelise karjamaa aladel.



Joonis 13. Seente hõimkondade koostis erinevates taimkogukondes. Niimede täpsustus: Metsastik = puhmastik; kõrbeline karjamaa = kuiv rohumaad.

Ektomükoriisete seente jaotuse analüüs peremeespuu tüüpide kaupa näitas selgeid erinevusi. Okaspuude domineerimisega aladel oli ektomükoriisete seente suhteline arvukus kõrgem, järgnesid laialehised metsad. Selline jaotus peegeldab ektomükoriisete seente tugeva peremeestaime spetsiifilisust ning kinnitab, et taimkatte koosseis on nende seente leviku oluline määraja. Seevastu arbuskulaar-mükorissid seemed olid mitmekesisemad ja arvukamad aladel, kus domineerisid rohttaimed.

### 2.3.7 Koosluste erinevusi kujundavad taksonid

SIMPER analüüs tuvastas peamised taksonid, mis vastutavad seenekoosluste erinevuse eest kõrguskategooriate vahel. Kõige suurem erinevus oli kõrgete ja madalamate kõrguste vahel, kus esimesed 6 OTUd vastutasid 33,6% kumulatiivsest erinevusest. Esimesed 20 OTUd seletasid 49,9% kategooriate vahelistest erinevustest, näitades et suhteliselt väike arv taksoni domineerib koosluste diferentsiatsioomustrites.

Kõrge ja keskmiselt kõrge kõrguse vaheline erinevus oli väiksem, kus esimesed 10 OTUd vastutasid 38,3% kumulatiivsest erinevusest. Kõrge ja keskmiselt madala kõrguse vahel vastutasid esimesed 10 OTUd 37,1% erinevusest. Need tulemused kinnitavad, et naaber kategooriate vaheline erinevus oli märgavalt väiksem kui kaugede kategooriate vahel.

### 2.3.8 Indikaatorliikide mustrite ülevaade

Indikaatorliikide analüüs tuvastas 49 statistiliselt olulist indikaator-OTUt ( $p < 0,05$ ) 637 analüüsitud OTUst, mis iseloomustavad erinevaid kõrguskategooriaid ja keskkonnatingimusi.

Kõrge kõrguse kategooria oli iseloomustatud 14 indikaatorliigiga, sealhulgas kõige tugevam indikaator (stat = 0,918,  $p = 0,001$ ) ja enamik teisi kuulusid peamiselt *Ascomycota* hõimkonda. Keskmiselt kõrge kõrguskategooria oli iseloomustatud 28 indikaatorliigiga. Kõige tugevam indikaator selles kategoorias näitas väga kõrget spetsiifilisust (stat = 0,893,  $p = 0,005$ ).

Keskmiselt madal kõrguskategooria oli iseloomustatud 6 indikaatorliigiga ja samuti tugevaim indikaator näitas kõrget spetsiifilisust (stat = 0,742,  $p = 0,021$ ). Madal kõrguskategoorias leidis ainult 1 indikaatorliik (stat = 0,617,  $p = 0,048$ ). Väiksem indikaatorliikide arv madalamatel kõrgustel võib olla seotud nii väiksema proovide arvuga ( $n = 3$ ) selles kategoorias kui ka keskkonnatingimuste suurema heterogeensusega.

Keskkonnafaktorite indikaatorliigid näitasid, et pH oli kõige olulisem keskkonnafaktor 92 indikaatorliigiga 637 analüüsitud OTUst. Neutraalse pH tingimuste ( $pH < 7,3$ ) indikaatorid moodustasid 63 liiki, nõrgalt aluselise pH (7,3-7,5) indikaatoreid oli 20 ja tugevalt aluselise pH ( $> 7,5$ ) indikaatoreid 9 liiki. Lämmastiku sisaldus oli teine oluline tegur 85 indikaatorliigiga. madala lämmastiku keskkonna indikaatoreid oli 6, keskmise lämmastiku keskkonnaindikaatoreid 44 ja kõrge lämmastiku keskkonnaindikaatoreid 35 liiki.

Orgaaniline süsinik näitas 47 indikaatorliiki, kusjuures madala orgaanilise süsiniku tingimuste indikaatoreid oli 5, keskmise 9 ja kõrge orgaanilise süsiniku tingimuste indikaatoreid 33 liiki. C:N suhe näitas 42 indikaatorliiki (madal 16, keskmine 3, kõrge 23) ja fosfaadi sisaldus 36 indikaatorliiki (madal 13, keskmine 19, kõrge 4). Need tulemused kinnitavad nende tegurite olulisust seenekoosluste kujundamisel.

Indikaatorliikide analüüs tuvastas kokku 39 statistiliselt olulisi indikaatorliiki ( $p < 0,05$ ), mis olid spetsiifilised erinevatele taimestiku tüüpidele. Kõige rohkem indikaatorliike tuvastati parasvöötme karjamaa ökosüsteemist 18 liikidega, järgnesid okasmetsa 14 liikidega ja metsastik 5 liikidega. Laialehiste metsa ökosüsteemi iseloomustas üks kõrge spetsiifilisusega indikaatorliik (stat = 0.839,  $p = 0.009$ ), samas kui mägikarjamaa ökosüsteemil oli samuti üks iseloomulik indikaatorliik (stat = 0.711,  $p = 0.022$ ).

### 2.3.9 Statistiliste mudelite tulemused

Mitmekesisuse ja kõrguse vaheliste seose modelleerimiseks testiti erinevaid mudeli funktsioone, mis kinnitasid lineaarsete seoste domineerimist. Shannon indeks näitas selgeimat

lineaarset seost kõrgusega ( $R^2 = 0,186$ ,  $AIC = 21,8$ ,  $p = 0,044$ ). Simpsoni indeks näitas parimat lineaarset sobivust ( $R^2 = 0,226$ ,  $AIC = -108,9$ ,  $p = 0,025$ ), samas kui InvSimpsoni indeks seletab 11,7% variatiivsusest ( $R^2 = 0,117$ ,  $AIC = 196,4$ ,  $p = 0,115$ ). Polünominaalsed mudelid ei näidanud märkimisväärset paranemist võrreldes lineaarsete mudelitega (kõik  $dAIC < 2$ ), mis kinnitab lineaarsete trendide domineerimist.

Normaaljaotuse testid (Shapiro-Wilk) näitasid, et enamik mitmekesisuse näitlejaid ei järgi normaaljaotust: täheldatud mitmekesisus ( $W = 0,89$ ,  $p = 0,025$ ), Simpson ( $W = 0,78$ ,  $p < 0,001$ ), InvSimpson ( $W = 0,82$ ,  $p = 0,002$ ). Shannon indeks oli ainukene parameeter mis näitas normaaljaotust ( $W = 0,94$ ,  $p = 0,23$ ), mis õigustas mitteparameetriliste testide kasutamist enamike parameetrite puhul.

PERMANOVA analüüs viidi läbi mitme erineva mudeli abil seenekoosluste varieeruvuse allikate tuvastamiseks, tuues esile nii taimestiku kui ka keskkonnanafaktorite olulise rolli. Taimestiku mõju eraldi testimisel seletas see 28,9% seenekoosluste koguvarieeruvusest ( $F = 1,52$ ,  $R^2 = 0,289$ ,  $p = 0,003$ ), samas kui keskkonnanafaktorite (kõrgus, pH, orgaaniline süsinik, lämmastik, C:N suhe, fosfaat, kaalium, kaltsium, magneesium) mõju eraldi testimisel seletas 60,1% varieeruvusest ( $F = 1,67$ ,  $R^2 = 0,601$ ,  $p = 0,001$ ). Hierarhiline mudel, mis sisaldas nii taimestiku kui ka kõiki keskkonnanafaktoreid, seletas kokku 76,1% seenekoosluste koguvarieeruvusest ( $F = 1,47$ ,  $R^2 = 0,761$ ,  $p = 0,001$ ), olles kõige parem mudel ja näidates taimestiku ja keskkonnanafaktorite koosmõju olulist rolli seenekoosluste kujundamisel. Varieeruvuse jagamise analüüs paljastas, et puhtalt keskkonnanafaktorite mõju moodustab 14,6%, puhtalt taimestiku mõju 9,6% ja taimestiku ning keskkonna jagatud mõju 2,4% koguvarieeruvusest, jättes 75,5% varieeruvusest ilma seletuseta, mis viitab teiste, uurimata tegurite olulisusele.

Keskkonnanafaktorite korrelatsioonanalüüs näitas tugevaid seoseid, kusjuures kõrgus oli tugevalt seotud süsiniku sisaldusega ( $\rho = 0,78$ ,  $p < 0,001$ ) ja lämmastiku sisaldusega ( $\rho = 0,65$ ,  $p < 0,01$ ). orgaaniline süsinik ja lämmastik näitasid samuti tugevat korrelatsiooni ( $\rho = 0,82$ ,  $p < 0,001$ ), kaltsium ja magneesium olid tugevalt seotud ( $\rho = 0,71$ ,  $p < 0,001$ ), samas kui pH ja fosfaadi vahel leiti mõõdukas korrelatsioon ( $\rho = 0,58$ ,  $p < 0,01$ ). Mitmekesisuse näitajate ja keskkonnanafaktorite vahelised korrelatsioonid näitasid, et kõrgus oli kõige tugevamalt seotud Shannon indeksiga ( $\rho = 0,43$ ,  $p < 0,05$ ) ja InvSimpsoni indeksiga ( $\rho = 0,34$ ,  $p < 0,10$ ), lämmastikusisaldus korreleerus positiivselt Shannon ( $\rho = 0,35$ ,  $p < 0,05$ ) ja InvSimpsoni indeksitega ( $\rho = 0,41$ ,  $p < 0,05$ ), ning orgaanilise süsiniku sisaldus oli samuti positiivselt seotud mitmekesisusega.

Mantel test kinnitas tugevat seost kõrguse ja koosluste sarnasuse vahel ( $r = 0,37$ ,  $p = 0,001$ , 999 permutatsiooniga). Kauguste lagunemise analüüs näitas, et Bray-Curtisi erisused suurenevad lineaarselt kõrguste vahe kasvades ( $R^2 = 0,24$ ,  $p < 0,001$ ), toetades hüpoteesi järkjärgulistest muutustest seenekoosluses kõrgusgradiendil ja kinnitades ruumilise autokorrelatsiooni olemasolu seenekoosluste jaotuses.

## 2.4 Arutelu

Käesoleva uuringu tulemused annavad ülevaate seenekooslusi mõjutvatest tegurites Helani mäestiku kõrgusgradiendil, tuues esile nii ootuspäraseid kui ka üllatavaid mustreid. Peamised leiud kinnitavad, et nii taksonoomiline koostis kui ka elurikkus muutuvad süstemaatiliselt kõrguse kasvades.

Kõige tähelepanuväärsem ja mõnevõrra üllatavam leid on seente elurikkuse monotoonne suurenemine kõrgusega. See tulemus erineb oluliselt kirjanduses kõige sagedamini täheldatavast mustrist, kus enamik uuringuid dokumenteerib kas mitmekesisuse vähenemist kõrgusega, U-kujulisi mustreid või maksimaalset mitmekesisust vahepealsetel kõrgustel. Helani mäestiku tulemused on pigem kooskõlas harvamate leidudega, nagu Shigyo ja Hirao (2021) uuringuga jaheda parasvöötme mägimetsades või Ni *et al.* (2018) tööga Alpi tundra ökosüsteemides.

Täheldatud monotoonne kasv võib tuleneda mitmetest Helani mäestiku spetsiifilistest omadustest. Esiteks, uuritud kõrgusvahemik 1124-2422 meetrit ei ulatu äärmuslikesse alpinkõrgustesse, kus keskkonnatingimused muutuvad liiga ekstreemseks enamike organismide jaoks. Kõrgematel kõrgustel aeglasem orgaanilise aine lagunemine ning suurem süsiniku akumulatsioon mullas pakub rohkem elupaiku erinevatele funktsionaalsetele rühmadele. Lisaks suurendab kõrgemate kõrguste mikrokliimaatiline mitmekesisus ning keskkonna heterogeensus spetsialiseerunud taksonite kooseksisteerimise võimalusi.

Taksonoomilise koostise muutused kõrgusgradiendil kinnitavad tugevalt varasemaid leidusid hõimkondade tasandil. *Basidiomycota* ja *Ascomycota* vastastikune seos, kus esimene domineerib madalamatel kõrgustel ning viimase osakaal suureneb kõrgusega, järgib mustreid, mida on täheldatud Siles ja Margesin (2016) Euroopa Alpide uuringus ning Guo *et al.* (2020) oma töös erinevates Hiina mäestikes. *Basidiomycota*, eriti *Agaricomycetes*, sisaldab palju ektomükoriisseid seeni, mis on tugevalt seotud puittaimedega ning näivad eelistavat stabiilsemaid tingimusi. *Ascomycota* hõimkond aga sisaldab rohkem stressitaluvaid taksoneid, mis on paremini kohandunud kuivemate keskkonnatingimustega ning suudavad efektiivsemalt kasutada mitmekesisemaid süsinikuallikaid.

Klassi- ja seltsitasemel täheldatud muutused pakuvad täiendavat teavet ökoloogiliste strateegiate muutumise kohta kõrgusgradiendil. *Agaricomycetes* vähenemine ning *Leotiomycetes* suurenemine kõrgusega peegeldab üleminekut soojust eelistavate taksonitelt külmakindlamatele rühmadele.

Funktsionaalne analüüs näitas EM seente bimodaalset jaotust, kus nende arvukus oli suurem nii madalatel kui ka suuritel kõrgustel. See muster erineb paljudest teistest uuringutest, kus EM seened tavaliselt vähenevad järjepidevalt kõrguse kasvades (Kazenel et al., 2019). Bimodaalne levik võib olla seletatav erinevate peremeestaimede levikuga. Madalamatel kõrgustel domineerivad laialehised puud, samas kui kõrgematel aladel muutuvad domineerivaks okaspuud. Mõlemad puude rühmad sõltuvad tugevalt ektomükoriisest seensümbiontiidest, kuid keskmistel kõrgustel, kus domineerivad põõsastikud ja karjamaad, on nende seente osakaal väiksem.

Saprotroofide suhteliselt stabiilne esinemine kogu kõrgusgradiendil kinnitab nende fundamentaalset rolli orgaanilise aine ringluses, sõltumata spetsiifilistest keskkonnatingimustest.

Keskkonnategurite mõju analüüs paljastab keerukate interaktsioonide võrgustiku, mis kujundab seenekooslusi. pH osutus üheks olulisemaks teguriks, mida kinnitas 92 indikaatorliigi tuvastamine erinevates pH-kategooriates. Kuigi seened on pH muutuste suhtes üldiselt vähem tundlikud kui bakterid (Rousk et al., 2010b), on see parameeter siiski oluline taksonoomilise koostise ja funktsionaalse jaotuse hindamiseks.

Lämmastikusisalduse tugev positiivne korrelatsioon mitmekesisusega ja 85 indikaatorliigi olemasolu kinnitavad selle toitaine olulist rolli seenekoosluste kujundamisel. Suur hulk indikaatorliike, mis kirjeldavad lämmastikurikkaid keskkondi, viitab sellele, et lämmastikurikkad tingimused toetavad järjepidevalt spetsialiseerunud taksonite kooslusi. See leid on kooskõlas Treseder (2008) rõhutatud lämmastiku olulisusega seente funktsioneerimises ning Johnson *et al.* (2010) leidudega toitainete mõjust mükoriisete suhete kujundamisele.

Orgaanilise süsiniku rolli olulisust toetavad 47 indikaatorliiki ja tugev korrelatsioon kõrgusega. Seened kui heterotroofsed organismid sõltuvad otseselt orgaanilise aine hulgast ja kvaliteedist. Suur hulk indikaatorliike, mis näitavad kõrge orgaanilise süsiniku sisalduse tingimusi, viitab sellele, et süsinikurikas keskkond toetab spetsialiseerunud lagundajate kooslusi, mis on võimelised keerukamaid orgaanilisi ühendeid kasutama.

Taimkatte tüübi tugev mõju seenekooslustele, mis selgitab 36,6% varieeruvusest, kinnitab positiivse korrelatsiooni esinemist taimeliikide rikkuse ja seente liigirikkuse vahel globaalselt

(Tedersoo et al., 2014) ning Eestis tehtud uuringut peremees-puuliikide olulisusest (Tedersoo et al. 2024). Okaspuude ja laialehiste metsade suurem seente mitmekesisus peegeldab nende ökosüsteemide struktuurilist keerukust ja mitmekesisemaid ökoloogilisi nišše.

Koosluseanalüüs näitab selget ruumilist autokorrelatsiooni, kus sarnasemad kõrgused omavad sarnasemaid seenekooslusi. PERMANOVA tulemused kinnitavad statistiliselt olulist seost kõrguse ning seenekoosluste diferentsieerumise vahel. Järgjärguline üleminek seenekoosluste koosseisus kõrgusgradiendil toetab Körneri teooriat keskkonnafaktorite süstemaatilise muutumisest kõrgusega (Körner 2007).

Indikaatorliikide analüüs näitab spetsialiseerunud ja täpselt määratletud ökoloogilisi nišše erinevatel kõrgustel. Kõrgmäestiku kategooria 14 indikaatorliiki, sealhulgas väga tugeva spetsiifilisusega taksonid, näitavad, et äärmuslikud kõrgused toetavad tõeliselt ainulaadseid kooslusi.

Uuringu tulemuste laiemad tagajärjed kliimamuutuste kontekstis tekitavad nii lootust kui ka muret. Mitmekesisuse monotoonne suurenemine kõrgusega viitab sellele, et madalamatel kõrgustel esinevad seenekooslused võivad teoreetiliselt liikuda kõrgemale, kui kliima soojeneb. See võib aga kaasa tuua olulisi muutusi kogu ökosüsteemi dünaamikas, sealhulgas vähenenud mitmekesisust madalamatel kõrgustel, kus kliima soojenedes muutub üha teravamaks veepuudus.

Taimestiku tugev mõju seenekooslustele rõhutab metsanduse ja strateegilise maakasutuse planeerimise olulisust seente mitmekesisuse säilitamisel. Okaspuude ja laialehiste metsade kaitsmine suurtel kõrgustel on EMseente mitmekesisuse säilitamiseks ülioluline. Taimestiku ja keskkonnategurite vastastikmõju näitab vajadust integreeritud lähenemisviisi järele ökosüsteemi majandamisel.

Siiski on uuringul mitmeid piiranguid, mida tuleks tulemuste tõlgendamisel arvesse võtta. Ühe hooaja jooksul proovide võtmine ei võimalda hinnata seenekoosluse koosseisu potentsiaalseid hooajalisi muutusi ega aastate vahelist varieeruvust. Kuigi 20 proovivõtukohta pakuvad piisavat statistilist võimsust põhimustrite tuvastamiseks, ei võimalda need haruldasemate taksonoomiliste rühmade detailsemat analüüsi ega täpsemat taimkattetüüpide analüüsi. ITS-markeritel põhinev metatriipkoodimine, kuigi standardmeetod, omab teatud seenerühmade tuvastamisel mõningaid piiranguid.

Edasised uuringud võiksid arendada mitmes põhisuunas. Sesoonsed ja pikaajalised uuringud aitavad mõista seenekoosluste ajalist dünaamikat ja nende reaktsiooni kliimamuutustele. Keskkonnategurite detailsem jälgimine, sh mikrokliimaatiliste parameetrite pidev jälgimine,

võiks anda täpsemat teavet keskkonna tekkemehhanismide kohta. Funktsionaalsed uuringud, näiteks ensüümiaktiivsuse mõõtmine ja transkriptoomika analüüsid, võimaldaksid täpsemalt hinnata seente tegelikku ökoloogilist rolli erinevatel kõrgustel. Teiste mäestike võrdlevad uuringud aitaksid mõista, kas Helani mäeahelike mustrid on universaalsed või piirkonnaspetsiifilised.

Kokkuvõttes näitab see uuring, et Helani mägede seenekooslused järgivad kõrgusgradiendi ulatuses selgeid ja mõnevõrra ootamatuid mustreid. Kõrguse ja taimestiku tüübi otsustav roll koosluste kujunemisel peegeldab keeruliste ökoloogiliste protsesside tegevust, mis kujundavad mägiökosüsteemides mikroobikooslusi. Need tulemused annavad olulise panuse nii fundamentaalsesse ökoloogiasse kui ka praktilisse looduskaitse muutuvas kliimas, rõhutades vajadust integreeritud lähenemisviisi järele ökosüsteemide uurimisel ja kaitsmisel.

## KOKKUVÕTE

Seened täidavad mägiökosüsteemides olulisi funktsioone, kuid siiani on nende levikut ja mitmekesisust kõrgusgradientidel vähe kirjeldatud. Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgid on kirjeldada ja analüüsida Helani mäestiku 20 proovivõtukohest kogutud mullaproovide seenekoosluste struktuuri ning mitmekesisust kõrgusgradiendil. Selleks teostati statistilised analüüsid, mille käigus hinnati seente elurikkust kõikides kõrguskategooriate, võrreldi taksonoomilise koostise muutumist kõrgusega, analüüsiti beeta-mitmekesisuse mustreid ning hinnati keskkonnafaktorite mõju seenekoosluste kujunemisele. Lisaks tuvastati indikaatorliike erinevatele kõrgustele ning analüüsiti funktsionaalsete rühmade jaotust.

Töö laboratoorne osa hõlmas DNA eraldamist mullaproovidest MagAttract PowerSoil Pro DNA Kit (Qiagen, USA) komplektiga. DNA eraldusele järgnes rDNA ITS regiooni amplifitseerimine PCR meetodiga ning sekveneerimine PacBio instrumendil. Bioinformaatiliste analüüside tulemusena tuvastati kokku 24 erinevat seenehõimkonda, 99 klassi, 167 seltsi, 355 sugukonda ja 773 perekonda. Suurima osakaaluga olid hõimkonnad *Ascomycota* ja *Basidiomycota*, mis moodustasid kokku üle 85% kooslusest. Liigirikkaimaks seltsiks osutus *Pleosporales*, mida järgnesid *Chaetothyriales* ja *Agaricales*. Domineerivad perekonnad olid *Knufia*, *Tomentella* ja *Phaeomyocentrospora*. Funktsionaalsest analüüsist selgus, et ektomükoriisaseened, saprotroofid ja endofüüdid olid peamised gildid kogu kõrgusgradiendil.

Kõrgeim seente mitmekesisus tuvastati kõrgematel aladel, kusjuures Shannon indeksi väärtused varieerusid 2,7st madalamal kõrgusel kuni 4,5ni kõrgematel aladel. Märkimisväärne oli monotoonne mitmekesisuse kasv kõrgusega, mis erineb paljudest varasematest mägiökosüsteemide uuringutest. Kõrguskategooriate vahel olid erinevused liigirikkuses ja kooslustes statistiliselt olulised, kusjuures madal kõrguskategooria erines kõigist teistest kategooriatest. Taksonoomilise koosseisu muutused näitasid selget mustrit: *Basidiomycota* domineeris madalamatel aladel, samas kui *Ascomycota* osakaal suurenes kõrguse kasvades.

Keskkonnafaktorite analüüs näitas, et kõrgus üle merepinna, pH, orgaaniline süsinik ja lämmastikusisaldus olid kõige tugevamalt seotud seente mitmekesisusega. PERMANOVA analüüs kinnitas, et kõrgus seletas 14,2% seenekoosluste varieeruvusest, taimestiku tüüp 36,6% ning nende ühine mõju koos teiste keskkonnafaktoritega kokku 76,1%. Indikaatorliikide analüüs tuvastas 49 statistiliselt olulist indikaator-OTUt, kusjuures kõige rohkem indikaatorliike oli seotud keskmiselt kõrge kõrguskategooriaga (28 liiki) ning pH ning lämmastikusisalduse erinevate tasemetega. Tulemused näitavad, et Helani mäestiku

seenekooslused järgivad selgeid mustreid kõrgusgradiendil, kus nii kõrgus kui ka taimestiku tüüp mängivad kriitilisi rolle koosluste kujundamisel.

## SUMMARY

### **Fungal diversity along an elevation gradient: Mycobiota of Helan Mountain**

Fungi play crucial roles in mountain ecosystems, yet their diversity and ecological functions along elevation gradients remain poorly understood compared to studies in lowland areas. This bachelor's thesis aimed to describe and analyze the structure and diversity of soil fungal communities along an elevation gradient in the Helan Mountain range, China, using 20 soil samples collected from sites ranging from 1,124 to 2,422 meters above sea level.

The study employed molecular methods including DNA extraction using MagAttract PowerSoil Pro DNA Kit, PCR amplification of the ITS region, and PacBio sequencing. Bioinformatics analysis using the NextITS pipeline identified 5,997 fungal OTUs belonging to 24 phyla, 99 classes, 167 orders, 355 families, and 773 genera. The dominant phyla were Ascomycota and Basidiomycota, comprising over 85% of the community, with their relative abundance showing clear elevation-dependent patterns.

The most significant finding was a monotonic increase in fungal diversity with elevation, which differs from many previous mountain ecosystem studies that typically show either decreasing diversity with elevation, U-shaped patterns, or maximum diversity at intermediate elevations. Shannon diversity index values ranged from 2.7 at low elevations to 4.5 at higher elevations, with elevation explaining 18.6% of diversity variation through linear modeling.

Taxonomic composition showed systematic changes along the elevation gradient. Basidiomycota dominated at lower elevations (approximately 80% of OTUs at 1,124 m), while Ascomycota increased with elevation, reaching 60-65% at the highest sites. At the class level, Agaricomycetes decreased with elevation while Leotiomycetes increased, reflecting a shift from warm-preferring to cold-adapted taxa.

Functional analysis revealed that ectomycorrhizal (EM) fungi, saprotrophs, and endophytes were the primary guilds across the elevation gradient. EM fungi showed a bimodal distribution with higher abundance at both low and high elevations, corresponding to the distribution of their host trees. Environmental factor analysis demonstrated that elevation, pH, organic carbon, and nitrogen content were most strongly correlated with fungal diversity.

PERMANOVA analysis confirmed that elevation significantly influenced fungal community composition, explaining 14.2% of community variation, while vegetation type explained 36.6%. The combined effect of elevation, vegetation type, and other environmental factors explained 76.1% of total community variation. Indicator species analysis identified 49

statistically significant indicator OTUs, with pH and nitrogen content showing the highest numbers of associated indicator species.

This study's broader implications for climate change research are both promising and concerning. The monotonic increase in diversity with elevation suggests that fungal communities from lower elevations could theoretically migrate upward as climate warms. However, this may lead to significant changes in ecosystem dynamics, including reduced diversity at lower elevations where water stress may become more severe with warming.

The strong influence of vegetation type on fungal communities emphasizes the importance of forest conservation and strategic land use planning for maintaining fungal diversity. Protection of forests at high elevations is crucial for preserving EM fungal diversity.

This research contributes important knowledge to ecological understanding of fungal patterns along elevation gradients and provides essential information for assessing potential climate change impacts on mountain ecosystems. The results establish a foundation for future studies that may focus on more detailed questions about fungal ecophysiology, ecosystem functions, and species interactions in mountain environments.

## KIRJANDUSE LOETELU

- Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Zarre, S., & Tedersoo, L. (2012). Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. *New Phytologist*, *193*(2), 465–473. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03927.x>
- Barbi, F., Martinović, T., Odriozola, I., Machac, A., Moravcová, A., Algora, C., Ballian, D., Barthold, S., Brabcová, V., Awokunle Hollá, S., Human, Z., Kraigher, H., Lazarević, J., Lepinay, C., Mészárošová, L., Kumazawa Morais, D., Nikolov, N., Thoen, E., Tláskal, V., ... Kohout, P. (s.a.). Disentangling drivers behind fungal diversity gradients along altitude and latitude. *New Phytologist*, *n/a*(*n/a*). <https://doi.org/10.1111/nph.70012>
- Barry, R. G. (2008). *Mountain weather and climate* (3e éd). Cambridge university press.
- Becker, A., & Bugmann, H. (2001). (PDF) *Global Change and Mountain Regions*. [https://www.researchgate.net/publication/241288109\\_Global\\_Change\\_and\\_Mountain\\_Regions](https://www.researchgate.net/publication/241288109_Global_Change_and_Mountain_Regions)
- 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., ... 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*(10), 914–919. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12073>
- Blois, J. L., Williams, J. W., Fitzpatrick, M. C., Jackson, S. T., & Ferrier, S. (2013). Space can substitute for time in predicting climate-change effects on biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(23), 9374–9379. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220228110>

- Boer, W. de, Folman, L. B., Summerbell, R. C., & Boddy, L. (2005). Living in a fungal world: Impact of fungi on soil bacterial niche development\*. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 795–811. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.11.005>
- Bradford, M. A., Wieder, W. R., Bonan, G. B., Fierer, N., Raymond, P. A., & Crowther, T. W. (2016). Managing uncertainty in soil carbon feedbacks to climate change. *Nature Climate Change*, 6(8), 751–758. <https://doi.org/10.1038/nclimate3071>
- Brundrett, M. C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1), 37–77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>
- Cáceres, M. D., & Legendre, P. (2009). Associations between species and groups of sites: Indices and statistical inference. *Ecology*, 90(12), 3566–3574. <https://doi.org/10.1890/08-1823.1>
- Cairney, J. W. G., & Meharg, A. A. (1999). Influences of anthropogenic pollution on mycorrhizal fungal communities. *Environmental Pollution*, 106(2), 169–182. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00081-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00081-0)
- Chape, S., Harrison, J., Spalding, M., & Lysenko, I. (2005). Measuring the extent and effectiveness of protected areas as an indicator for meeting global biodiversity targets. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360(1454), 443–455. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1592>
- Chen, L., Yu, Z., Zhao, M., Kerfahi, D., Li, N., Shi, L., Qi, X., Lee, C.-B., Dong, K., Lee, H.-I., & Lee, S.-S. (2024). Elevational Variation in and Environmental Determinants of Fungal Diversity in Forest Ecosystems of Korean Peninsula. *Journal of Fungi*, 10(8), 556. <https://doi.org/10.3390/jof10080556>
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H. C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V. T., Godoy, O., Hobbie, S. E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., Queded, H.

- M., Santiago, L. S., Wardle, D. A., Wright, I. J., Aerts, R., Allison, S. D., Van Bodegom, P., Brovkin, V., Chatain, A., ... Westoby, M. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters*, *11*(10), 1065–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01219.x>
- Crimmins, S. M., Dobrowski, S. Z., Greenberg, J. A., Abatzoglou, J. T., & Mynsberge, A. R. (2011). Changes in Climatic Water Balance Drive Downhill Shifts in Plant Species' Optimum Elevations. *Science*, *331*(6015), 324–327. <https://doi.org/10.1126/science.1199040>
- Crowther, T. W., Maynard, D. S., Crowther, T. R., Peccia, J., Smith, J. R., & Bradford, M. A. (2014). Untangling the fungal niche: The trait-based approach. *Frontiers in Microbiology*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00579>
- Dean, S. L., Farrer, E. C., Taylor, D. L., Porrás-Alfaro, A., Suding, K. N., & Sinsabaugh, R. L. (2014). Nitrogen deposition alters plant–fungal relationships: Linking belowground dynamics to aboveground vegetation change. *Molecular Ecology*, *23*(6), 1364–1378. <https://doi.org/10.1111/mec.12541>
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A. M., Brewer, T. E., Benavent-González, A., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., Maestre, F. T., Singh, B. K., & Fierer, N. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, *359*(6373), 320–325. <https://doi.org/10.1126/science.aap9516>
- Di Tommaso, P., Chatzou, M., Floden, E. W., Barja, P. P., Palumbo, E., & Notredame, C. (2017). Nextflow enables reproducible computational workflows. *Nature Biotechnology*, *35*(4), 316–319. <https://doi.org/10.1038/nbt.3820>
- Edgar, R. C. (2016). *UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing*. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1101/081257>

- Egli, M., Dahms, D., & Norton, K. (2014). Soil formation rates on silicate parent material in alpine environments: Different approaches—different results? *Geoderma*, *213*, 320–333. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.08.016>
- Fernandez, C. W., & Kennedy, P. G. (2016). Revisiting the ‘Gadgil effect’: Do interguild fungal interactions control carbon cycling in forest soils? *New Phytologist*, *209*(4), 1382–1394. <https://doi.org/10.1111/nph.13648>
- Fisher, J. B., Malhi, Y., Torres, I. C., Metcalfe, D. B., van de Weg, M. J., Meir, P., Silva-Espejo, J. E., & Huasco, W. H. (2013). Nutrient limitation in rainforests and cloud forests along a 3,000-m elevation gradient in the Peruvian Andes. *Oecologia*, *172*(3), 889–902. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2522-6>
- Frøslev, T. G., Kjølner, R., Bruun, H. H., Ejrnæs, R., Brunbjerg, A. K., Pietroni, C., & Hansen, A. J. (2017). Algorithm for post-clustering curation of DNA amplicon data yields reliable biodiversity estimates. *Nature Communications*, *8*(1), 1188. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01312-x>
- Gadgil, R. L., & Gadgil, P. D. (1971). Mycorrhiza and Litter Decomposition. *Nature*, *233*(5315), 133–133. <https://doi.org/10.1038/233133a0>
- Geml, J., Pastor, N., Fernandez, L., Pacheco, S., Semenova, T. A., Becerra, A. G., Wicaksono, C. Y., & Nouhra, E. R. (2014). Large-scale fungal diversity assessment in the Andean Yungas forests reveals strong community turnover among forest types along an altitudinal gradient. *Molecular Ecology*, *23*(10), 2452–2472. <https://doi.org/10.1111/mec.12765>
- Girardin, C. a. J., Malhi, Y., Aragão, L. E. O. C., Mamani, M., Huaraca Huasco, W., Durand, L., Feeley, K. J., Rapp, J., Silva-Espejo, J. E., Silman, M., Salinas, N., & Whittaker, R. J. (2010). Net primary productivity allocation and cycling of carbon along a tropical forest elevational transect in the Peruvian Andes. *Global Change Biology*, *16*(12), 3176–3192. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02235.x>

- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J., & Stoffel, M. (2014). 21st century climate change in the European Alps—A review. *Science of The Total Environment*, *493*, 1138–1151. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.050>
- Gomez-Hernandez, M., Williams-Linera, G., Guevara, R., & Lodge, D. J. (2012). Patterns of macromycete community assemblage along an elevation gradient: Options for fungal gradient and metacommunity analyse. *BIODIVERSITY AND CONSERVATION*, *21*(9), 2247–2268. <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0180-3>
- Guo, Y., Ren, C., Yi, J., Doughty, R., & Zhao, F. (2020). Contrasting Responses of Rhizosphere Bacteria, Fungi and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Along an Elevational Gradient in a Temperate Montane Forest of China. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02042>
- Hawkes, C. V., Kivlin, S. N., Rocca, J. D., Huguet, V., Thomsen, M. A., & Suttle, K. B. (2011). Fungal community responses to precipitation. *Global Change Biology*, *17*(4), 1637–1645. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02327.x>
- He, L., Sun, X., Li, S., Zhou, W., Yu, J., Zhao, G., Chen, Z., Bai, X., & Zhang, J. (2024). Depth effects on bacterial community altitudinal patterns and assembly processes in the warm-temperate montane forests of China. *Science of The Total Environment*, *914*, 169905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.169905>
- Jarvis, S. G., Woodward, S., & Taylor, A. F. S. (2015). Strong altitudinal partitioning in the distributions of ectomycorrhizal fungi along a short (300 m) elevation gradient. *NEW PHYTOLOGIST*, *206*(3), 1145–1155. <https://doi.org/10.1111/nph.13315>
- Johnson, N. C., Wilson, G. W. T., Bowker, M. A., Wilson, J. A., & Miller, R. M. (2010). Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(5), 2093–2098. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906710107>

- Karhu, K., Fritze, H., Tuomi, M., Vanhala, P., Spetz, P., Kitunen, V., & Liski, J. (2010). Temperature sensitivity of organic matter decomposition in two boreal forest soil profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(1), 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.002>
- Kazenel, M. R., Kivlin, S. N., Taylor, D. L., Lynn, J. S., & Rudgers, J. A. (2019). Altitudinal gradients fail to predict fungal symbiont responses to warming. *Ecology*, 100(8), e02740. <https://doi.org/10.1002/ecy.2740>
- Kivlin, S. N., Lynn, J. S., Kazenel, M. R., Beals, K. K., & Rudgers, J. A. (2017). Biogeography of plant-associated fungal symbionts in mountain ecosystems: A meta-analysis. *Diversity and Distributions*, 23(9), 1067–1077. <https://doi.org/10.1111/ddi.12595>
- Kurtzer, G. M., Sochat, V., & Bauer, M. W. (2017). Singularity: Scientific containers for mobility of compute. *PLOS ONE*, 12(5), e0177459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177459>
- Körner, C. (2007). The use of ‘altitude’ in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(11), 569–574. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.006>
- Körner, C., Paulsen, J., & Spehn, E. M. (2011). A definition of mountains and their bioclimatic belts for global comparisons of biodiversity data. *Alpine Botany*, 121(2), 73–78. <https://doi.org/10.1007/s00035-011-0094-4>
- Körner, Ch., Paulsen, J., & Pelaez-Riedl, S. (2003). A Bioclimatic Characterisation of Europe’s Alpine Areas. L. Nagy, G. Grabherr, C. Körner, & D. B. A. Thompson (Toim), *Alpine Biodiversity in Europe* (13–28). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-18967-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-18967-8_2)
- Li, J., Chen, L., Wang, H., Ouyang, S., Liu, X., & Lu, J. (2022). Pattern and drivers of soil fungal community along elevation gradient in the *Abies georgei* forests of Segila mountains, Southeast Tibet. *Global Ecology and Conservation*, 39, e02291. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02291>

- Lilleskov, E. A., Hobbie, E. A., & Horton, T. R. (2011). Conservation of ectomycorrhizal fungi: Exploring the linkages between functional and taxonomic responses to anthropogenic N deposition. *Fungal Ecology*, 4(2), 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.09.008>
- Lomolino, Mark. V. (2001). Elevation gradients of species-density: Historical and prospective views. *Global Ecology and Biogeography*, 10(1), 3–13. <https://doi.org/10.1046/j.1466-822x.2001.00229.x>
- Looby, C. I., & Martin, P. H. (2020). Diversity and function of soil microbes on montane gradients: The state of knowledge in a changing world. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(9), fiaa122. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa122>
- Manzoni, S., Schaeffer, S. M., Katul, G., Porporato, A., & Schimel, J. P. (2014). A theoretical analysis of microbial eco-physiological and diffusion limitations to carbon cycling in drying soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 73, 69–83. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.02.008>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>
- McCain, C. M., & Grytnes, J.-A. (2010). Elevational Gradients in Species Richness. *eLS*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022548>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS One*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Mikryukov, V., Anslan, S., & Tedersoo, L. (2022). *NextITS: a pipeline for metabarcoding fungi and other eukaryotes with full-length ITS sequenced with PacBio*. [Software]. <https://github.com/vmikk/NextITS>
- Nagy, L., Grabherr, G., Körner, C., & Thompson, D. B. A. (Toim). (2003). *Alpine Biodiversity in Europe* (Kd 167). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-18967-8>

- Ni, Y., Yang, T., Zhang, K., Shen, C., & Chu, H. (2018). Fungal Communities Along a Small-Scale Elevational Gradient in an Alpine Tundra Are Determined by Soil Carbon Nitrogen Ratios. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01815>
- Nilsson, R. H., Anslan, S., Bahram, M., Wurzbacher, C., Baldrian, P., & Tedersoo, L. (2019). Mycobiome diversity: High-throughput sequencing and identification of fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 17(2), 95–109. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0116-y>
- Niskanen, T., Lücking, R., Dahlberg, A., Gaya, E., Suz, L. M., Mikryukov, V., Liimatainen, K., Druzhinina, I., Westrip, J. R. S., Mueller, G. M., Martins-Cunha, K., Kirk, P., Tedersoo, L., & Antonelli, A. (2023). Pushing the Frontiers of Biodiversity Research: Unveiling the Global Diversity, Distribution, and Conservation of Fungi. *Annual Review of Environment and Resources*, 48(1), 149–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-112621-090937>
- PacificBiosciences/barcoding*. (2025). [R]. PacBio. <https://github.com/PacificBiosciences/barcoding> (Original work published 2017)
- Pepin, N., Bradley, R. S., Diaz, H. F., Baraer, M., Caceres, E. B., Forsythe, N., Fowler, H., Greenwood, G., Hashmi, M. Z., Liu, X. D., Miller, J. R., Ning, L., Ohmura, A., Palazzi, E., Rangwala, I., Schöner, W., Severskiy, I., Shahgedanova, M., Wang, M. B., ... Mountain Research Initiative EDW Working Group. (2015). Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. *Nature Climate Change*, 5(5), 424–430. <https://doi.org/10.1038/nclimate2563>
- Pickett, S. T. A. (1989). Space-for-Time Substitution as an Alternative to Long-Term Studies. G. E. Likens (Toim), *Long-Term Studies in Ecology: Approaches and Alternatives* (1k 110–135). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7358-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7358-6_5)
- Reyes, W. M., Epstein, H. E., Li, X., McGlynn, B. L., Riveros-Iregui, D. A., & Emanuel, R. E. (2017). Complex terrain influences ecosystem carbon responses to temperature and

- precipitation. *Global Biogeochemical Cycles*, 31(8), 1306–1317.  
<https://doi.org/10.1002/2017GB005658>
- 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>
- Rolland, C. (2003). *Spatial and Seasonal Variations of Air Temperature Lapse Rates in Alpine Regions*. [https://journals.ametsoc.org/view/journals/clim/16/7/1520-0442\\_2003\\_016\\_1032\\_sasvoa\\_2.0.co\\_2.xml](https://journals.ametsoc.org/view/journals/clim/16/7/1520-0442_2003_016_1032_sasvoa_2.0.co_2.xml)
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P. C., Lauber, C. L., Lozupone, C., Caporaso, J. G., Knight, R., & Fierer, N. (2010a). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal*, 4(10), 1340–1351.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P. C., Lauber, C. L., Lozupone, C., Caporaso, J. G., Knight, R., & Fierer, N. (2010b). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal*, 4(10), 1340–1351.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>
- Saitta, A., Anslan, S., Bahram, M., Brocca, L., & Tedersoo, L. (2018). Tree species identity and diversity drive fungal richness and community composition along an elevational gradient in a Mediterranean ecosystem. *Mycorrhiza*, 28(1), 39–47.  
<https://doi.org/10.1007/s00572-017-0806-8>
- Schimel, J., Balsler, T. C., & Wallenstein, M. (2007). Microbial Stress-Response Physiology and Its Implications for Ecosystem Function. *Ecology*, 88(6), 1386–1394.  
<https://doi.org/10.1890/06-0219>
- Schneider, T., Keiblinger, K. M., Schmid, E., Sterflinger-Gleixner, K., Ellersdorfer, G., Roschitzki, B., Richter, A., Eberl, L., Zechmeister-Boltenstern, S., & Riedel, K. (2012). Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players

- and their biogeochemical functions. *The ISME Journal*, 6(9), 1749–1762.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2012.11>
- Schuur, E. A. G., Chadwick, O. A., & Matson, P. A. (2001). Carbon Cycling and Soil Carbon Storage in Mesic to Wet Hawaiian Montane Forests. *Ecology*, 82(11), 3182–3196.  
[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[3182:CCASCS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[3182:CCASCS]2.0.CO;2)
- Shigyo, N., & Hirao, T. (2021). Saprotrophic and ectomycorrhizal fungi exhibit contrasting richness patterns along elevational gradients in cool-temperate montane forests. *Fungal Ecology*, 50, 101036. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.101036>
- Siles, J. A., & Margesin, R. (2016). Abundance and Diversity of Bacterial, Archaeal, and Fungal Communities Along an Altitudinal Gradient in Alpine Forest Soils: What Are the Driving Factors? *Microbial Ecology*, 72(1), 207–220.  
<https://doi.org/10.1007/s00248-016-0748-2>
- Silver, W. L., Lugo, A. E., & Keller, M. (1999). Soil oxygen availability and biogeochemistry along rainfall and topographic gradients in upland wet tropical forest soils. *Biogeochemistry*, 44(3), 301–328. <https://doi.org/10.1007/BF00996995>
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Sundqvist, M. K., Sanders, N. J., & Wardle, D. A. (2013a). Community and Ecosystem Responses to Elevational Gradients: Processes, Mechanisms, and Insights for Global Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44(Volume 44, 2013), 261–280. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135750>
- Sundqvist, M. K., Sanders, N. J., & Wardle, D. A. (2013b). Community and Ecosystem Responses to Elevational Gradients: Processes, Mechanisms, and Insights for Global Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44(Volume 44, 2013), 261–280. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135750>
- Talbot, J. M., Bruns, T. D., Smith, D. P., Branco, S., Glassman, S. I., Erlandson, S., Vilgalys, R., & Peay, K. G. (2013). Independent roles of ectomycorrhizal and saprotrophic

- communities in soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, *57*, 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.004>
- Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Drenkhan, R., Pritsch, K., Buegger, F., Padari, A., Hagh-Doust, N., Mikryukov, V., Gohar, D., Amiri, R., Hiiesalu, I., Lutter, R., Rosenvald, R., Rähn, E., Adamson, K., Drenkhan, T., Tullus, H., Jürimaa, K., ... Abarenkov, K. (2020). Regional-Scale In-Depth Analysis of Soil Fungal Diversity Reveals Strong pH and Plant Species Effects in Northern Europe. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01953>
- Tedersoo, L., Bahram, M., Pöhlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., Ruiz, L. V., Vasco-Palacios, A. M., Thu, P. Q., Suija, A., Smith, M. E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., ... Abarenkov, K. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, *346*(6213), 1256688. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>
- Tedersoo, L., Hosseyni Moghaddam, M. S., Mikryukov, V., Hakimzadeh, A., Bahram, M., Nilsson, R. H., Yatsiuk, I., Geisen, S., Schwelm, A., Piwosz, K., Prous, M., Sildever, S., Chmolewska, D., Rueckert, S., Skaloud, P., Laas, P., Tines, M., Jung, J.-H., Choi, J. H., ... Anslan, S. (2024). EUKARYOME: The rRNA gene reference database for identification of all eukaryotes. *Database*, *2024*, baae043. <https://doi.org/10.1093/database/baae043>
- Treseder, K. K. (2008). Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, *11*(10), 1111–1120. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01230.x>
- Treseder, K. K., & Lennon, J. T. (2015). Fungal Traits That Drive Ecosystem Dynamics on Land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *79*(2), 243–262. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00001-15>

- Treseder, K. K., Maltz, M. R., Hawkins, B. A., Fierer, N., Stajich, J. E., & McGuire, K. L. (2014). Evolutionary histories of soil fungi are reflected in their large-scale biogeography. *Ecology Letters*, *17*(9), 1086–1093. <https://doi.org/10.1111/ele.12311>
- Vitousek, P. M., Porder, S., Houlton, B. Z., & Chadwick, O. A. (2010). Terrestrial phosphorus limitation: Mechanisms, implications, and nitrogen–phosphorus interactions. *Ecological Applications*, *20*(1), 5–15. <https://doi.org/10.1890/08-0127.1>
- Wang, J.-T., Zheng, Y.-M., Hu, H.-W., Zhang, L.-M., Li, J., & He, J.-Z. (2015). Soil pH determines the alpha diversity but not beta diversity of soil fungal community along altitude in a typical Tibetan forest ecosystem. *Journal of Soils and Sediments*, *15*(5), 1224–1232. <https://doi.org/10.1007/s11368-015-1070-1>
- Wickham, H. (2016). *Ggplot2*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., Vaughan, D., Software, P., & PBC. (2023). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation* (Version 1.1.4) [Software]. <https://cran.r-project.org/web/packages/dplyr/index.html>
- Yang, N., Li, X., Liu, D., Zhang, Y., Chen, Y., Wang, B., Hua, J., Zhang, J., Peng, S., Ge, Z., Li, J., Ruan, H., & Mao, L. (2022). Diversity patterns and drivers of soil bacterial and fungal communities along elevational gradients in the Southern Himalayas, China. *Applied Soil Ecology*, *178*, 104563. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104563>

## KASUTATUD VEEBIADRESSID

BLAST® koduleht: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Last visited 12.04.2025)

EUKARYOME andmebasi koduleht: <https://eukaryome.org/> (Las visited 29.04.2025)

FAVORGEN BIOTECH CORP kodulehekül: <https://www.favorgen.com/en> ( Last visited 22.05.2025)

NextITS pipline <https://next-its.github.io/>

Posit team. (2025) RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. <https://posit.co/> (Last visited 10.04.2025)

QIAGEN koduleht: <https://www.qiagen.com/us> ( Last visited 22.05.2025)

R Core Team. (2025). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/> (Last visited 24.05.2025)

Solis BioDyne koduleht: <https://solisbiodyne.com/EN/> (Last visited 22.05.2025)

## KASUTATUD TEHISINTELLEKT

Käesoleva uurimistöö käigus kasutati kahte AI-tööriista erinevate uurimisetappide toetamiseks. Kirjandusülevaade koostamisel kasutati ANARA platvormi (Anara, 2025) uurimisartiklite kiireks analüüsimiseks, võtmetulemuste tuvastamiseks ja allikate vaheliste seoste leidmiseks. ANARA võimaldas üles laadida mitmeid teadusartikleid ühte kogumisse ning esitada neile suunatud küsimusi, samal ajal säilitades täpse viitematerjaliga seotuse ja võimaldades allikate kinnitamist.

Andmeanalüüsi jaoks kasutati Claude'i (Sonnet 3.7, Anthropic, 2025) R-koodi struktureerimise ja vigade parandamise abistamiseks. AI-tööriista konsulteeriti koodi organiseerimise optimeerimiseks, süntaksivigade lahendamiseks ja andmetöötlusskriptide arvutusefektiivsuse parandamiseks.

Viited:

Anara. (2025) ANARA [AI-uurimisassistent] põhineb Gemini 2.0 Flash [Suur keelemudel] <https://anara.com>

Anthropic (2025). Claude (Sonnet 3.7); (Opus 3.0) [Suur keelemudel] <https://claude.ai>

# LISAD

## Lisa 1. Proovide nimekiri

Proovide ID	Laiuskraad	Pikkuskraad	Kõrgus (meetrid merepinnast)	Bioom (andmestiku nimed ingl k)
G6022	38,7597	105,9087	2322	forest: temperate coniferous forest biome
G6023	38,7576	105,9099	2186	forest: temperate coniferous forest biome
G6024	38,7558	105,9097	2104	forest: temperate coniferous forest biome
G6025	38,7397	105,9115	2301	forest: temperate coniferous forest biome
G6026	38,73502	105,91001	2347	forest: temperate coniferous forest biome
G6027	38,7426	105,9129	2185	forest: temperate coniferous forest biome
G6028	38,7195	105,9986	1410	shrubland: xeric shrubland biome
G6029	39,0208	106,0766	2422	shrubland: montane shrubland biome
G6030	39,0273	106,0734	2286	shrubland: montane shrubland biome
G6031	39,0137	106,0815	2342	forest: temperate coniferous forest biome
G6032	39,0102	106,0678	2331	forest: temperate coniferous forest biome
G6033	39,0444	106,0038	1978	woodland: temperate woodland biome
G6034	39,0213	106,1499	1712	woodland: temperate woodland biome
G6035	38,60175	105,9146	1958	forest: temperate broadleaf forest biome
G6036	38,60589	105,9221	1699	woodland: temperate woodland biome
G6037	38,60904	105,9292	1587	forest: temperate broadleaf forest biome
G6038	38,60419	105,9322	1558	shrubland: temperate shrubland biome
G6039	38,6067	105,9498	1345	shrubland: temperate shrubland biome
G6040	38,5234	106,0749	1124	forest: temperate broadleaf forest biome
G6041	37,2259	106,3109	1794	shrubland: montane shrubland biome

## Lisa 2. Mulla keemilised parameetrid

Proovi id	d15N	d13C	Orgaaniline C	N	C/N	pH	Fosfaat	K	Ca	Mg
G6022	0,24	-22,35	81,75	3,63	22,54	7,34	41,459039	216,8627	31894,758	1270,87901
G6023	1,02	-20,65	68,99	3,25	21,26	7,42	38,899804	213,7525	36737,917	1223,18271
G6024	0,96	-19,51	74,57	3,66	20,4	7,52	41,51768	263,8061	49845,848	1403,25785
G6025	0,01	-25,07	88,74	4,82	18,43	7,19	38,676236	362,0415	9637,7592	946,570973
G6026	0,08	-25,82	97,75	5,76	16,97	7,08	53,093812	385,2295	11776,048	1021,35729
G6027	-0,03	-23,36	68,09	3,66	18,61	7,31	38,37072	358,1267	22032,664	1125,14758
G6028	4,65	-14,22	20,64	1,12	18,42	7,72	46,594274	291,0168	40948,47	756,762093
G6029	3,32	-23,29	26,91	1,96	13,71	7,46	28,867211	173,4023	7461,8754	580,728648
G6030	3,61	-24,04	77,43	2,67	28,96	7,39	25,891257	248,3569	9538,7373	787,492531
G6031	1,37	-24,15	85,21	4,84	17,6	7,2	57,8594	428,1201	12901,461	1054,3049
G6032	0,26	-24,75	110,34	6,16	17,92	7,21	51,772202	454,7989	13150,936	1023,09837
G6033	2,51	-22,48	55,27	2,37	23,28	7,54	42,055148	341,4005	14760,167	753,025193
G6034	4,25	-17,91	71	1,77	40,01	7,64	45,776031	300	14131,631	738,70334
G6035	1,63	-24,12	32,44	2,84	11,44	7,43	32,270837	373,9853	6702,6331	537,913284
G6036	1,53	-24,4	61,59	5	12,31	7,34	46,764009	392,6598	9556,0379	831,491713
G6037	2,4	-24,73	40,84	3,06	13,35	7,52	44,740505	431,4973	9827,2022	582,024259
G6038	1,4	-24,85	49,94	4,09	12,2	7,48	34,793041	379,7241	7569,2861	645,670866
G6039	2,84	-20,77	19,44	1,72	11,29	7,55	43,54711	350,3563	8859,0657	736,539984
G6040	-2,35	-20,79	65,35	2,67	24,5	7,64	49,475559	462,8933	34176,925	3307,34217
G6041	2,57	-16,18	27,34	1,64	16,67	7,76	48,364718	325,8672	33979,782	1000,39643

### Lisa 3. Kasutatud praimerite järjestused

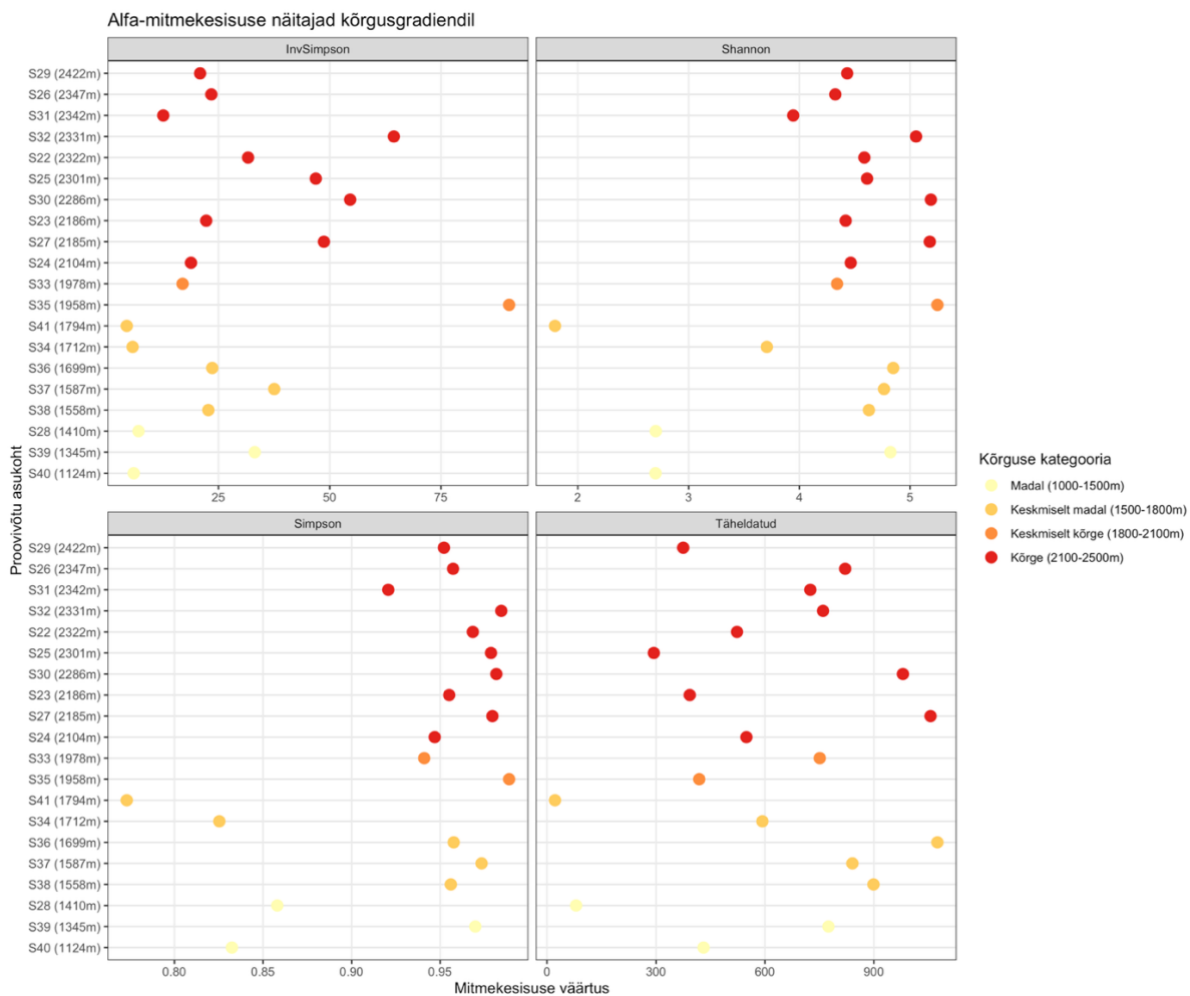
5' > 3' praimer	Järjestus	3' > 5' praimer	Järjestus
ITS9mun_2 22	ACCTACTTGTCTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni 222	ACCTACTTGTCTcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 23	ACCTATGGTGAAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 223	ACCTATGGTGAAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 24	ACCTCTATTTCGTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 224	ACCTCTATTTCGTcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 25	ACCTGATCCGCAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 225	ACCTGATCCGCAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 26	ACCTTACACCTTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 226	ACCTTACACCTTcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 27	ACCTTGACAAGAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni 227	ACCTTGACAAGAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 28	ACGACCTACGCTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 228	ACGACCTACGCTcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 29	ACGACTGCATAAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 229	ACGACTGCATAAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 30	ACGAGACTGATTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 230	ACGAGACTGATTcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 31	ACGAGGAGTCGAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 231	ACGAGGAGTCGAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 32	ACCTACTTGTCTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni 232	ACGATATGGTCAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 33	ACGATGGTTGATGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 233	ACGATGGTTGATcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 34	ACGCACATACAAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 234	ACGCACATACAAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 35	ACGCATCGCACTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 235	ACGCATCGCACTcgCCTSCSCTTANTD ATATGC

ITS9mun_2 36	ACGCGAACTAATGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 236	ACGCGAACTAATcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 37	ACGCTAGATTGAGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 237	ACGCTAGATTGAcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 38	ACGCTGTCGGTTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 238	ACGCTGTCGGTTcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 39	ACGGCGTTATGTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 239	ACGGCGTTATGTcgCCTSCSCTTANTDA TATGC
ITS9mun_2 40	ACGTAACCACGTGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 240	ACGTAACCACGTcgCCTSCSCTTANTD ATATGC
ITS9mun_2 41	ACGTATTCGAAGGTACACACCGCC CGTCG	ITS4ngsUni_ 241	ACGTATTCGAAGcgCCTSCSCTTANTD ATATGC

**Lisa 4.** Seente esimesed 15 kõige levinumad OTUd

OTU ID	Keskmine suhteline arvukus	Takson
dc4ff29a5202a68af71523ea8599ef2146d056f2	3.55793858280777	Phaeomycoentrospora sp.
271a5c537424a7fb87b3c9ea4ffa7a54a23cc044	2.96725822663733	Knufia sp.
b83ec0b3dc31234602e81906acfe66036fd12211	2.6585596359514	Lecanicillium album
fa7aa0385ecc4a13164e9370fc0eb3a5414a8703	2.42837769743206	Knufia sp.
59d52ce050b15e7697935b1b3bff130af1aedd21	1.86471889444695	Knufia peltigerae
b64fd9ffe56e6d9092c5abcc5df3183eb191eefb	1.77762886224508	Pseudosperma umbrinella
d9676418985f921824eae97b2991dcbc1700a46c	1.57241411261391	Agaricaceae fam.
f9f02e85f8d159328fca997d1b6bb0eee0b02af5	1.55033719965773	Knufia sp.
5b725d6bd43e5e571a0512751737b8510a1bb127	1.54919583245531	Fusarium tricinctum
05c5ff733d9c7e08617173de4a978f77489a7e74	1.45600073395556	Karstenula sp.
20cc5e0f71eab53b4693df2ece5cd8651a119b16	1.38976672605381	Malassezia globosa
25035b872e026a410593219ea75858f79fccff1a	1.31879635396793	Pyrenochaeta sp.
63b8efd7790975e5f2c32e3e7481b074ecacbff	1.30214851131036	Phaeoclavulina abietina
5a02973ec1f02a6e3410bda8e65368e18d543c31	1.10745020018366	Marasmius sp.
e61ec8218dbf6380a6f3e2021dd19fe4c62855dd	1.04034796510361	Leucoagaricus sp.

## Lisa 5. Elurikkuse näitajad proovide kaupa.



## Lihthitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Polina Počekutova ,

---

*(autori nimi)*

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

“Seente elurikkus kõrgusgradiendil: Helani mäestiku seenestik” ,

---

*(lõputöö pealkiri)*

mille juhendaja(d) on Leho Tedersoo ,

---

*(juhendaja nimi)*

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada Tartu Ülikooli digitaalarhiivi kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;

2. annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;
3. olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
4. kinnitan, et lihthitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Polina Počekutova

26.05.2025