

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
BOTAANIKA OSAKOND
MÜKOLOOGIA ÕPPETOOL

Seente mitmekesisus Eesti veekogude vees ja setetes

Magistritöö

30 EAP

Victoria Prins

Juhendaja molekulaarse ökoloogia teadur Kristel Panksep, PhD
Kaasjuhendaja mükoriisauuringute professor Leho Tedersoo, PhD

TARTU 2024

INFOLEHT

Seente mitmekesisus Eesti veekogude vees ja nende setetes

Kuigi veeseenend täidavad veekogudes olulisi funktsioone, on nende levikut ja ökoloogiat võrreldes maismaa seentega oluliselt vähem kirjeldatud. Käesolevas töös analüüsitakse 66 Eesti veekogu ja nende setete seenekoosluseid. Töös võrreldakse setete ja vee ning erinevate veekogutüüpide seente liigirikkust ja seenekoosluseid. Uuritud veekogudes olid enimesindatud hõimkonnad *Ascomycota*, *Rozellomycota* ja *Chytridiomycota*. Liigirikkaimateks seltsideks osutusid *Pleosporales*, *Helotiales* ja *Agaricales*. Setete kooslused erinesid vee kooslustest ja olid oluliselt liigirikkamad. Mere-, seisu- ja vooluveekogude vahelised erinevused liigirikkuses ja kooslustes tulid välja vaid setteproovide puhul. Setetes moodustasid suurima osakaaluga perekonnad *Malassezia*, vees aga perekond *Vishniacozyma*.

CERCS kood: B260 Hüdrobioloogia, mere-bioloogia, veeökoloogia, limnoloogia

Märksõnad: veeseenend, veekeskkond, veeökoloogia, mükoloogia

The diversity of fungi in Estonian water bodies and their sediments

Despite their ecological significance in aquatic habitats, aquatic fungi remain understudied compared to their terrestrial counterparts. This master's thesis investigates fungal communities of 66 Estonian water bodies and their associated sediments. The study includes detailed comparisons of fungal species richness across sediments, water columns, and different water body types. The most abundant fungal phyla were *Ascomycota*, *Rozellomycota*, and *Chytridiomycota*, while the most species-rich orders included *Pleosporales*, *Helotiales*, and *Agaricales*. Sediments exhibited greater species richness than the water column, and lentic, lotic, and marine water bodies only had differences in the sediment. Furthermore, fungal communities differed significantly between sediments and water columns and among the three water body type sediments. The most abundant genera included *Malassezia* in the sediments and *Vishniacozyma* in the water samples.

CERCS code: B260 Hydrobiology, marine biology, aquatic ecology, limnology

Keywords: aquatic fungi, aquatic habitats, aquatic ecology, mycology

SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID	6
SISSEJUHATUS	7
KIRJANDUSE ÜLEVAADE	9
1.1. Veeseente tutvustus	9
1.1.2 Veeseente ökoloogilised rollid	9
1.1.2.1 Parasiitsed ja patogeensed veeseened	9
1.1.2.2 Mutualistlikud sümbioosid veeseentega	11
1.1.2.3 Veeseente roll aineringes	13
1.2. Veeseente mitmekesisus	14
1.2.1 Veeseente mitmekesisust ja ökoloogiat mõjutavad tegurid	16
1.2.2 Veeseente levik mageveekogudes	18
1.2.2.1 Seisuveekogud	18
1.2.2.2 Vooluveekogud	19
1.2.3. Veeseente levik mereveekogudes	20
1.2.4 Veeseente levik setetes	22
EKSPERIMENTAALOSA	24
2.1 Töö eesmärgid	24
2.2 Materjal ja meetodika	24
2.2.1 Valimi kirjeldamine	24
2.2.2 Molekulaarsed meetodid	25
2.2.2.1 Veeproovide kogumine ja DNA eraldamine	25
2.2.2.2 Setteproovide kogumine ja DNA eraldamine	25
2.2.2.3 Ettevalmistused sekveneermiseks	25
2.2.3 Andmeanalüüs	26
2.2.3.1 Statistilised meetodid	27
2.3 Tulemused	33
2.3.1 Kirjeldav ülevaade	33
2.3.1.1 Tuvastatud seenepirkondade ökoloogiline ülevaade	34
2.3.2 Liigirikkus	36
2.3.2.1. Liigiline mitmekesisus	36
2.3.2.2 Sette ja vee liigirikkkuse võrdlemine	37

2.3.2.3 Liigirikkuse võrdlemine veekogutüübiti	37
2.3.3 Seenekoosluste võrdlemine	38
2.3.3.1 Sette- ja veeproovide koosluste võrdlemine	38
2.3.3.2 Veekogutüüpide koosluste omavaheline võrdlemine	43
2.3.3.2.1 Veekogutüüpide kooslused setetes	43
2.3.3.2.2 Veekogutüüpide kooslused vees	46
2.3.4 Liikide levik	51
2.4 Arutelu	52
KOKKUVÕTE	58
SUMMARY	59
<i>Tänusõnad</i>	61
KIRJANDUSE LOETELU	62
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	78
LISAD	81
Lisa 1: Proovialade kaart. Aluskaart: Maa-amet, 2024.	81
Lisa 2: Modifitseeritud protokoll Sterivex™ filtritest DNA eraldamiseks NucleoMag® DNA/RNA Water (MACHEREY-NAGEL, Saksamaa) komplektiga	83
Lisa 3: Kasutatud praimerid ja nende järjestused	85
Lisa 4: Seente alfamitmekesisus kõikides veekogudes	88
Lisa 5: Setteproovide 15 enimlevinud seenehõimkondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes	89
Lisa 6: Veeproovide 15 enimlevinud seenehõimkondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude veeproovides	90
Lisa 7: Setteproovide 15 enimlevinud seeneseltside sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes	91
Lisa 8: Veeproovide 15 enimlevinud seeneseltside sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikides veekogudes	92
Lisa 9: Setteproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes	93
Lisa 10: Veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikides veekogudes	94

Lisa 11: Seisuveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikide seisuveekogude setetes	95
Lisa 12: Vooluveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikides vooluveekogudes	96
Lisa 13: Mereveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikide mereveekogude setetes	97
Lisa 14: Seisuveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikides seisuveekogudes	98
Lisa 15: Vooluveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikides vooluveekogudes	99
Lisa 16: Mereveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikides mereveekogudes	100
Lihtlitsents	101

KASUTATUD LÜHENDID

AM Arbuskulaarne mükoriisa

ANOVA ingl k *analysis of variance*, dispersioonanalüüs

eDNA ingl k *environmental DNA*, keskkonna-DNA

ITS ingl k *internal transcribed spacers*, sisemised transkribeeritavad vahejärjestused

NMDS ingl k *non-metric multidimensional scaling*, mittemeetrilise mitmemõõtmeline skaleerimine

OTU ingl k *operational taxonomic unit*

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

SISSEJUHATUS

Seened on kõikjal laialt levinud, kuid võrreldes maismaa ökosüsteemidega on nende mitmekesisust ja funktsioone veekeskkondades märkimisväärselt vähem uuritud. Praeguseks on kirjeldatud ligikaudu 155 000 erinevat seeneliiki, kuid arvatakse, et liikide koguarv võib ulatuda kahe kuni kolme miljonini (Niskanen jt., 2023). Kirjeldatud seeneliikidest moodustavad veeseened vaid murdosa. Käesoleva töö kirjutamise hetkel on Jones jt (2019) loodud andmebaasis marinefungi.org esindatud 2041 merevee seeneliiki (Jones jt., 2024) ning Calabon jt (2022) töös on mageveeseenede arvuks toodud 3870. Ligikaudu 70% Maa pindalast on kaetud veega, kuid veeökosüsteemides leiduvad seened moodustavad kõikidest kirjeldatud seentest vaid 3,9%. Sellele arvule lisanduvad tõenäoliselt veel seni avastamata liigid ning varasemalt kirjeldatud liigid, mis vähemalt osa oma elutsüklist veedavad veekeskkonnas.

Veeseente koosluste uurimine aitab paremini mõista ja kirjeldada veeökosüsteemides toimuvaid protsesse, sest seened täidavad veekeskkonnas väga erinevaid rolle. Seened on mutualistid, lagundajad, patogeendid või parasiidid. Vees leiduvad hüüfomütseedid lagundavad vette sattunud taimset materjali, varustades seeläbi veekogu erinevate toitainetega (Gulis jt., 2019). Mutualistlikest kooslustest on esindatud samblikud ning hüdrofüütidega seotud mükoriisaseened. Patogeensed ja parasiitsed veeseened võivad tekitada haiguseid nii inimestel kui ka veeorganismidel. Seenparasiidid täidavad samas ka vajalikke ökoloogilisi funktsioone. Näiteks seeneling (ingl k *mycoloop*) on interaktsioon parasiitse *Chytridiomycota* seene, fütoplanktoni ja zooplanktoni vahel, milles seene zoosporid parasiteerivad fütoplanktoni kolooniatel olles samas ise toiduks zooplanktonile (Abonyi jt., 2024).

Inimtegevuse tagajärjel toimuvad veekogudes ulatuslikud muutused, mis mõjutavad kõiki veeorganisme, sealhulgas veeseeni. Tõusev temperatuur, eutrofeerumine, veekogude saastumine pestitsiidide, raskemetallide ja plastikuga võivad põhjustada veeseente kooslustes ulatuslikke muutusi, mille tagajärjed võivad häirida veeökosüsteemi kui terviku funktsioneerimist. Nende muutuste tõttu on veeseente uurimine muutunud pakiliseks, sest puudulike teadmiste tõttu on keeruline välja tuua adekvaatseid lahendusi veekeskkonna kaitsmiseks ja võimalike ohtude tuvastamiseks.

Kuna siiani on veeseentega seotud uurimustöid võrreldes maismaa seentega vähe teostatud, algatasid Tartu Ülikool (TÜ) ja Eesti Maaülikool (EMÜ) 2019. aastal rahvusvahelise koostööprojekti „FunAqua”. Nimetatud projekti jaoks töötati TÜ ja EMÜ teadlaste poolt välja

veeseente elurikkuse globaasel tasandil kirjeldamise eesmärgil protokollid nii vee- kui ka setteproovide kogumiseks ja analüüsimiseks (Panksep jt., 2023). FunAqua raames on kogutud praeguseks ca 1500 sette- ja veeproovi erinevatest maailma veekogudest.

Käesoleva magistritöö raames analüüsiti Eesti veekogudest (n=66) kogutud osahulka (n=129), kusjuures 63-st veekogust on analüüsi võetud nii sette- kui ka veeproov. Töö eesmärk oli kirjeldada ning analüüsida Eesti veekogude ja nende setete seenekoosluseid. Uurimuse käigus on esitletud vee ja sette ning seis-, voolu- ja mereveekogude omavahelisi erinevusi liigirikkuses ja seenekooslustes. Lisaks analüüsiti erinevusi enim tuvastatud liikide levikus sette- ja veeproovide vahel. Sette- ja veeproovidest eraldati DNA kasutades vastavalt *MagAttract PowerSoil DNA Kit* (Qiagen, Saksamaa) ja *NucleoMag® DNA/RNA Water* (MACHERY-NAGEL, Saksamaa) komplekte. DNA eraldusele järgnes ribosomaalse RNA operonis leitavate sisemiste transkribeeritavate vahejärjestuste (ingl k *internal transcribed spacer*; ITS) ja 18S V9 regioonide amplifitseerimine polümeraasi ahelreaktsiooni abil (PCR). Koostatud raamatukogud sekveneeriti Oslo Ülikooli laboris PacBio instrumendil ning saadud tulemused analüüsiti bioinformaatiliste meetoditega. Bioinformaatilistele analüüsidele järgnes statistiline analüüs. Töö on teostatud TÜ Ökoloogia ja Maateaduste instituudi botaanika osakonna mükoloogia õppetoolis. Töö on edasiarendus 2022. aastal kaitstud bakalaureusetööst pealkirjaga: „Veeseenend ja nende mitmekesisus veekogude setetes”.

KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Veeseente tutvustus

Veeseened on seente alagrupp, mis on defineeritud vaid ühise elukeskkonna alusel (Grossart jt., 2019). Veeseened jaotatakse omakorda residentseteks veeseenteks, mis on adapteerunud kogu oma elutsükli läbimiseks ainult veekeskkonnas, ja transientseteks veeseenteks, mis on sattunud veekeskkonda juhuse teel, kuid säilitavad vähemalt ajutiselt oma aktiivsuse (Shearer jt., 2007). Transientsete veeseente hulka kuuluvad näiteks mõningad hüdrofüütidega mükoriisasad moodustavad seened (De Queiroz jt., 2020) ja residentsete veeseente hulka obligatoorsed vetikate parasiidid (Ortiz-Cañavate jt., 2019).

1.1.2 Veeseente ökoloogilised rollid

1.1.2.1 Parasiitsed ja patogeensed veeseened

Patogeensed veeseened mõjutavad mitmeid veeorganisme, sealhulgas kalu. Seened võivad nakatada kalu igas eluetapis, alates marjateradest kuni täiskasvanud kaladeni (Alam jt., 2023). Enamasti on nad sekundaarsed patogeendid, mis nakatavad juba haavatud või infektsiooniga kalu (Choudhury jt., 2014). Kaks levinud kalade seenpatogeeni on *Fusarium oxysporum* ja *Fusarium solani*. Liigi *F. oxysporum* mükoos on süsteemne haigus, mille sümptomiks on kalade lõpustel olevad haavandid, ja selle mükoosiga võivad kaasnedä nakatunud organite veritsemisest ja nekroosist tingitud maksa-, neeru- ja pankreasehäired (Hassan jt., 2020). *F. solani* tekitab liigile *F. oxysporum* sarnaseid sümptomeid: esinevad välised haavandid kala lõpustel ja nahal ning kahjustunud on ka nakatunud isendi maks, neerud ja põrn (Pękala-Safińska jt., 2020). Muuhulgas on *F. solani* mükoose täheldatud lisaks luukaladele ka kõhrkaladel, näiteks rai- (Hsu jt., 2021) ja hailaadsetel (Pirarat jt., 2016).

Veeseente mükoosid on levinud ka koorikloomadel. Koorikloomadel esineb nn musta lõpuse haigus (*black gill disease*), mida iseloomustab infektsiooni või mõne abiootilise stressori poolt põhjustatud lõpuste melanisatsioon ja tumenemine (Frischer jt., 2022). Infektsioonist tingitud musta lõpuse haiguse põhjustajateks võivad olla tsiliaadid (Frischer jt., 2017), bakterid (Wang jt., 2020) ja seened (Taştan ja Çağatay, 2022). Seentest on üheks musta lõpuse haiguse tekitajaks *Aspergillus awamori*, mille toodetud kantserogeenne aflatoksiin kahjustab lõpuste

kudet ja põhjustab melanisatsiooni, mis omakorda võib lõppeda lõpuste nekroosi ja isendi surmaga (Karthikeyan jt., 2015). Teine *Aspergillus* liik, mis tekitab musta lõpuse haigust, on *A. flavus*, mille mükoosi puhul on haigus tekkinud seenehüüfide invasiivsest kasvust nakatunud isendi lõpustes (Dewangan jt., 2015). Musta lõpuse haigus on levinud ka koorikloomade kasvandustes, kus see põhjustab olulist majandusliku kahju. Näiteks 2020. aasta novembris levis *F. solani* poolt põhjustatud musta lõpuse haigus mitmes Hiina Hainani provintsi valgejalg kreveti kasvanduses, viies massilise krevettide surmani (Yao jt., 2022).

Peale musta lõpuse haiguse on krevetikasvandustes probleemiks ka parasiitse seene *Enterocytozoon hepatopenaei* infektsioonid (Venkateswarlu ja Venkatrayulu, 2019). *E. hepatopenaei* infektsiooni iseloomulikeks tunnusteks on nakatunud kreveti hepatopankrease kahjustused, pärsitud kasv, suurem vastuvõtlikkus teistele patogeenidele ning kõrgenenud suremus (Tang jt., 2015). Näiteks on kirjeldatud *Vibrio spp.* ja *E. hepatopenaei* koinfektsioone, mille käigus oportunistlikud *Vibrio spp.* rakud koloniseerivad nakatunud looma hepatopankrease rakke (Aranguren jt., 2017).

Vibrio bakteri ja *E. hepatopenaei* koinfektsiooni on seostatud krevettide valge roe sündroomiga (ingl k *white feces syndrome*) (Caro jt., 2021), mida iseloomustavad kreveti kesta pehmumine ning valget värvi seedesüsteem ja roe (Munkongwongsiri jt., 2022). *E. hepatopenaei* infektsioonide levik põhjustab krevetikasvandustele olulist majanduslikku kahju. Näiteks on India andmete põhjal arvatud, et *E. hepatopenaei* kolletega kasvandustel on ravikulude ja väiksema saagikuse tõttu keskmine netotulu ligikaudu üheksa korda väiksem tervete krevettidega kasvanduste omast (Geetha jt., 2022).

Veeseente mükoosid ohustavad ka inimesi ning võimalike nakkusallikatega puututakse kokku igapäevaselt. Zoonootilised mükoosid võivad inimestele edasi kanduda kokkupuutel nakatunud kaladega, kalastusvarustusega, veega ja kalatoodete tarbimisel (Alam jt., 2023). Seeni (sh ka patogeenseid) on leitud nii pinna-, põhja- kui ka kraaniveest (Babič jt., 2017); samuti pudeliveest (Biedunkiewicz jt., 2014) ning PVC- ja malmtorude biofilmidest (Liu jt., 2014). Indias diagnoositi veetorujuhet parandanud mehel invasiivne pulmonaalne aspergilloos, mis oli põhjustatud *A. fumigatus* poolt (Pilaniya jt., 2015). Patogeenseid seeni on leitud ka kliinikutest. Näiteks Brasiilia Franca ülikooli kahes uuritud stomatoloogia kliinikus oli ravi protseduuridel kasutatav vesi saastunud mitme patogeense seenega (Damasceno jt., 2017) ning São Paulo pediaatrilise onkoloogia kliinikumi patsiendil diagnoositi *F. solani* infektsioon ja järgnevate uuringute käigus leiti 85%-l osakonna veesüsteemi proovidest

filamentseid seeni (Mesquita-Rocha jt., 2013). Inimesed võivad patogeensete veeseentega kokku puutuda ka erinevates veekogudes. On kirjeldatud juhtumit, kus patsiendil avastati pärast uppumissurmast pääsemist *A. fumigatus* poolt põhjustatud aspergilloos, mis viis ägeda respiratoorse distressi sündroomini (Jenks ja Preziosi, 2015). Poolas uuriti viit tehisliku veekogu, mida kasutatakse avalike pesemiskohtadena, ning tuvastatud 149-st filamentse seene taksonist 128 olid inimestele potentsiaalselt ohtlikud (Góralaska jt., 2020).

Kuigi on teada, et ka joogivees võib patogeenseid seeni leiduda, ei ole Eesti Vabariigis nende olemasolu kontrollimine kohustuslik (Joogivee kvaliteedi- ja kontrollinõuded ja analüüsimeetodid ning tarbijale teabe esitamise nõuded § 4). Samuti ei ole kohustuslik kontrollida patogeensete seente esinemist Eesti supelrandades ja suplusvees (Nõuded suplusveele ja supelrannale, lisa 1, 2019).

1.1.2.2 Mutualistlikud sümbioosid veeseentega

Patogeensete ja parasiitsete seente kõrval on ökoloogiliselt olulised ka mutualistlikud kooslused veeseente ja teiste veeorganismide vahel. Üheks niisuguseks sümbioosiks on veesamblikud. Samblikud on mükobiondist (seen) ja fotobiondist (vetikas ja/või tsüanobakter) koosnev mutualistlik kooslus. Fotobiondid varustavad mükobionte süsivesikutega, millest mükobiondid toodavad polüoole, mis omakorda pakuvad samblikule kaitset kuivamise eest või on kasvusubstraadiks nii fotobiondile kui ka mükobiondile (Spribille jt., 2021). Veeseamblikke saab jaotada vastavalt vee all olemise aja järgi hüper-hüdrofiilseteks (>10 kuud), meso-hüdrofiilseteks (3-10 kuud) ja hüpo-hüdrofiilseteks (<3 kuud) (Coste, 2010). Nii maismaa samblikel kui ka veeseamblikel on välja kujunenud erinevad meetodid liigniiskuse ja uppumise vältimiseks. Samblikes esinevad filamentsed seened eritavad amfifiilseid valke: hüdrofobiine (Wösten ja Scholtmeijer, 2015), mis katavad hüdrofoobse kihina sambliku talluse ja moodustavad gaasivahetuseks vajalikke mitte-vettivaid kambreid (Goodenough jt., 2021). Hüdrofobiinidel on erinevaid funktsioone: spooride ja viljakehade õõnsuste katmine hüdrofoobse kihiga, seente kinnitamine substraadile, antigeenide peitmine ja seene kaitsmine liigniiskuse eest (Linder jt., 2005). Veeseamblikest esinevad hüdrofobiinidega õhukambriid meso- ja hüpo-hüdrofiilsetel samblikel, hüper-hüdrofiilsetel need puuduvad, sest pika aja jooksul täituks tallus vaatamata nende olemasolule siiski veega (Thüs jt., 2014). Selle asemel on hüper-hüdrofiilsetel samblikel laialdaselt levinud koorikjane tallus, mis lihtsustab veekeskkonnas gaasivahetust (Sonina ja Androsova, 2021).

Fotobiontide kooslus samblikes on varieeruv ning seda mõjutab sambliku elukeskkond. Merevee samblikest võib tuua näiteks *Lichina pygmaea*, mille fotobiondid on valdavalt merelist päritolu (peamiselt *Rivularia* perekonna tsüanobakterid), kuid lisaks esineb magevee-tolerantseid liike (*Pleurocapsa* tsüanobakterid), tänu millele on samblik võimeline fotosünteesima ka madala veetaseme ja vihmaperioodide puhul (Christmas jt., 2021). Magevete samblikud on üldjuhul amfiibsed: enamus neist on meso- või hüpo-hüdrofiilsed ja see peegeldub ka nende fotobiontide koosluses (Thüs jt., 2014). Levinuimateks fotobiontideks magevee samblikes on maismaa ökosüsteemides laialt levinud tsüanobakterid perekonnast *Nostoc* (Elshobary jt., 2015).

Samblikke sh veesamblikke uuritakse võimalike bioindikaatoritena. Nende liigilise koosluse ja mitmekesisuse põhjal on võimalik kirjeldada veekogu seisundit, kuna veesamblike kooslused on reostusele väga tundlikud (Nokes jt., 2020; Ristić jt., 2020). Uuringud on näidanud ka, et raskemetallid bioakumuleeruvad veesamblikes (Kłos jt., 2023) ning nitrofiilsed samblikud akumulerevad lämmastikku (Monnet jt., 2005). Nitrofiilsetesse samblikesse akumulereunud lämmastiku koguse abil saaks potentsiaalselt hinnata põllumajandusega kaasneva lämmastikuühendite saastatuse taset veekogudes (Boltersdorf ja Werner, 2014). Kuna bioakumuleerunud ühendite kogus sõltub sambliku talluse struktuurist ja pindalast, on bioakumulatsioonist lähtuv lähenemine keeruline, sest morfoloogilised erinevused samblike vahel muudavad saadud andmete standardiseerimise ja tõlgendamise keeruliseks (Root jt., 2021).

Teiseks mutualistlikuks sümbioosiks on mükoriisad. Enamus riisi sortidest on fakultatiivsed hüdrofüüdid (Upadhyay, 2016) ja kuigi kuivalt kasvatavate riisitaimede juurtel esineb rohkem arbuskulaar-mükoriisseid (AM) seeni kui üleujutatud põllul kasvatatavatel, on AM seentel märgatav mõju riisi kasvule mõlemal juhul (Vallino jt., 2014). Üleujutatud põldudel kasvatavate riisitaimede kohta tehtud uurimustest ilmneb, et AM seened varustavad taimi lämmastiku, fosfori (Iqbal jt., 2020) ja süsinikuga (Bao jt., 2019), sest tänu mükoriisas osalevatele seentele muutuvad mullas olevad toiteained riisitaimele kättesaadavamaks (Vergara jt., 2018). Suurem seente liigiline mitmekesisus on seotud parema riisitaimede kasvuga (Wang jt., 2015) ja madalama seeninfektsioonide riskiga (Campo jt., 2020). Obligatoorsest hüdrofüütidest on kirjeldatud vesilobeelia, silmjärvika ja lahnarohu perekonna taimede AM seeni. Vesilobeelia ja silmjärvika juured on koloniseeritud *Glomeromycota* ja *Ascomycota* seente poolt ning väiksema AM seente arvuga lahnarohu juurtel elavad peamiselt

Ascomycota, *Chytridiomycota* ja *Basidiomycota* hõimkondadesse kuuluvad seened (Sudová jt., 2020).

AM seente levik hüdrofüütide seas sõltub veekogu toiteainete sisaldusest: AM seente arvukus ja mitmekesisus on kõrgem oligotroofses ehk vähetoitelises veekogus (Moora jt., 2016). Üheks võimalikuks põhjuseks on AM poolt tagatud fosfori kättesaadavus taimedele olukorras, kus vees lahustunud fosfori tase on väga madal ning taimed saavad vajaliku koguse fosforit hoopis settest (Baar jt., 2010). Teiseks võimalikuks põhjuseks on eutrofeerunud veekogu settes orgaanilise materjali lahustumisel tekkinud madala hapnikusisaldusega risosfäär, mis on ebasoodsaks elukeskkonnaks paljudele AM seentele (Møller jt., 2013). Fakultatiivsete hüdrofüütide AM seente mitmekesisus on seotud vee üleujutuse tasemega, sest see mõjutab risosfääri hapnikutaset ja taime fotosünteesi võimekust, ning suurem AM mitmekesisus on madalama üleujutuse tasemega keskkonnas (Wang jt., 2016). Suur osa vee AM kirjeldavad tööd on kirjutatud lahnarohtude, nende sarnaste taimede ja riisitaimede põhjal, mis tähendab, et laiahaardelisema ülevaate saamiseks on vaja läbi viia täiendavaid AM uuringuid teiste hüdrofüütide peal.

1.1.2.3 Veeseente roll aineringes

Seened panustavad saprotroofide ja lagundajatena ümbritseva keskkonna aineringsse nii maismaal kui ka vees. Veeseened on olulisteks orgaanika (vette sattunud lehed, puit ja vees elavad makrofüüdid) lagundajateks veekogudes ja vooluveekogude puhul avaldavad aineringlele eriti suurt mõju vee-hüüfomütseedid (Gulis jt., 2019). Kirjeldatud on ca 300 vee-hüüfomütseedi liiki, millest 136 on ITS regiooni põhjal triipkoodistatud (Franco-Duarte jt., 2022). Vee-hüüfomütsetide panus süsiniku-, lämmastiku- ja fosforiringesse (sh C, N ja P koguste vahelkordade erinevus) erineb nii liigiti kui ka liigisiselt (Brosed jt., 2017). Liigisisel variatsioonil võib olla oluline roll koosluse paremaks toimetulekuks stressorite olemasolul. Duarte jt (2019) töös kirjeldati *Articulospora tetracladia* (8 tüve) liigisisese mitmekesisuse mõju lehe lagundamisele kaadmiumi (Cd) lisamisel ning leiti, et mitmekesisem kooslus oli positiivselt seotud lehtede lagundamisega vaid Cd lisamisel ning kuigi mitmekesisem kooslus kaasnes kõrgema sporulatsiooni tasemega, oli selle efekt tugevam Cd juures. Graça jt (2023) uurimuses hinnati inimtekkeliste survetegurite (ekstreemne temperatuur, eutrofeerumine, veetaseme muutused) mõju vee- hüüfomütsetidele (7 liiki, 20 tüve). Autorid leidsid, et kõik survetegurid mõjutasid seente kasvu, samas vastupidavus eutrofeerumisele, madalale veetasemele ning kuivamisele oli sõltuv liigisisesest varieerumisest (Graça jt., 2023). Kuna

vee-hüüfomütseedid on veekogude toiduvõrgustikus võtmetähtsusega, on nende ökoloogia ja leviku uurimine väga oluline, sest antropogeensete tegurite tõttu võib nende mitmekesisus väheneda.

Seeneling on veekogu toiduahela vorm parasiitsete *Chytridiomycota* seente ning füto- ja zooplanktoni vahel. Seente zoosporid, mis parasiteerivad suurtel või koloonialistel fütoplankteritel, on ise toiduks zooplanktonile või aitavad lagundada suuri kolooniaid zooplanktonile sobiva suurusega toiduobjektideks (Abonyi jt., 2024). Agha jt (2016) on kirjeldanud seenelingu ja selle tähtsust veekogu toiduahelas: seeneling tagab toiteainete ringluse, eriti just tsüanobakterite ja zooplanktoni vahel; tsüanobakterite kolooniad on suured ja zooplanktonile toiduobjektina mittesobivad, aga *Chytridiomycota* seened suudavad neid nakatada ja lagundada, võimaldades zooplanktonitel neist toituda. Seenelingu roll on veekogude toiduahelas äärmiselt oluline, kuna see tagab toiteainete ringluse ja kättesaadavuse erinevatele organismidele, stimuleerib produktsiooni ning säilitab ökosüsteemi tasakaalu (Agha jt., 2016). *Chytridiomycota* zoosporid võivad moodustada eutrofeerunud keskkonnas kuni 50% zooplanktoni toidust ning teistele toitainelikele kohastunud zooplanktonid võivad rohke zoosporide hulga puhul muuta oma toitumiseelistust (Thongthaisong jt., 2022).

1.2. Veeseente mitmekesisus

Veeseente ökoloogia ning mitmekesisus on suuresti kirjeldamata. Lisaks väiksele uurimuste arvule kinnitab seda nn tumeaine seente (ingl k *dark matter fungi*) esinemine: keskkonnna proovidest on leitud hulganisti teadmata taksonoomilise kuuluvuse ja funktsionaalsusega veeseeni, mille täpsem kirjeldamine võib tuua muutusi veeseente ökoloogia arusaamades ning taksonoomilistes grupeeriingutes (Grossart jt., 2016). Varasemate uurimuste käigus on selgunud, et veekogude seenekooslused erinevad oluliselt veekogu ümbritseva mulla omast, seega on ökoloogiliste teadmiste laiendamiseks vajalik uurida spetsiifiliselt veekogude seenekooslusi. Näiteks võrreldi 30 Saksamaa järve ja neid ümbritseva mulla protistide ja seente mitmekesisust ning ilmnes, et mullas on seenekooslused mitmekesisemad kui vees, erinevate proovialade mullakooslused erinesid üksteisest rohkem kui veekooslused omavahel ja mulla- ning veekoosluste vahel kattus väike osa seentest (Sieber jt., 2020).

Veeseente uurimist raskendavad uurimismetoodikatega seotud probleemid. Ühe veekogu uurimisel erinevate meetoditega (proovidest eraldatud RNA põhjal sünteesitud cDNA ja keskkonna-DNA (ingl k *environmental* DNA; eDNA) analüüsid, kultiveerimine) võivad tulemused erinevate meetodite vahel oluliselt erineda, mistõttu on keeruline hinnata, kas tuvastatud seened on tegelikult keskkonnas aktiivsed (Rao jt., 2013). Komplitseerivaks asjaoluks on transientsete veeseente esinemine, mille tõttu ei tarvitse seene varasematest ökoloogilistest kirjeldustest lähtumine alati anda õiget arusaama seene elukeskkonnast, sest mõnel juhul maismaa seente sekka arvatud seen võib osutada transientseks veeseeneks. Käesoleva töö mereveekogude veeseente mitmekesisust kirjeldavas alapeatükis on kirjeldatud Tibell jt (2020) uurimust, milles on kirjeldatud Läänemere veeseente mitmekesisust kasutades triivpuidul olevatest viljakehadest saadud kultuure. Kuigi see uurimus annab informatsiooni veekeskkonnast isoleeritud aktiivsetest seente kohta, on kasutatud meetodi puudujäägiks viljakehi mittemoodustavate ja veesambas esinevate seente puudumine või vähene osakaal lõpptulemustes. Kui Tibell jt (2020) töös kasutati paralleelselt morfoloogiliste analüüsidega ka molekulaarbioloogilisi meetodeid, on uuringuid, mis põhinevad vaid morfoloogilistel määrangutel ja kultiveerimisel (Bubnova jt., 2020)

Seente triipkoodistamiseks kasutatakse peamiselt rDNA ITS regiooni amplifitseerimist (Schoch jt., 2013), kuid veeseente puhul võib ITS praimerite kasutamine tekitada probleeme, kuna need on välja töötatud maismaa seente, peamiselt *Basidiomycota* ja *Ascomycota*, sekventside põhjal. Seetõttu võivad saadud tulemustes teised hõimkonnad ja veeseenend olla alaesindatud (Amend jt., 2019). Mõnikord kasutatakse veeseente amplikonide saamiseks ka mitut praimeripaari, et paremini kõiki hõimkondi katta. Asemaninejad jt (2017) töös kasutati *Ascomycota* 28S amplikonide saamiseks LSU200A-F/LSU476A-R praimeripaari ning LSU200-F/LSU481-R praimeripaari *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Glomeromycota* ja *Neocallimastigomycota* 28S amplikonide jaoks. Selles töös oli teise praimeripaariga *Basidiomycota* hõimkond niivõrd domineeriv, et autorid grupeerisid kõik selle praimeripaariga saadud sekventsid *Basidiomycota* rühma alla ning neid käsitleti ühe üksusena. Lisaks PCR-i meetoditele võivad tulemusi mõjutada ka DNA/RNA eraldamiseks välja valitud meetodid. Richards jt (2015) uurimistöös on välja toodud, et tugevamate rakukestadega filamentsete seente (nt *Pezizomycotina*) DNA isoleerimine võib olla raskendatud ebasobilike DNA/RNA eraldamise meetodite tõttu, mille pärast võib nende osakaal tulemustes olla liiga madal.

1.2.1 Veeseente mitmekesisust ja ökoloogiat mõjutavad tegurid

Vee temperatuuril on märkimisväärne mõju veeseente mitmekesisusele ja ökoloogiale. On leitud, et temperatuur on üks olulisemaid abiootilisi tegureid, mis mõjutab ühe veekogu seente sesoonset mitmekesisust (Khallil jt., 2023) ja selgitab hooajalist *Chytridiomycota* infektsioonide kõikumist (Fernández-Beaskoetxea jt., 2015). Samuti võivad erinevate biogeograafilise piirkondade vahelised mitmekesisusega seotud erinevused olla tingitud temperatuurist. Fenoy jt (2021) uurimuses analüüsiti Vahemere regioonis nelja erineva geokliimaatilise olustikuga piirkonnas 16 vooluveekogu, keskendudes veeseente kooslustele ja lehtede lagundamise efektiivsusele, ning leiti, et taksonoomiline liigirikkus regiooniti ei erinenud, kuid funktsionaalne liigirikkus, mis oli positiivselt seotud lehe lagunemisega, oli kõrgem madalama temperatuuriga piirkondades. Sellegipoolest esineb veeseentel kohastumusi, mis võimaldavad neil toime tulla kõrgeneva temperatuuri foonil. Näiteks aitab vee temperatuuri tõusu puhverdada seene ensümaatilise aktiivsuse tõusmine, mis võimaldab mitteoptimaalsetes tingimustes toiteaineid omandada (Alekseyeva jt., 2022).

Lisaks temperatuurile mõjutab veeseente kooslust ka veekogu soolsus. Üldjuhul on kõrgema saliiinsusega veekogudes elavad seened pigem halotolerantsed kui halofiilsed (Gonçalves jt., 2019). Siiski esineb ka üksikuid halofiilseid seeneliike, näiteks *Hortaea werneckii*, mida on leitud soolajärvedest ja mereveekogudest üle maailma (Marchetta jt., 2018). Veekogude seenekoosluste seost soolsusega on Läänemeres detailselt kirjeldatud. Läänemere halokliinilil, mis jääb vahemikku 3 kuni 34 ‰, on näha selget seenekoosluste eristumist: regioonides, kus soolsus on alla 8 ‰, on kooslus mageveekogudele sarnane (suurem *Chytridiomycota* osakaal, peamiselt seltsid *Rhizophydiales*, *Lobulomycetales* ja *Gromochytriales*), ning sellest kõrgema saliiinsusega aladel on kooslus mereveekogudele omane (*Cladosporium* ja *Saccharomyces* kõrge osakaal suvel, klasside *Leotiomyces* ja *Cystobasidiomyces* kõrgem levik talvel) (Rojas-Jimenez jt., 2018).

Veeseentele avaldab otsest mõju ka veekogu troofsus. Veekogude eutrofeerumine on normaalne nähtus, kuid inimtegevuse tagajärjel on eutrofeerumine ebatavaliselt kiire ja mõjutab oluliselt veeökosüsteeme. Chislock jt (2013) on oma uurimistöös välja toonud erinevaid eutrofeerumisest tingitud vetikate öitsengutega kaasnevaid probleeme: mõned vetikad (sh sinivetikad ehk tsüanobakterid) võivad toota eukarüootidele ohtlikke mürke;

õitsengud võivad põhjustada veekogudes hüpoksiat, sest õitsengutele järgneb massiline vetikate aeroobne lagundamine bakterite poolt; lisaks on õitsenguid põhjustavad vetikaperekonnad sageli mitesobilikuks toiduks zooplanktonile. Eutrofeerumisega kaasnevatel muutustel on mõju veeseente kooslustele. Eutrofeerunud veekogu hüpoksilistes piirkondades koosnevad seenekooslused anaerobsetest seentest ja on väiksema mitmekesisusega (Cai jt., 2018). Tsüanobakterite õitsengute tõttu suureneb veekogus tsüanobakteritel parasiteeritavate seente osakaal ja domineerivateks võivad muutuda *Chytridiomycota* ja *Rozellomycota* hõimkondade seened (Marino jr jt., 2022). Mõõdukalt eutrofeerunud veekogus võib olla kõrgem hüüfomütsetide liigiline mitmekesisus, kuid tugev eutrofeerumine viib mitmekesisuse vähenemiseni (Duarte jt., 2015).

Antropogeensetest teguritest on uuritud ka pestitsiidide mõju. Ortiz-Cañavate jt (2019) uurimuse tulemustest selgus, et fungitsiidid nagu tebukonasool ja asoksüstrobiin ning antifungaalne ravim itrakonasool langetavad obligatoorse parasiidi *Rhizophyidium megarrhizum* võimet infekteerida *Plankothrix* perekonna tsüanobaktereid. *Rhizophyidium megarrhizum* infekteerimisvõimet langetab ka herbitsiid metolakloor, mille mõjud kestavad mitu põlvkonda (Martínez-Ruiz jt., 2024). Eelmainitu tõttu võib järeldada, et fungitsiidid võivad soodustada sinivetikate õitsengute tekkimist, sest nende parasiitide eluviis on häiritud. Pestitsiidide mõju lagundajaseente koosluste efektiivsusele on varasemates uuringutes olnud varieeruv. Baudy jt (2021) töös uuritud viie pestitsiidi mõju vee-hüüfomütsetide lagundamisvõimele avaldus vaid kõrgetel kontsentratsioonidel, kuid seenekooslustes toimusid muutused ka madalamatel kontsentratsioonidel. Sumudumali jt (2022) uurimuses toimusid samuti muutused seenekooslustes ja seente lagundamisvõime oli mõjutatud ka väiksema koguse fungitsiidi puhul.

Üha enam pälvivad tähelepanu plastikureostusest tingitud keskkonnamuutused. Plastmaterjali on keskkonda sattunud nii palju, et see moodustab mikroorganismidega eraldi plastisfääri. Plastisfääre on tekkinud nii mage- (Barros ja Seena, 2021) kui ka mereveekogudes (Du jt., 2022) ning nendes esinevad ka veeseened. Kettner jt (2017) töös leiti, et plastisfääri veeseente liigiline mitmekesisus erineb veesamba ja orgaanilise substraadi omast. Lisaks töid autorid välja, et erinevaid plastikmaterjale koloniseerivad erinevad veeseened, mis võib olla põhjustatud teistest substraadil leiduvatest veeorganismidest ja substraadi pinna iseärasustega kaasnevatest adhesiooni ja biofilmi moodustamise variatsioonidest (Kettner jt.,

2017). Kuigi veeseened on võimelised plastikut koloniseerima, on plastikureostusel negatiivne mõju nende kooslustele. Vette sattunud mikroplastik langetab veeseente mitmekesisust, biomassi, sporulatsioonitaset ja lagundamisvõimet (Trabulo jt., 2022). Kettner jt (2017) uurimistöös on lisaks välja toodud võimalik mikroplastiku liikumisega kaasnevate invasiivsete liikide levik veekogude vahel, mis võib põhjustada drastilisi muutuseid kohalikes veeseente kooslustes.

Kuna inimtegevuse tõttu toimuvad kõikides ökosüsteemides laiahaardelised muutused, on oluline uurida veekogude mikrobioome koos seentega, sest oma ökoloogiliste rollide tõttu võivad muutused seenekooslustes põhjustada veeökosüsteemides häireid. Siiski tuleb arvestada, et olukorras, kus koosluse vaadeldav ökoloogiline funktsioon võib olla stressori lisandumisel säilinud, ei pruugi see tähendada, et langenud mitmekesisusel puudub teises ökoloogilises kontekstis mõju. Enamik uurimusi mitmekesisust mõjutavate tegurite kohta on tehtud tehnilike ökosüsteemide ja kultuuride põhjal, mis annavad küll suuna edasisteks uurimusteks, kuid ei pruugi katta kõiki looduslikus keskkonnas tekkivaid muutuseid.

1.2.2 Veeseente levik mageveekogudes

Seened, mis peavad vähemalt osa oma elutsüklist viibima mageveekeskkonnas (veesambas või substraadil), klassifitseeritakse mageveeseenteks (Calabon jt., 2023). Mageveekogudes võivad seened moodustada üle 50% kõikidest sekveneeritud eukarüootidest (Grossart jt., 2019). Praeguseks on leitud ca 3870 mageveeseene liiki, millest enamik kuulub hõimkonda *Ascomycota* (2968 liiki), millele järgnevad hõimkonnad *Chytridiomycota* (333 liiki), *Rozellomycota* (221 liiki) ja *Basidiomycota* (218 liiki) (Calabon jt., 2022).

1.2.2.1 Seisuveekogud

Lepère jt (2019) töös analüüsiti mageveekogude seenekooslusi avalikult kättesaadavate andmete ja 8 järve veeproovi põhjal (25 järve, 4 jõge, enamuse Prantsusmaal) ning järvede puhul täheldati, et kõige mitmekesisem hõimkond oli *Rozellomycota* ning madalaima mitmekesisusega oli *Basidiomycota*. Veekogude vahel enim kattuvad taksonoomilised ühikud (ingl k *operational taxonomic unit*; OTU) kuulusid hõimkondadesse *Chytridiomycota*, *Ascomycota* ja *Basidiomycota*, samas kõrgeima arvukusega olid *Basidiomycota* ja *Rozellomycota* seened. Kusjuures ükski OTU ei olnud esindatud rohkem kui 19-s järves ja vaid 0,2% OTU-dest esines rohkem kui 12-s järves.

Norras ja Rootsis kirjeldati kokku 12 järve seente mitmekesisust ning enamik leitud seentest kuulusid hõimkondadesse *Ascomycota* (25,86% OTU-dest; domineerivateks seltsideks *Pleosporales*, *Helotiales*, *Hypocreales*), *Basidiomycota* (44,83%; *Agaricales*, *Tremellales*, *Polyporales*, *Russulales*) ja *Chytridiomycota* (20,26%; *Rhizophydiales*, *Chytridiales*, *Spizellomycetales*). *Rozellomycota* ja *Glomeromycota* esindajaid ei identifitseeritud, kuid need võisid kuuluda 16% tuvastamata OTU-de sekka. (Khomich jt., 2017) .

Veeseente kooslus varieerub substraadist sõltuvalt. Wurzbacher jt (2016) kirjeldasid oma uurimistöös Saksamaa Stechlini järve mitmekesisust 54-lt proovialalt korjatud 216 sette-, vee, biofilmi-, planktoni- ja rooproovi põhjal ning vaid 23% saadud seente OTU-dest oli võimalik sugu- ja perekonna tasemel identifitseerida. Pelagiaalis domineerisid seltsid *Spizellomycetales* ja *Rhizophydiales*, biofilmis seltsid *Chytridiales* ning *Rhizophydiales* ja klass *Agaricomycetes*, settes seltsid *Capnodiales* ja *Helotiales* ning roo puhul selts *Pleosporales*.

Veeseeni on leitud ka turbarabadest. Asemaninejad jt (2017) uurimuses kirjeldati Põhja-Ontarios oleva White River jõe juures asetseva turbaraba seenekooslust, võrreldes omavahel kõrgendike ja madalike seenekooslusi. Leiti, et kõrgendikel oli seente mitmekesisus madalam kui madalikel ja madalikel moodustasid *Helotiales*, *Capnodiales*, *Geoglossales*, *Russulales*, *Polyporales* ja *Agaricales* suure osa seenekooslustest, kuid kõrgendikes olid need väiksema osakaaluga.

1.2.2.2 Vooluveekogud

Vee-hüüfomütseedid ja lagundajaseened on eriti suure tähtsusega vooluveekogudes (Gulis jt., 2019), mistõttu keskenduvad paljud vooluveekogude seente mitmekesisust hindavad tööd nendele rühmadele. Näiteks on uuritud erinevate taimeliikide mõju lagundajaseente mitmekesisusele. Leedu Neris jões võrreldi kuue kuu jooksul invasiivse saarvahtra ja kohaliku sanglepa mikroobide koosluseid ning täheldati, et neid taimi koloniseerivad seenekooslused muutusid ajas ja erinesid üksteisest: oktoobris tuvastati saarvahtralt liigid *Tetracladium marchalianum* ja *Flagellospora curvula* ning sanglepalt liigid *Tricladium angulatum*, *Xylomyces* sp., *Alatospora acuminata* ja *Alatospora acuminata*, märtsis oli saarvahtra seenekooslus mitmekesisem kui oktoobris (tuvastatud seened: *Anguillospora* spp., *F. curvula*, *Anguillomyces acadensis*, *Mirandium* sp., *Titaea complexa*) ja sanglepa koosluse

moodustavad seened olid muutunud (*A. acuminata*, *Trinacrium sp.*, *Tetracladium sp.*, *Trifurcospora irregularis*, *Camposporium spp.*) (Krevš ja Kučinskienė, 2017). Krevš ja Kučinskienė (2017) täheldasid muutuseid ka jõe setes: kiiremini laguneva saarvahtra katsepiirkondades oli orgaanilisi ühendeid rohkem, millega kaasnes kõrgem seente arvukus.

Duarte jt (2015) uurimistöös vaadati katseliselt lagundajaseente koosluseid Portugali Ave jõe viies erineva troofsusega ojas, katses kasutatud lehematerjali analüüsidest ilmsel, et enamik seente OTU-dest kuulusid vee-hüüfomütsetidele, *Ascomycota* oli kõikides ojaes enamlevinud hõimkond (50,8 - 94,7% OTU-dest), *Leotiomycetes* ja *Dothideomycetes* olid vastavalt madalama ja kõrgema troofsusega ojaes levinuimad klassid, kuid esindatud olid ka *Basidiomycota* (enimlevinuks klassiks *Agaricomycetes*), *Chytridiomycota* (ainsaks klassiks *Chytridiomycetes*) ja *Monoblepharidomycota* (*Monoblepharidomycetes*) seened.

Poola Augustówi järvestikus vaadeldi ja võrreldi erinevate omadustega jõgede seente mitmekesisust ja leitud liikidest moodustasid 47% vee-hüüfomütseedid ja 18% patogeensed seened, kahes liigirikkaimas ja kõrge orgaaniliste ühendite sisaldusega jões olid enamlevinud liikideks *Helicon giganteum*, *Heliscus lugdunensis* ja *Tetracladium maxilliforme*, kahes liigivaesemas ja madala orgaaniliste ühendite tasemega vees olid enamlevinud *Leptomitopsis lacteus* ja *Lemonniera aquatica* (Pietryczuk jt., 2018). Poolas on uuritud ka Narew jõe seente koosluseid: sügisel ja kevadel korjati 6 kuu jooksul kord kuus igast proovialast (n=5) kolm veeproovi, kust isoleeriti kolooniad kultiveerimiseks, ja kokku tuvastati 15 erinevat seeneliiki, millest kaks kuulusid *Ascomycota*, kuus *Blastocladiomycota*, viis *Chytridiomycota* ja üks *Zygomycota* alla, kusjuures liigiline mitmekesisus oli kõrgem kevadel kui sügisel ning kaheksa liiki esinesid vaid kevadel (*Alternaria alternata*, *Achlyogeton entophyllum*, *Candida albicans*, *Catenaria spherocarpa*, *Karlingia rosea*, *Nowakowskiella macrospora*, *Monoblepharis macrandra*, *Rhizophydium globosum*) ja seitse liiki vaid sügisel (*Catenaria verrucosa*, *Micromycopsis cristata*, *Monoblepharis hypogyna*, *Pythium marsipium*, *Py. multispurum*, *Py. pulchrum*, *Rhipidium interruptum*) (Muszyńska, jt. 2014).

1.2.3. Veeseente levik mereveekogudes

Pang jt (2016) artiklis on soovitatud kasutada mereveeseente defineerimiseks järgnevaid kriteeriumeid: tegemist on mereveekogudest korduvalt isoleeritud seenega, mis on võimeline kas sporuleerima/kasvama merevees oleval substraadil, moodustama teiste veeorganismidega sümbiootilisi kooslusi, adapteeruma mereveekeskkonnale geneetilisel

tasandil või olema mereveekeskkonnas metaboolselt aktiivne. Mereveeseenteks on loetud praeguseks 2041 liiki, millest enamik kuuluvad hõimkondadesse *Ascomycota* ja *Basidiomycota* (Jones jt., 2024)

Mereveeseeni on leitud nii veesambas kui ka erinevatel substraatidel, näiteks korallidel, käsnadel ja merevetikatel (Gonçalves jt., 2022). Uuringud on näidanud, et korallide seenekooslused varieeruvad sõltuvalt korallide perekonnast. Góes-Neto jt (2020) uurimuse käigus leiti *Leptoria* ja *Porites* perekonna korallidel enim seente järjestusi, kusjuures perekonna *Leptoria* korallidel olid esindatud vaid *Malassezia* perekonna seened, samas leiti *Porites* korallidelt kokku 17 erinevat seente perekonda, peamiselt *Basidiomycota* ja *Ascomycota* hulka kuuluvaid seeni. Ka ühes Portugalis tehtud uuringus nähti, et veeseente mitmekesisus erines substraatide vahel (Gonçalves jt., 2020). Näiteks merevee proovidest tuvastasid autorid kokku 42 liiki, vetikatelt 22 liiki ja triivpuidult 13 liiki veeseeni. Vetikatelt isoleeritud seentest kattusid veeproovidega 21 liiki ja triivpuidult isoleeritud seentest 7 liiki.

Euroopa mereveekogudes on läbi viidud üksikuid uurimistöid mereveeseente leviku kohta. Üks suurimaid Euroopa veeseeni kirjeldav töö on Richards jt (2015) uurimistöök, mille raames korjati kuuest Euroopa mereveekogust kokku 130 sette- ja veeproovi ja tulemustest ilmnes, et nii sette- kui ka veeproovides oli enimlevinuks hõimkonnaks *Chytridiomycota* (vastavalt 61% ja 47,70% sekventsist), millele järgnesid hõimkondadesse jaotamata seened (13,47% ja 22,36%). Tibell jt (2020) uurimuses analüüsiti triivpuidul olevatest viljakehadest isoleeritud kultuuride põhjal Läänemere veeseente mitmekesisust ning kokku tuvastati 77 erinevat mereveeseene liiki, millest suur enamus kuulusid *Ascomycota* hõimkonda (42 liiki klassis *Sordariomycetes*, 24 liiki klassis *Dothideomycetes*), mille seas olid kaks siiani vaid Läänemeres kirjeldatud liiki (*Trichocladium constrictum* ja *T. lignicola*), ja kaks liiki *Basidiomycota* hõimkonda (*Digitatispora marina*, *Leucosporidium scottii*). Rämä jt (2014) kirjeldasid Norra Barentsi mere veeseente mitmekesisust 23-ilt proovialalt korjatud 50 puiduproovi põhjal ning enimlevinuks hõimkonnaks osutus *Ascomycota* (123 OTU-t, 83% OTU-dest), millele järgnesid *Basidiomycota* (10 OTU-t), *Mucoromycotina* (5) ja *Chytridiomycota* (1), ning levinuimad seltsid olid *Hypocreales*, *Helotiales*, *Pleosporales*, *Lulworthiales* ja *Eurotiales*.

1.2.4 Veeseente levik setetes

Veekogu setete ja veesamba seenekooslused võivad üksteisest oluliselt erineda. Tisthammer jt (2016) töös kirjeldati ja võrreldi 20 pelaagilist ja 11 bentilist proovi erinevatest maailma veekogudest ning vaid 15,4% OTU-dest kattusid pelaagiliste ja bentiliste koosluste vahel.

Veekogu erinevates sügavustes võivad setete seenekooslused olla erinäolised. Ogaki jt (2021) uurimuses kirjeldati Lõuna-Jäämere süvamere erinevatelt sügavustelt (153 m, 250 m, 550 m, 1463 m) korjatud setteproovidest tuvastatud seeni ja enimlevinud hõimkonnaks osutus *Ascomycota*, millele järgnesid *Basidiomycota*, *Mortierellomycota*, *Mucoromycota*, *Chytridiomycota* ja *Rozellomycota*, kuid isoleeritud OTU-d varieerusid: kõigi nelja sügavuse vahel oli 49 kattuvat OTU-t (18,63% OTU-de kogu arvust), kõige kõrgem OTU-de arv oli 250 m juures (147 OTU-t) ning madalaim 1463 m juures (101 OTU-t).

Euroopas on veekogude setete seenekoosluseid väga vähe analüüsitud. Läänemere setete seenekooslusi analüüsi Lobo jt (2024) uurimuses, mille raames korjati 1145 km peale jaotatud 59-st jaamast setteproove ja nendes osutus enimlevinud hõimkonnaks *Chytridiomycota* (enimlevinud klassideks *Chytridiomycetes* ja *Rhizophyidiomycetes*), millele järgnesid *Ascomycota* (*Sordariomycetes* ja *Dothideomycetes*) ja *Basidiomycota*, kusjuures liikidest olid enimlevinud *Alphamyces chaetifer* ja *Operculomyces laminatus*.

Venemaa Valgemere setete seenekooslust on uuritud mitmetes töödes. Khusnullina jt (2018) töös uuriti Velikaya Salma väina sette seente mitmekesisust setetest isoleeritud kultuuride põhjal ja *Ascomycota* hõimkond osutus domineerivaks (seltsid *Eurotiales* (33 liiki), *Hypocreales* (22), *Microascales* (2), *Leotiomyces Incertae sedis* (3), *Capnodiales* (1), *Pleosporales* (2), *Saccharomycetales* (1)), millele järgnesid *Zygomycota* (seltsid *Mucorales* (3) ja *Umbelopsidales* (2)) ja *Basidiomycota* (*Agaricales* (1)). Bubnova jt (2020) uurimuses analüüsi 50-st setteproovist isoleeritud kultuuride põhjal Valgemere Kandalakša lahe filamentsete seente koosluseid ja tuvastati 2 hõimkonda: *Ascomycota*, mis moodustas 89,2% seentest koos enim levinumate klassidega *Eurotiomycetes* ja *Sordariomycetes*, ning *Zygomycota* (klassid *Mortierellomycetes* ja *Mucoromycetes*), ülejäänud seeni polnud võimalik identifitseerida.

Hiljutistes uuringutes ei tunnistata enam *Zygomycota* hõimkonda. Selle asemel on *Zygomycota* seened jagatud ümber *Mortierellomycota*, *Glomeromycota*, *Kickxellomycota*,

Calcarisporiellomycota, *Entomophthoromycota*, *Mucoromycota* ja *Zoopagomycota* hõimkondadesse (Tedersoo jt., 2018). Eelmainitutest endistest *Zygomycota* seentest kuuluvad *Mucoromycota* hõimkonda *Mucorales*, *Umbelopsidales* ja *Mucoromycetes* ning *Mortierellomycota* hõimkonda kuulub *Mortierellomycetes*.

EKSPERIMENTAALOSA

2.1 Töö eesmärgid

Käesolev magistritöö on osa EMÜ PKI Hüdrobioloogia ja kalanduse õppetooli ja TÜ mükoloogia õppetooli koostööprojektist FunAqua, mille eesmärgiks on kaardistada erinevates maailma veekogudes ja nende setetes leiduvaid veeseeni. FunAqua laiem eesmärk on koostada ulatuslik veeseente andmebaas. Käesolevas töös on analüüsitud 66 Eesti veekogu sette- ja veeproovidest leitud seente mitmekesisust. Proovialade kaardid on välja toodud lisa 1 all. Proovialade kaardi loomisel on kasutatud Eesti Maa-ameti tarkvara X-GIS 2 (Maa-amet, 2024; Maa-amet, 2018).

Töö eesmärkideks on:

- 1) kirjeldada Eesti veekogude ja nende setete seente mitmekesisust lähtudes substraadist ja veekogutüübist;
- 2) kirjeldada Eesti veekogudes ja nende setetes leidunud seeneperekondade ökoloogilisi funktsioone;
- 3) võrrelda settes ja vees esinevate seente liigirikkust ja koosluseid;
- 4) võrrelda omavahel mere-, seisu- ja vooluveekogude liigirikkust ja koosluseid;
- 5) võrrelda enim erinevates proovides esinenud seeneliikide levikut sette- ja veeproovides.

Käesolev magistritöö on laienduseks Prins (2022) bakalaureusetööle pealkirjaga: „Veeseened ja nende mitmekesisus Eesti veekogude setetes”, mille käigus analüüsiti 48 Eesti veekogu setete seente mitmekesisust.

2.2 Materjal ja meetodika

2.2.1 Valimi kirjeldamine

Uurimuses kasutatud materjal koguti 2019 aasta maist kuni 2020 aasta juunini. FunAqua projektis (sh käesolevas uurimistöös) kasutatavaid proove on kogutud vabatahtliku üleskutse alusel. Vältimaks proovivõtumetoodikate erinevustega kaasnevaid erisusi, koostati proovide kogumiseks detailsed protokollid (Panksep jt., 2023). Valimis on 66-st veekogust (15 mereveekogu, 40 seisuveekogu, 13 vooluveekogu) kokku kogutud 66 sette- ja 63 veeproovi.

2.2.2 Molekulaarsed meetodid

2.2.2.1 Veeproovide kogumine ja DNA eraldamine

Veeproovid filtreeriti koheselt veekogu ääres 60 ml steriilsete süstlatega kasutades Sterivex™ filtreid (Merck Millipore, Saksamaa). Proovid fikseeriti etanooliga ning säilitati järgnevate etappide teostamiseni -30 °C juures. Veeproovidest eraldati DNA kasutades *NucleoMag® DNA/RNA Water* (MACHEY-NAGEL, Saksamaa) komplekti. Tootjapoolset protokollit modifitseeriti varasematest kogemustest lähtuvalt filtritüübile vastavaks. Modifitseeritud protokoll on välja toodud lisa 2 all.

2.2.2.2 Setteproovide kogumine ja DNA eraldamine

Setteproovid koguti steriilsetesse 50 ml Falcon tüüpi tuubidesse. Proovide säilitamiseks lisati proovivõtu järgselt setetele poole mahu ulatuses 96% etanool. Kogutud proovid säilitati kuni järgnevate analüüsietappideni -30 °C juures. Võimaliku inhibitsiooniriski vähendamiseks kuivatati setteproove enne DNA eraldamist 35 °C juures, eesmärgiga aurustada proovidest välja etanooli jäägid ja vesi. Kuivatatud materjal koguti eraldi 2 ml mahuga Eppendorf tuubidesse, kuhu lisati materjali homogeniseerimiseks kolm 2 mm diameetriga metallkuuli. Proovid homogeniseeriti loksutil 30 Hz sagedusel. Igast proovist kaaluti DNA eraldamiseks 0,25 g materjali. Setteproovidest eraldati DNA kasutades *MagAttract PowerSoil DNA KF Kit* (Qiagen, US) komplekti vastavalt tootjapoolsetele soovitudele (Qiagen, 2016).

2.2.2.3 Ettevalmistused sekveneermiseks

DNA eraldusele järgnes PCR meetodiga rDNA ITS regiooni amplifitseerimine. Sette- ja veeproovide puhul kasutati sama meetodikat. Pärisuunalise praimerina kasutati ITS9munngs ning vastastassuunalise praimerina kasutati ITS4ngsuni, millega amplifitseeriti terve ITS regioon (ca 600 aluspaari) ja 18S rRNA V9 varieeruv regioon (Tedersoo ja Anlsan, 2019). Praimerid ja nende järjestused on välja toodud lisa 3 all. Kõik PCR reaktsioonid viidi läbi kahes korduses ning ühe reaktsiooni kogumaht oli 25 µl. Esimese etapi PCR koostise lahus sisaldas 1 µl DNAd, 5 µl PCR segu (FIREPol® Master mix, (Solis BioDyne, Eesti)(Solis BioDyne, 2021)), 0,5 µl nii pärisuunalist kui ka vastassuunalist praimerit ning 18 µl deioniseeritud vett. PCR programm koosnes järgnevatest etappidest: denaturatsioon 15 min 95 °C juures, millele järgnes 30-38 tsüklit järgnevaid etappe: 30 s denaturatsiooni 95 °C juures, 30 s praimerite seondamist 55 °C juures ja 1 min DNA sünteesimist 72 °C juures. Programm lõppes 10 min

DNA sünteesi lisaetapiga ehk ekstensioonetapiga 72 °C juures. Pärast PCR reaktsioonide teostamist kontrolliti tulemusi geelelektroforeesil, kasutades 1%-list agarosgeeli, millele oli tulemuste visualiseerimiseks lisatud 1 µl etiidiumbromiidi. Geelelektroforees teostati 100 V pinge juures 25 minutiga. Saadud PCR produktides olev DNA visualiseeriti 280 nm ultravioletvalgusega ning geelipildid salvestati. Nõrkade või puuduvate produktide puhul korrati PCR reaktsiooni, suurendades tsükli arvu ja/või DNA kogust. DNA koguse suurendamisel vähendati reaktsioonisegusse lisatava vee kogust, et säilitada reaktsiooni maht 25 µl. PCR produktid pipeteeriti kokku DNA-raamatukogudeks vastavalt nende tugevusele geelpildil, kusjuures igast proovist võeti 0,5-20 µl produkti. Saadud raamatukogu puhastati FavorPrep™ GEL/PCR Purification Kit (FAVORGEN BIOTECH CORP, Taiwan) komplektiga lähtudes tootja protokollist (FAVORGEN BIOTECH CORP, n.d). DNA-raamatukogu sekveneeriti Oslo Ülikooli laboratooriumis, kasutades Pacific Biosciences'i (PacBio) sekveneerimistehnoloogiat.

2.2.3 Andmeanalüüs

Sekveneerimistulemuste bioinformaatilise analüüsi teostasid mükoloogia õppetooli teadur Vladimir Mikryukov ja Tehnoloogiainstituudi molekulaarse ökoloogia kaasprofessor Veljo Kisand. Bioinformaatiline analüüs sisaldas demultipleksimist ehk indeksjärjestuste järgi sekventside ja proovikoodide kokku viimist programmiga LIMA (v.2.9.0) (Pacific Biosciences, USA) (Pacific Biosciences, 2024). Praimerjärjestused eemaldati kasutades programmi *cutadapt* (v.4.6) (National Bioinformatics Infrastructure, Rootsi) (Martin, 2011). ITS järjestused eraldati programmiga ITSx (v.1.1.3) (Bengtsson-Palme jt., 2013). Kimäärsed järjestused eemaldati programmiga VSEARCH (v.2.27.0) (Rognes jt., 2016) kasutades referentsjärjestusi ja *de novo* detektsiooni. Vigaste *tag*'idega ehk *tag-jump*'idega järjestused eemaldati UCROSS algoritmi abil (Edgar, 2016). Järjestused klasterdati VSEARCH programmiga *de novo* 98% sarnasuse põhjal OTU-deks. Taksonoomiliste vastete leidmiseks kasutati BLASTn (v.2.15.0) (BLAST®, US) algoritme ja EUKARYOME andmebaasi (v.1.8) (Tedersoo jt., *in press*).

Informatsioon seente perekondade ökoloogiliste funktsioonide kohta on võetud Pölme jt (2021) andmebaasist FungalTraits.

2.2.3.1 Statistilised meetodid

Statistilise andmeanalüüsi teostamiseks kasutati R (v.4.4.0) (R Core Team, 2024) programmeerimiskeelel baseeruvat programmi RStudio (Posit team, 2024). Analüüside läbiviimiseks kasutati enamasti R paketti phyloseq (McMurdie, 2022). Selleks loodi vastav phyloseq tüüpi objekt kolme andmematriksiga: omavahel seoti informatsioon proovi metaandmete, OTU-de sekventsides arvu ja OTU-de taksonoomilise informatsiooni kohta.

Liigilist mitmekesisust ehk alfamitmekesisust analüüsiti Shannon-Wiener indeksiga (H') (Shannon, 1948). Shannon-Wiener indeks arvutati proovides esinenud OTU-de arvu põhjal R paketi phyloseq (McMurdie, 2022) funktsiooniga `estimate_richness()`, mis toetub pakatile `vegan` (Oksanen, 2024). Shannon-Wiener indekse arvutamisele eelnes sekventsides arvude ühtlustamine hõrendamisega (ingl k *rarefaction*). Hõrendamise käigus eemaldatakse juhuslikult proovidest sekventse, kuni proovi sekventsides arv on võrdne valimi väikseima sekventsides arvuga (Shimadzu, 2018). Enne sekventsides arvu hõrendamist eemaldati valimist proovid, millel oli vähem kui 50 seene sekventsi. Hõrendamiseks kasutati `phyloseq` paketi funktsiooni `rarefy_even_depth()`. Liigilist mitmekesisust arvutatakse Shannon-Wiener indeksi puhul valemiga:

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \log_b p_i$$

kus H on mitmekesisuse indeks, p_i tähistab liigi i proportsiooni proovis, S on liikide koguarv ja b on logaritmi alus (Oksanen, 2024). Käesolevas töös oli logaritmi aluseks e .

Liigirikust on võrreldud sette- ja veeproovide vahel paariviisilise t-testiga ja veekogutüüpide vahel dispersioonanalüüsiga (ingl k *analysis of variance*; ANOVA). Mõlema meetodi puhul analüüsiti keskmist OTU-de arvu vastavalt kas proovi- või veekogutüübis. Nii t-testile kui ka ANOVA-le eelnes andmete filtreerimine. Analüüsi jaoks loeti OTU-t proovis esinevaks, kui seda oli vähemalt 5 sekventsi, OTU-d, mis ei vastanud sellele tingimusele üheski proovis, eemaldati. Seejärel jäeti valimist välja proovid, milles ei esinenud ühtegi sobivat OTU-t. Alles jäänud sekventsides arvud proovis logaritmiti andmete ühtlustamiseks. T-testi puhul eemaldati valimist veekogud, millest oli pärast eelmainitud samme alles jäänud ainult sette- või veeproov.

Paariviisilise t-testi puhul oli valemiks:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d/\sqrt{n}}$$

kus t on teststatistik, d on vaadeldavate paaride tunnuse keskmiste erinevused, s_d on standardhälve ja n on paaride arv (Awan, 2023). Töös kasutati paariviisilist t-testi, sest valimis oli igastveekogust sees nii sette- kui ka veeproov. Nullhüpootesiks oli, et sette- ja veeproovide keskmised OTU-de arvud ei erine üksteisest oluliselt. T-testi teostamiseks kasutati R paketi *stats* funktsiooni `t.test()`.

ANOVA mudeli funktsiooniks on võrrelda kahe või enama grupi vaadeldava tunnuse keskmiseid lähtudes grupisisestest erinevustest võrreldes gruppide vahelise erinevusega (Sapkota, 2023). ANOVA tulemused on kalkuleeritud R-i paketi *stats* funktsiooniga `aov()`. ANOVA teststatistik arvutatakse järgmiste valemitega:

$$1) \quad SSG = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$$

kus SSG on iga grupi ja valimi tunnuse keskmise väärtuse vahe ruutude summa, \bar{x}_i on grupi keskmine, \bar{x} on valimi keskmine, k on võrreldavate gruppide arv ning n_i on grupi suurus;

$$2) \quad MSG = \frac{1}{df_G} SSG$$

kus MSG on valimi ruutude vahe (SSG) keskmine ja df_G on valimi vabadusaste;

$$3) \quad SSE = \sum_{i=1}^k (n_i - 1) s_i^2$$

kus SSE on ruutvigade summa ehk kõikide gruppide tunnuse väärtuste ja grupi tunnuse keskmise väärtuste vahe ruutude summa, n_i on grupi suurus ja s_i^2 on grupisisene tunnuse erinevus;

$$\begin{aligned}
 4) \quad df_E &= df_1 + df_2 + \dots + df_k \\
 &= (n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots + (n_k - 1) \\
 &= n - k
 \end{aligned}$$

kus df_E on jääkide vabadusaste, n on valimi hulga suurus ja k on gruppide arv;

$$5) \quad MSE = \frac{1}{df_E} SSE$$

kus MSE on keskmine ruutviga;

$$6) \quad SST = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

kus SST on kogu valimi tunnuse väärtuste ja valimi keskmise vahe ruutude summa, x_i on tunnuse väärtus ja \bar{x} on valimi keskmine tunnuse väärtus. SST' ga kontrollitakse saadud SSG ja SSE väärtuseid: SST peab võrduma SSG ja SSE summaga;

$$7) \quad F = \frac{MSG}{MSE}$$

kus F on teststatistik (Diez jt., 2022).

Plokimata ANOVA-t kasutati veekogutüüpide liigirikkuse võrdlemiseks sette- ja veeproovide siseselt. Nullhüpoteesiks oli, et veekogutüüpide vahel keskmine OTU-de arv ei erine. Plokimata ANOVA mudeliks on (National Institute of Standards and Technology, n.d):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij},$$

kus käesoleva töö kontekstis on j vaadeldav veekogutüüp, i on vaadeldav proov, Y_{ji} on ennustatav OTU-de arv, μ on valimi keskmine, T_i on vaadeldava veekogutüübi j mõju OTU-de arvule ja ϵ_{ij} on juhuslik viga.

Veekogutüüpide liigirikkuse analüüsimisel kõikide proovidega koos oli ANOVA ploki faktoriks veekogud, sest veekogudest olid valimis nii sette- kui ka veeproovid, seega tuleb arvestada ka veekogude mõjuga. Nullhüpoteesiks oli, et keskmine OTU-de arv veekogutüüpide vahel ei erine. Plokitud ANOVA mudeliks on (Meier, 2023):

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij},$$

kus käesoleva töö kontekstis on j vaadeldav veekogutüüp, i on vaadeldav proov, Y_{ij} on ennustatav OTU-de arv, μ on valimi keskmine, α_i on vaadeldava veekogutüübi j mõju OTU-de arvule, β_j on veekogu mõju OTU-de arvule ja ϵ_{ij} on juhuslik viga.

Pärast ANOVA-t teostati Tukey-Kramer *honest difference post-hoc* test, et välja selgitada täpsed veekogutüübid, mis üksteisest erinesid. Selleks kasutati *stats* paketi funktsiooni *TukeyHSD()*.

Koosluste võrdlemiseks kasutati permutatsioonilist mitmemõõtmelist dispersioonanalüüsi (ingl *k permutational multivariate analysis of variance*; PERMANOVA) mudelit, millele eelnes OTU-de sekventsides arvude standardiseerimine Hellingeri transformatsiooniga. Seda teostati *phyloseq* paketti kuuluva funktsiooniga *phyloseq_standardize_otu_abundance()*. Hellingeri transformatsiooni valem on:

$$y'_{ij} = \sqrt{\frac{y_{ij}}{y_{i+}}}$$

kus Y'_{ij} on standardiseeritud OTU sekventsides arv proovis, Y_{ij} on OTU sekventsides arv proovis ja Y_{i+} on proovi sekventsides koguarv (Québec Centre for Biodiversity Science, 2023).

Pärast Hellingeri transformatsiooni arvutati koosluste võrdlemiseks gruppide vahel Bray-Curtis erinevuse distantssimaatriksid. Selle jaoks kasutati *phyloseq* paketi toetuvat paketti *MicroViz* (Barnett jt., 2021). Sellest paketist kasutati funktsioone *tax_transform()* OTU-de agregeerimiseks vastavalt hinnatavale taksonoomilisele tasemele ja *dist_calc()* distantssimaatriksi kalkuleerimiseks. Bray-Curtis distantssimaatriksi valem on:

$$b_{ii'} = \frac{\sum_{j=1}^J |n_{ij} - n_{i'j}|}{n_{i+} + n_{i'+}}$$

kus i ja i' on proovid, mida omavahel võrreldakse, j on võrreldav liik, n_{ij} on vaadeldava liikide arv proovis i , $n_{i'j}$ on liigi arv proovis i' ja n_{i+} ja $n_{i'+}$ on vastavate proovide liikide vaadeldavate liikide koguarv proov (Greenacre, 2008). Käesoleva töö PERMANOVA mudeli jaoks on distantssimaatriksid arvutatud taksonite OTU-de transformeeritud sekventsides arvude põhjal.

PERMANOVA nullhüpoteesideks olid: 1) sette ja vee kooslused ei erine üksteisest oluliselt; ja 2) veekogutüüpide vahelised kooslused ei erine üksteisest oluliselt. PERMANOVA mudeli funktsiooniks on hinnata permutatsioonide abil faktortunnuse mõju vaadeldavale tunnusele, mis tähendab, et esmalt arvutatakse ANOVA valemitega F-statistik algse andmestiku tabeli põhjal, seejärel tehakse läbi suur arv permutatsioone, mille käigus vahetatakse vaatlustega seotud faktorid juhuslikult ära ning kalkuleeritakse uus F-statistik; kui permutatsioonide käigus saadav F-statistik on sarnane algse F-statistikuga, siis kehtib nullhüpotees; kui permutatsioonidega saadud F-statistik on suurem kui algne, siis nullhüpotees ei kehti (Anderson, 2005). PERMANOVA viidi läbi Bray-Curtis meetodiga arvutatud distantsimaatriksi peal ehk PERMANOVA tulemused näitavad, kas võrreldavate faktortunnustega (proovitüübid, veekogutüübid) proovide koosluste omavahelised distantsid on statistiliselt olulised.

PERMANOVA p-väärtus tuleb valemiga:

$$P = \frac{(No. of F^{\pi} \geq F) + 1}{(Total no. of F^{\pi}) + 1}$$

kus „No. of $F^{\pi} \geq F$ ” on permutatsioonidega saadud F-statistikute, mis on suuremad või võrdsed algse F-statistikuga, arv ja „Total no. of F^{π} ” on permutatsioonidega saadud F-statistiku koguarv (Anderson, 2005).

PERMANOVA tulemuste kalkuleerimiseks kasutati *microViz* funktsiooni *dist_permanova()*, kasutades seemne väärtuseks arvu 1234. Permutatsioone viidi läbi 999. Koosluste võrdluste alapeatükis 2.3.3 ja lisa 5-16 all olevate taksonite osakaalude tulpdiaagrammides on proovid järjestatud üksteisele sarnasuse alusel Bray-Curtis distantsimaatriksi järgi.

Enim erinevates proovides esinenud liikide jaotust sette- ja veeproovide vahel võrreldi Fisherit täpse testiga, mille jaoks tehti iga liigi kohta 2x2 sagedustabel. Sagedustabeli veerudeks olid proovitüübid ja esimeses reas oli välja toodud seda liiki sisaldavate proovide arv mõlemas tüübis. Teises reas olid seda liiki mitte sisaldavate proovide arvud mõlemas tüübis. Fisherit täpset testi teostati paketi *stats* funktsiooniga *fisher.test()*.

Joonised on koostatud erinevate R pakettidega. Alapeatükis 2.3.1.1 olevad tulpdiagrammid ja 2.3.2.2-2.3.2.3 karpdiagrammid on tehtud paketiga *ggplot2* (Wichkam jt., 2016). Kõikide

veekogude proovide Shannon-Wiener indeksite joonise jaoks kasutati `phyloseq` funktsiooni `plot_richness()`. Mittemeetrilise mitmemõõtmelise skaleerimise (ingl k *Non-metric multidimensional scaling*; NMDS) ordinatsiooni jooniste tegemisel on kasutatud `microViz` paketi funktsiooni `ord_explore()`, taksonite sekventside osakaalude tulpdiaagrammide jaoks kasutati `microViz` paketi funktsiooni `comp_barplot()`, mis toetub pakettidele `ggplot2` ja `Patchwork` (Pedersen, 2024).

2.3 Tulemused

2.3.1 Kirjeldav ülevaade

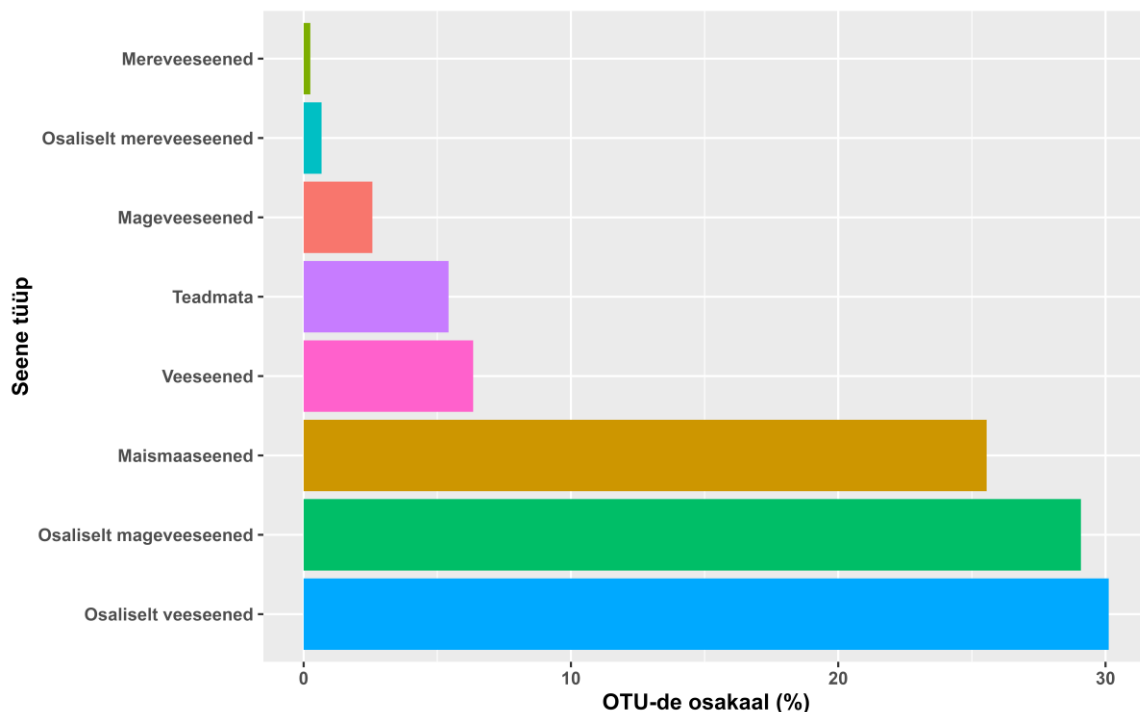
Analüüsitud 66 veekogude proovist (66 setet, 63 veeproovi) jäi valimisse 63 sette- ja 56 veeproovi. Kaliküla karjäärast, Kunda lahest ja Uhtjärvest analüüsiti vaid setteproovid. Valimist jäeti välja proovid, kust ei tuvastatud ühtegi seene sekvensi: Kihnu madala mõlemad proovid, Kääriku ja Harku järve, Tatra ja Võhandu jõe ning Viru ja Rae raba veeproovid. Setteproovidest jäid välja Paadrema jõe ja Aru-Lõuna lubjakivikarjääri proovid. Seene sekvenside täielik puudumine nimetatud proovidest võib olla põhjustatud esinevatest keskkonnaproovides esinevatest reaktsiooni inhibiitoritest.

Kõikidest proovidest tuvastati kokku 9095 seene OTU-t. Hõimkonna tasemel polnud võimalik tuvastada 52 OTU-t. Vähemalt 10-s proovis esinevaid OTU-sid oli 44, ükski OTU ei esinenud enam kui 35-s proovis ning 7719 OTU-t ei esinenud rohkem kui ühes proovis. Veeproovidest tuvastati 1976 ja setteproovidest 7546 OTU-t. Kokku tuvastati proovidest 22 erinevat seenehõimkonda, 75 klassi, 166 seltsi, 354 sugukonda, 739 perekonda ja 1048 liiki. Perekonna tasemel polnud võimalik identifitseerida 4742 OTU-t. Setteproovidest leiti 21 erinevat seenehõimkonda, 70 klassi, 148 seltsi, 278 sugukonda, 524 perekonda ja 624 liiki. Veeproovidest leiti 18 erinevat seenehõimkonda, 54 klassi, 125 seltsi, 259 sugukonda, 496 perekonda ja 633 liiki. Enim esindatud hõimkonnad olid OTU-de arvu poolest olid kõikides proovides kokku *Ascomycota* (ca 44,02%), *Rozellomycota* (ca 27,27%), *Chytridiomycota* (ca 13,52%) ja *Basidiomycota* (7,59%). *Rozellomycota* hõimkonnast polnud võimalik tuvastada ühtegi OTU-t sugukonna tasemel.

Seltsidest olid suurima sekvenside arvuga *Sordariales* (12008 sekvensi), *Microascales* (7503), *Eurotiales* (7495), *Helotiales* (7287) ja *Phomatosporales* (6774). Setetes ja veeproovides kokku oli suurima tuvastatud liikide arvuga selts oli *Pleosporales* (139 liiki), millele järgnesid *Agaricales* (110), *Hypocreales* (92), *Helotiales* (84) ning *Diaporthales* ja *Eurotiales* (mõlemas 35 liiki). Setteproovides olid suurimate liikide arvudega seltsid *Pleosporales* (90 liiki), *Helotiales* (60), *Agaricales* (55), *Hypocreales* (55) ja *Sordariales* (27) ning veeproovides *Pleosporales* (83), *Agaricales* (66), *Hypocreales* (62), *Helotiales* (41) ja *Daporthales* (28).

2.3.1.1 Tuvastatud seeneperekondade ökoloogiline ülevaade

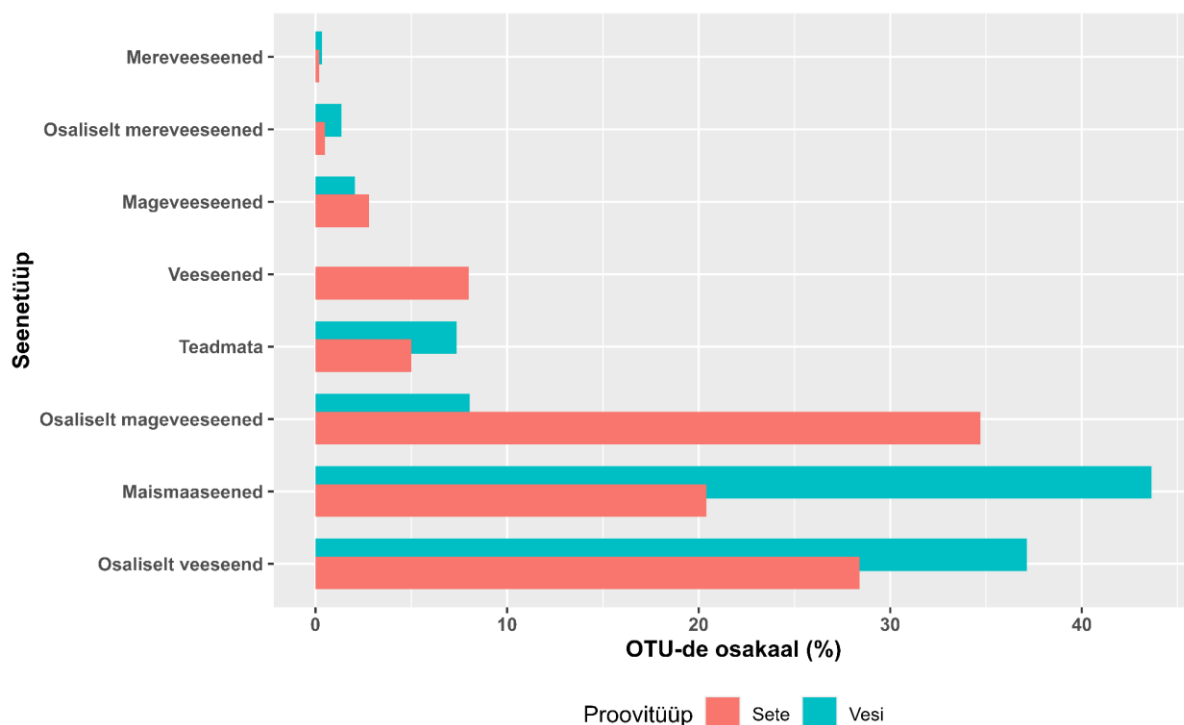
Suurimate sekventsides arvuga perekonnad olid *Schizothecium* (7559 sekventsi), *Penicillium* (7399), *Natantispora* (7150), *Phomatospora* (6766) ja *Rhodospordiobolus* (2970). Kõikidest tuvastatud perekondadest oli FungalTraits andmebaasis informatsiooni 711 kohta. Täielikult veelise eluviisiga perekondi oli 30, millest 21 elavad mage- ja 6 mereveekogudes. Osaliselt veekeskonnas elavaid perekondi oli 248, millest 72 olid osaliselt mageveekogude ja 13 mereveekogude seened. Eelmainitud viiest suurimate sekventsides arvuga perekondadest on *Natantispora* täielikult ja ülejäänud neli osaliselt veelise eluviisiga. Perekonna tasemel identifitseeritud OTU-dest (4353) moodustasid osaliselt veekeskonnas ja osaliselt mageveekeskonnas elavad seened kumbki ligikaudu kolmandiku (joonis 1). Maismaaseente hulka kuulus ligikaudu veerand tuvastatud perekondadest.



Joonis 1. Tuvastatud seeneperekondade tüüpide OTU-de osakaalud protsentides. Tuvastatud perekondade rühma „Teadmata” alla kuuluvad perekonnad, mille kohta informatsioon puudus. Rühma „veeseened” alla kuuluvad seeneperekonnad, mille puhul pole täpsustatud veekogutüüpi. Rühmad „Osaliselt mageveeseened”, „Osaliselt mereveeseened” ja „Osaliselt veeseened” on osaliselt maismaa seeni sisaldavad perekonnad.

Setetes osutusid enimlevinuks seeneperekonnad, kuhu kuuluvad osaliselt veelise eluviisiga seened (34,7% OTU-dest) ning veeproovides oli kõige suurema osakaaluga grupiks maismaaseened (43,65%) (joonis 2). Siiski olid maismaaseened mõlemas proovitüübis

vähemuses, sest kõik veeseene tüübid kokku moodustasid setteproovides ca 79,6% ja veeproovides ca 56,4% kõikidest perekonna tasemel tuvastatud OTU-dest.



Joonis 2. Sette- ja veeproovides tuvastatud seeneperekondade erinevate seenetüüpide OTU-de osakaal protsentides. Teadmata alla kuuluvad perekonnad, mille kohta informatsioon puudus. Rühma „veeseened” alla kuuluvad seeneperekonnad, mille kohta pole täpsustatud veekogutüüpi. Rühmad osaliselt mage-, mere- ja veeseened moodustavad seeneperekonnad, mis on osaliselt maismaaseened.

Primaarse ökoloogilise funktsiooni poolest oli suurim hulk perekondi puidu saprotroofid (137 perekonda), millele järgnesid taimede patogeenid (134), lehe saprotroofid (127), mulla saprotroofid (69) ja täpsustama saprotroofid (tabel 1). Suurim hulk OTU-sid on puidu saprotroofid (25,95% OTU-dest), järgnevad sõnniku (20,77%) ja lehe (19,36%) saprotroofid. Veeproovides olid suurima osakaaluga taimede patogeenid (15,95%), millele järgnesid lehe (13,98%) ja puidu saprotroofid (13,55%). Veeproovides ei leidunud ühtegi FungalTraits andmebaasi järgi olevat AM seent. Setetes olid suurima levikuga samade funktsioonidega perekonnad, mis üldiseltki: puidu saprotroofid moodustasid 29,46%, sõnniku saprotroofid 25,81% ja lehe saprotroofid 17,07% tuvastatud seeneperekondade OTU-dest (tabel 1).

Tabel 1. Tuvastatud seeneperekondade primaarsed ökoloogilised funktsioonid koos neid funktsioone omavate perekondade arvudega ning OTU-de osakaaludega kõikides proovides kokku ning vees ja settes eraldi.

Primaarne ökoloogiline funktsioon	Perekondade arv	Osakaal (%)	OTU-de osakaal (%)	OTU-de osakaal vees (%)	OTU-de osakaal settes (%)
Puidu saprotroofid	137	18.54	25.95	13.55	29.45
Taime patogeenid	134	18.13	8.15	15.95	6.79
Lehe saprotroofid	127	17.19	16.36	13.98	17.07
Mulla saprotroofid	69	9.34	5.86	10.38	4.76
Täpsustamata saprotroofid	52	7.04	4.96	11.84	2.9
Ektomükoriissed	32	4.33	3.79	9.52	1.71
Nektari saprotroofid	26	3.52	2.92	9.26	0.78
Seente parasiidid	22	2.98	1.91	2.83	1.74
Looma parasiidid	20	2.71	1.17	2.32	0.84
Sõnniku saprotroofid	18	2.44	20.77	2.14	25.81
Õietolmu saprotroofid	12	1.62	1.29	1.37	1.25
Sambliku mükobiondid	11	1.49	0.28	0.77	0.09
Arbuskulaar-mükoriissed	9	1.22	0.76	0	0.96
Vetikate parasiidid	9	1.22	2.16	1.8	2.21
Lehe endofüüdid	8	1.08	0.48	0.6	0.55
Epifüüdid	7	0.95	0.23	0.51	0.15
Sambliku parasiidid	4	0.54	0.18	0.26	0.15
Looma endosümbiondid	4	0.54	0.14	0.17	0.12
Juure endofüüdid	3	0.41	0.37	0.34	0.35
Nõgihallitusseened	2	0.27	0.16	0.17	0.2
Protistide parasiidid	2	0.27	0.05	0.09	0.03
Loomadega seostatud	1	0.14	0.02	0	0.03
Teadmata	30	4.06	2.04	2.15	2.06
Kokku	739	100	100	100	100

2.3.2 Liigirikkus

2.3.2.1. Liigiline mitmekesisus

Setetest tuvastati enim erinevaid liike Ruhijärves (94 liiki), Löwenruh pargi tiigis (91), Tatra jões (89), Elistvere järves (78) ja Kunda jões (72). Rätsepa ja Viljandi järve ning Ahijärve setetest leiti kõigest vaid 1 liik. Veeproovidest oli liigirikkaim Mäeküla järve proov (441), mille liikide arv oli kordades kõrgem kõikidest teistest proovidest. Mäeküla järve veest leitud liikidest ei esinenud 358 üheski teises veeproovis ning 287 üheski setteproovis. Mäeküla järvele järgnesid Pühajärv (49), Pakri laht (47), Puhtulaiu rand (38), Emajõgi (30) ja Rõuge Suurjärv (28). Liigitasemel ei identifitseeritud ühtegi OTU-t Elistvere ja Pangodi järve ning Elva jõe veeproovides.

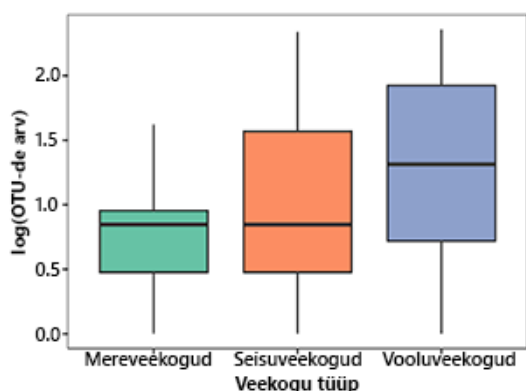
Pärast hõrendamise käigus madala sekventsides arvuga proovide eemaldamist jäi valimisse 86 erinevat proovi. Suurima alfamitmekesisusega olid setteproovid järgnevatest veekogudest: Elistvere järv ($H' = 3,531$), Võhandu jõgi (3,520), Pärka oja (3,519) ja Kaali järv (3,486). Veeproovidest oli kõrgeim alfamitmekesisus Pakri lahes (3,294), Mäeküla järves (3,196) ja Emajões (3,163). Madalaima alfamitmekesisusega proovid olid Pärka oja vesi (0), Pakri lahe sete (0,098), Aru-Lõuna lubjakivikarjääri (0,098) ja Puhtulaiu ranna (0,196) vesi ning Soela väina sete (0,362). Suurim erinevus ühe veekogu vee ja sette alfamitmekesisuse vahel oli Pärka ojas (3,519 settes ja 0 vees), Pakri lahes (0,098; 3,295) ja Puhtulaiu rannas (3,135; 0,196). Madalaim erinevus ühe veekogu mõlema proovi alfamitmekesisuse vahel oli Haage järves (3,045; 3,066), Kuressaare lahes (2,789; 2,887) ja Emajões (2,983; 3,163). Kõikide proovide alfamitmekesisuse kohta on välja toodud joonis lisa 4 all.

2.3.2.2 Sette ja vee liigirikkuse võrdlemine

Pärast sobimatute proovide eemaldamist jäi T-testi valimisse 34 sette- ja veeproovi paari. Keskmiseks OTU-de arvaks oli setetes 13,583 ja vees 4,977. Standardhälve (SD) oli setetes 3,972 ja vees 3,184. T-testi tulemustest selgus, et liigirikkus sette- ja veeproovide vahel oli oluliselt erinev (T-statistik = 3,196, $df = 33$, $p < 0,01$).

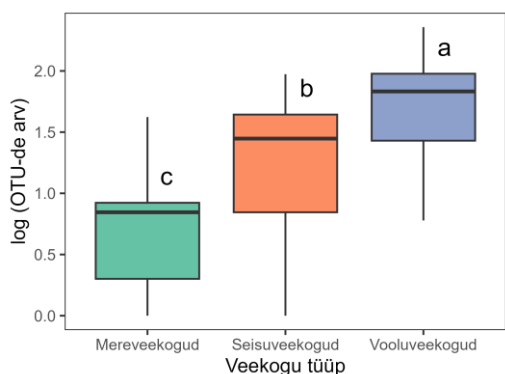
2.3.2.3 Liigirikkuse võrdlemine veekogutüübi

ANOVA valimisse jäi pärast sobimatute proovide eemaldamist 52 sette- ja 40 veeproovi. Seisuveekogudest oli proove valimis 59, mereveekogusid 21 ja vooluveekogusid 18. Keskmine OTU-de arv oli kõrgeim vooluveekogudes (19,099, $SD = 4,955$), millele järgnesid seisuveekogud (8,57, $SD = 4,529$) ja mereveekogud (5,284, $SD = 2,786$) (joonis 3).



Joonis 3. Karpdiagramm iga veekogutüübi keskmise OTU-de arvu kohta logaritmilisel skaalal.

Plokitud ANOVA-ga võrreldi liigirikkust erinevate veekogutüüpide vahel ja tulemustest selgus, et veekogutüüpide liigirikkuses olulisi erinevusi ei esinenud ($F = 1,734$, $df = 2$, $p > 0,1$). Sette- ja veeproovide siseselt teostati plokkimata ANOVA. Setteproovide analüüsi jäi 35 proovi seisuveekogudest ning 11 proovi nii mere- kui ka vooluveekogudest; veeproovide analüüsi jäi 24 seisu-, 10 mere- ja 7 vooluveekogu. Tulemustest selgus, et setete puhul on liigirikkus oluliselt erinev veekogutüüpide vahel ($F = 8,238$, $df = 2$, $p < 0,01$), kuid veeproovide puhul liigirikkuses olulist erinevust ei esinenud ($F = 0,126$, $df = 2$, $p > 0,1$). Setteproovides olid suurima keskmise OTU-de arvuga vooluveekogud (50,699, $SD = 2,891$), järgnesid seisuveekogud (16,943, $SD = 4,036$) ning madalaim keskmine OTU-de arv oli mereveekogudes (5,212, $SD = 3,54$). ANOVA-le järgnes Tukey-Kramer *post-hoc* test setteproovide peal, et välja selgitada üksteisest oluliselt erinevad veekogutüübid. Tulemustest selgus, et kõigi kolme veekogutüübi setete keskmised OTU-de arvud erinesid üksteisest oluliselt (seisu- ja mereveekogude vahelise erinevuse $p < 0,05$, voolu- ja mereveekogude vahelise erinevuse $p < 0,001$, voolu- ja seisuveekogude vahelise erinevuse $p < 0,05$) (joonis 4).



Joonis 4. Karpdiagramm erinevate veekogutüüpide keskmise OTU-de arvu kohta setetes logaritmilisel skaalal koos Tukey-Kramer *post-hoc* sarnasuse testi tulemustega (a, b, c), mis näitab, et kõik kolm veekogutüüpi erinesid üksteisest keskmise OTU-de arvu poolest.

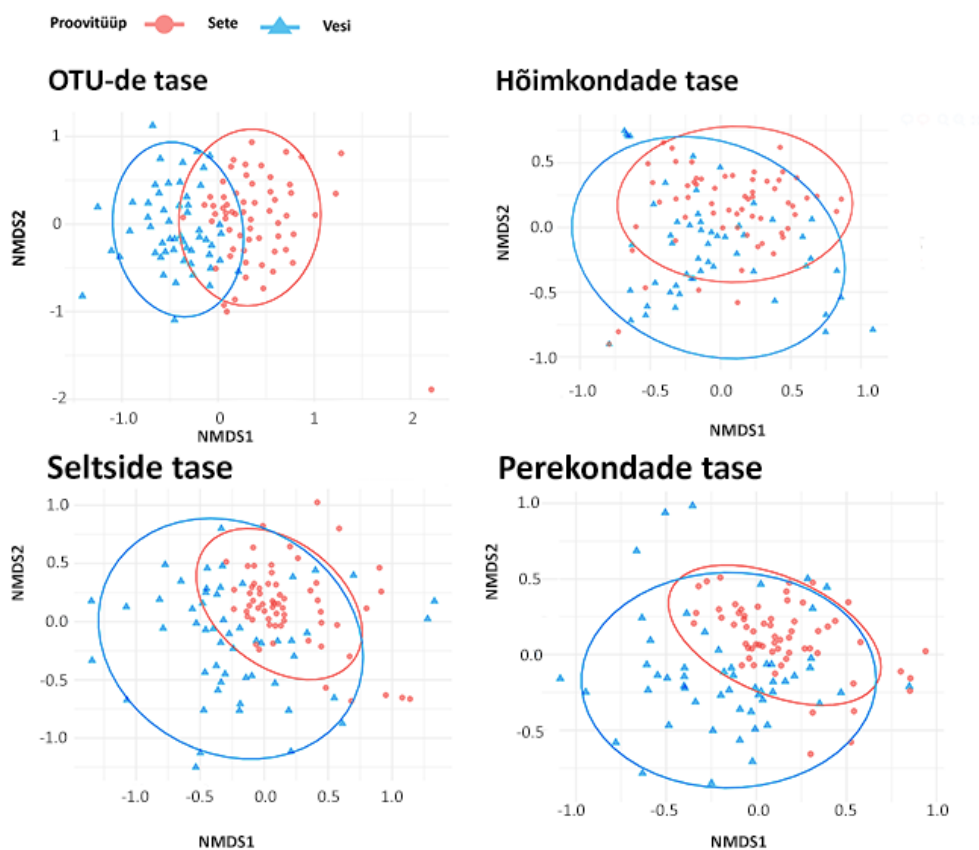
2.3.3 Seenekoosluste võrdlemine

2.3.3.1 Sette- ja veeproovide koosluste võrdlemine

PERMANOVA-ga hinnati sette- ja veeproovide koosluste erinevusi individuaalsete OTU-de, hõimkonna, seltsi ja perekonna tasandil ning kõikidel juhtudel olid kooslused üksteisest oluliselt erinevad (OTU-d: $df = 1$, $R^2 = 0,025$, $F = 2,881$, $P < 0,01$; hõimkonnad: $R^2 = 0,101$, $F = 12,756$, $p < 0,01$; seltsid: $R^2 = 0,075$, $F = 9,237$, $p < 0,01$; perekonnad: $R^2 = 0,072$, $F = 8,803$, $p < 0,01$). Kuigi koosluste vahelised erinevused said kinnituse, vaid väike osa variatsioonist oli

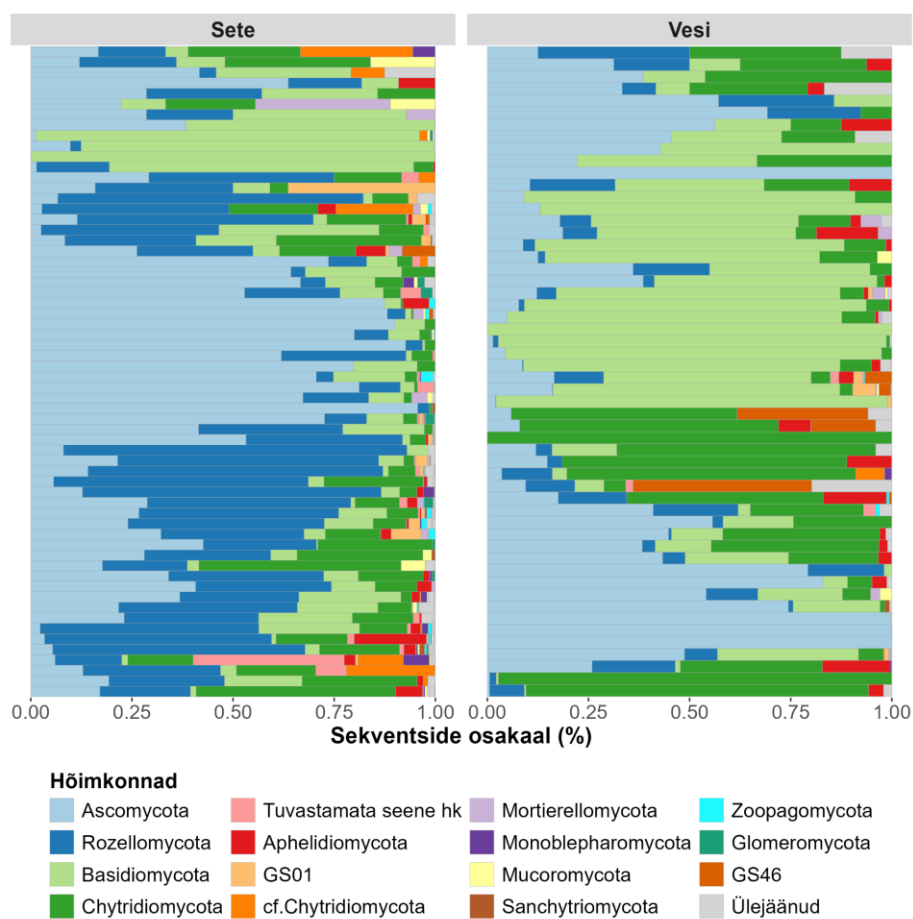
seletatav substraadi tüübiga: hõimkondadel 10,06%, seltsidel 7,50% ja perekondadel 7,12% variatsioonidest. PERMANOVA analüüsist jäeti välja Elva jõe ja Elistvere järve veeproovid ning Kõiguste lahe setteproov, sest esialgsetest NMDS ordinatsiooni graafikutest selgus, et väga madala sekventsidi arvu tõttu on tegemist väga tugevate erinditega, mis mõjutasid tulemusi. Analüüsi jäi 54 vee- ja 62 setteproovi.

NMDS ordinatsiooni joonistel (joonis 5) on näha, et võrreldes proovide koosluseid vastavalt individuaalsetele OTU-dele, on sette- ja veeproovidel vähem sarnaste kooslustega proove. Individuaalsete OTU-de tasandil on vee- ja setteproovide klastrid sarnase suurusega, kuid analüüsis koosluseid taksonoomiliste tasemete järgi tekkis erinevus: veeproovide seas on vähem üksteisele sarnaste kooslustega proove kui setteproovide seas. Seltside ja perekondade tasemel paigutuvad setteproovide klastrid hajusama veeproovide klastrite sisse. Väiksem sarnasus veeproovide koosluste vahel võib olla tingitud väiksemast tuvastatud sekventsidi arvust nendes proovides.



Joonis 5. Sette- ja veeproovide NMDS ordinatsiooni joonised. OTU-de taseme graafiku puhul on koosluseid võrreldud individuaalsete OTU-de alusel. Hõimkonna, seltside ja perekondade tasemel on võrreldud koosluseid vastavalt taksonoomilisele tasemele. Koosluste sekventsidi arvud on standardiseeritud Hellingeri transformatsiooniga ja sarnasuse distantsimaatriksid on arvutatud Bray-Curtis meetodiga.

Suurimad erinevused hõimkondade tasandil olid *Rozellomycota* sekventside suurem osakaal setteproovides ja *Basidiomycota* ning *Chytridiomycota* sekventside suurem osakaal veeproovides (joonis 6). Setteproovidest erinesid hõimkondade tasemel üksteisest enim Tallinna reid ja Ruhijärv: Ruhijärves moodustas *Ascomycota* ca 90% sekventsidest, kuid Tallinna reidis kuulus sellesse hõimkonda ligikaudu 20% sekventsidest, samas suurima osakaaluga oli hõimkond *Mortierellomycota* (30% sekventsidest). Veeproovidest olid suurimad erinevused Puhtulaiu ranna ja Soela väina proovides: Puhtulaiu rannas kuulus ca 95% sekventsidest hõimkonda *Basidiomycota*, Soela väinas hõimkonda *Chytridiomycota* (ca 50% sekventsidest), millele järgnes hõimkonna tasemel kirjeldamata takson GS46 (ca 30%). Lisades 5 ja 6 on esitatud sette- ja veeproovide 15 enimlevinud hõimkondade sekventside osakaalude tulpdiagrammid.

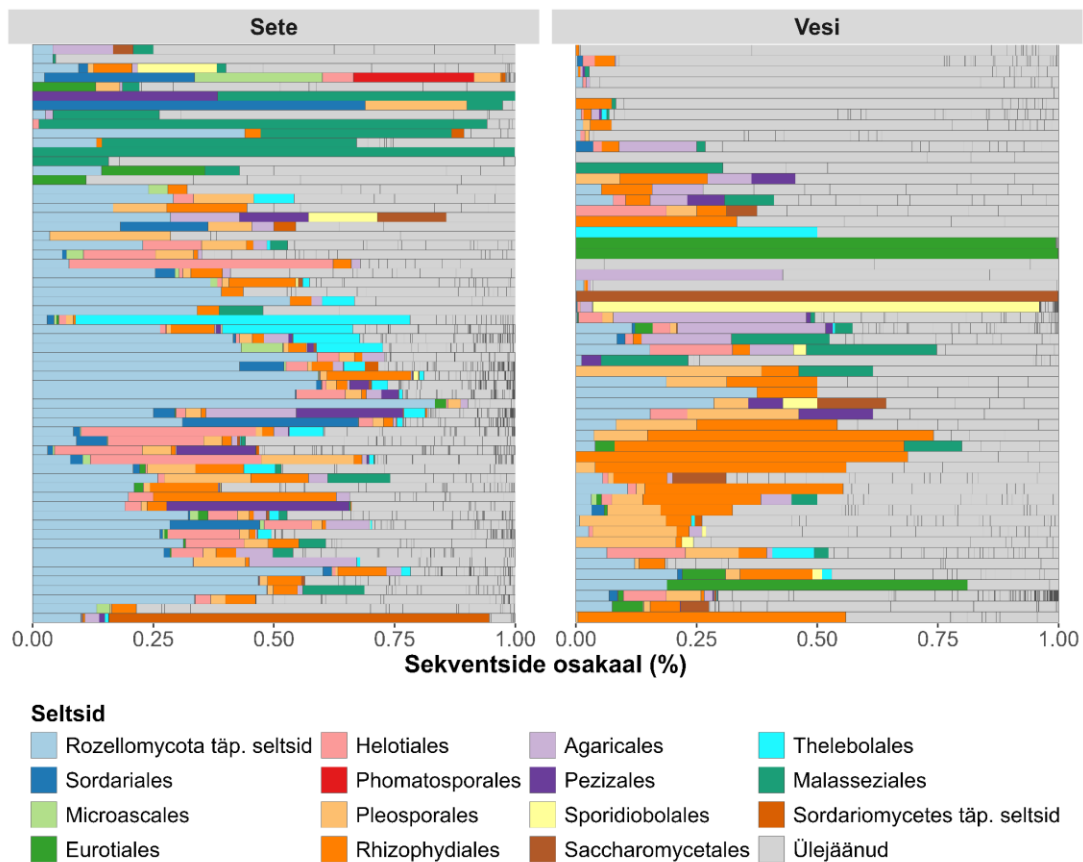


Joonis 6. 15 enim sette- ja veeproovides kokku levinud hõimkondade sekventside protsentuaalsed jaotused proovides. hk - hõimkonnad.

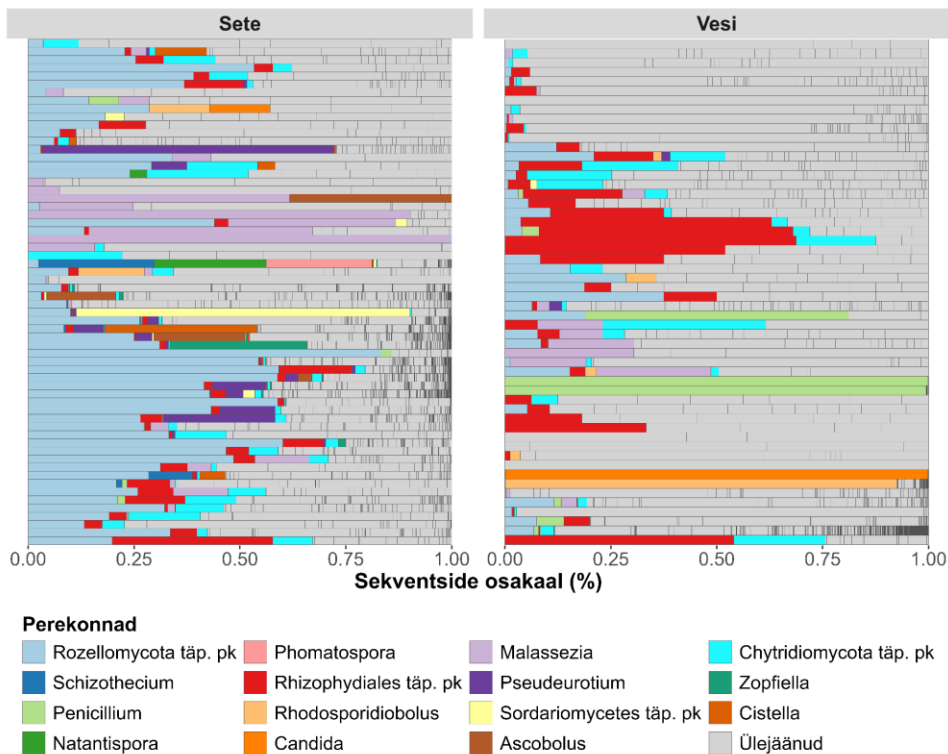
Seltside tasemel on vähemlevinud sekventside osakaal proovides suurem ning enimlevinud seltsid proovitüüpide vahel ei kattu (joonis 7). Setetes oli suurima osakaaluga *Rozellomycota*

täpsemalt identifitseerimata sekvensid (24,1% sekvensidest), veeproovides aga *Tremellales* (14,1%), mida setteproovides praktiliselt üldse ei esinenud. Setetes järgnesid *Malasseziales* (7,5%) ja *Helotiales* (4,8%), ning vees *Rhizophydiales* (11,1%) ja *Eurotiales* (3,3%). Mõlemad seltside paarid esinesid enimlevinud seltside seas ka teises proovitüübis kuid väiksemas koguses. Setetest erinesid üksteisest enim Õunaku laht, kus oli üksiti kõikide setteproovide lõikes suurim *Serinales* sekvenside osakaal (ca 75%), ning Rõuge kalatiik, kus selget domineerivat hõimkonda polnud, kuid täpsustamata *Rozellomycota* ja *Thelebolales* moodustasid mõlemad ligikaudu 25% sekvensidest. Setetest tuleb esile ka Pakri laht, kus pea kõik sekvensid moodustas *Malasseziales*, ja Pangodi järv, kus *Glomerellales* moodustas ca 80% sekvensidest. Veeproovidest erinesid üksteisest enim Kangruaadu järv, kus *Eurotiales* moodustas pea kõik sekvensid, ja Paljassaare laht, kus suurima osakaaluga oli *Polyporales* (ca 50%), millele järgnes *Tremellales* (ca 35%). Aru-Lõuna lubjakivikarjääris moodustas *Eurotiales* samuti peaaegu kõik sekvensid. Soela väin oli veeproovidest erindiks, sest seal ei esinenud ühtegi veeproovides enimlevinud seltsi: kõik tuvastatud OTU-d kuulusid *Mycosphaerellales* ja täpsemalt tuvastamata GS46 OTU-de alla. Lisa 7 ja 8 all on välja toodud vastavalt sette- ja veeproovide 15 enimlevinud seltside sekvenside osakaalude kohta tulpdiagrammid.

Ka perekondade tasemel oli sette ja vee vahel erinevusi. Veeproovide puhul on märgata, et nendes on suurem osakaal väikse levikuga perekondi (joonis 8). Setetes oli enimlevinuks ka siin täpsemalt identifitseerimata *Rozellomycota* OTU-d (24,1% sekvensidest), millele järgnesid *Malassezia* (7,4%) ja täpsustamata *Chytridiomycota* OTU-d (3,6%). Veeproovides oli suurima osakaaluga *Vishniacozyma* (13,5%), täpsustamata *Rhizophydiales* OTU-d (10,3%) ja *Penicillium* (5,1%). *Vishniacozyma* ja *Penicillium* olulisel suurel määral setetes ei esinenud. Setetest erinesid üksteisest enim Tatra jõgi (*Rozellomycota* ca 30%, *Ascobolus* ca 20%, *Tulosesus* ca 15% sekvensidest) ja Ariste laht (domineerivaks *Pseudeurotium*, ca 65%). Veeproovidest erinesid üksteisest enim Liimala rand (täpsustamata *Rhizophydiales*: ca 25%, täpsustamata *Rozellomycota* ja *Sphaerulina*: ca 10% sekvensidest). Puhtulaiu rand tuleb esile kõrge *Rhodospordiobolus* osakaaluga (ca 85 %), Pärka ojas moodustas *Candida* ning Kangruaadu järves ja Aru-Lõuna lubjakivikarjääris *Penicillium* pea kõik sekvensid. Rõuge kalatiigis ei tuvastatud ühtegi veeproovides enimlevinud perekonda. Lisa 9 ja 10 all on välja toodud vastavalt sette- ja veeproovide 15 enimlevinud perekondade sekvenside osakaalude kohta diagrammid.



Joonis 7. 15 enim sette- ja veeproovides levinud seltside sekventside protsentuaalsed osakaalud proovides. täp. seltsid - seltside tasemel identifitseerimata OTU-d.



Joonis 8. 15 enim sette- ja veeproovides levinud perekondade sekventside protsentuaalsed osakaalud proovides. täp. pk - perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

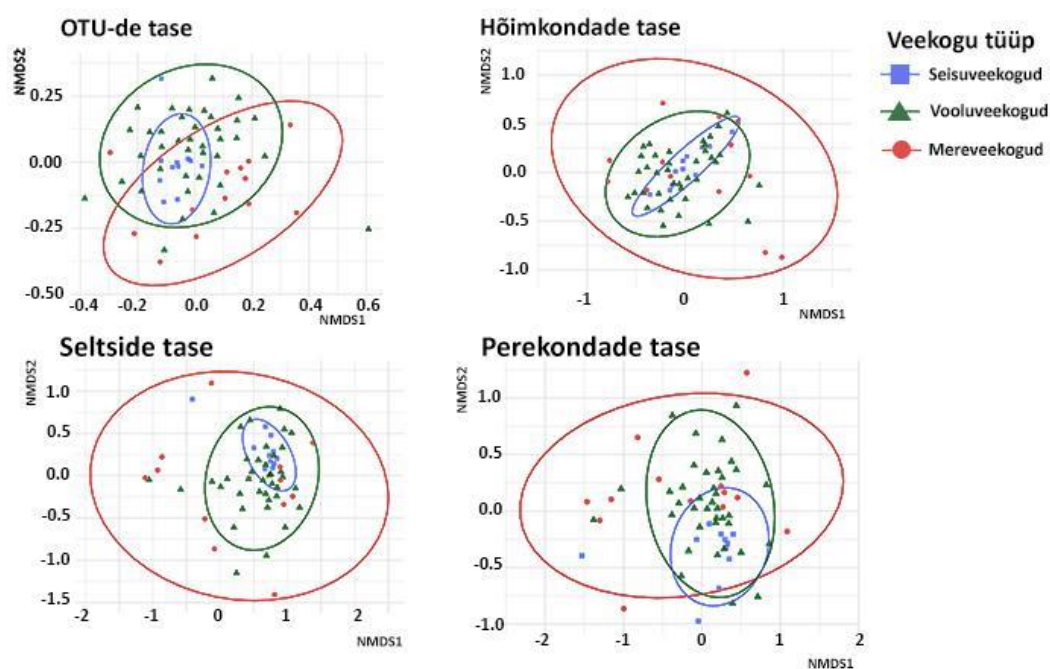
Tuvastatud liikidest kattus sette- ja veeproovide vahel 209. Sette- ja veeproovides oli vastavalt 415 ja 424 liiki, mida teises proovitüübis ei esinenud.

2.3.3.2 Veekogutüüpide koosluste omavaheline võrdlemine

2.3.3.2.1 Veekogutüüpide kooslused setetes

Setete PERMANOVA valimisse jäi 38 seisu-, 11 voolu- ja 13 mereveekogu. PERMANOVA analüüsi tulemustest selgus, et erinevate veekogutüüpide setete kooslused erinesid üksteisest oluliselt nii individuaalsete OTU-de ($df = 2$, $R^2 = 0,058$, $F = 1,816$, $P < 0,05$), hõimkondade ($R^2 = 0,084$, $F = 2,709$, $P < 0,05$), seltside ($R^2 = 0,07$, $F = 2,34$, $P < 0,05$) kui ka perekondade ($R^2 = 0,058$, $F = 1,816$, $P < 0,05$) tasemel.

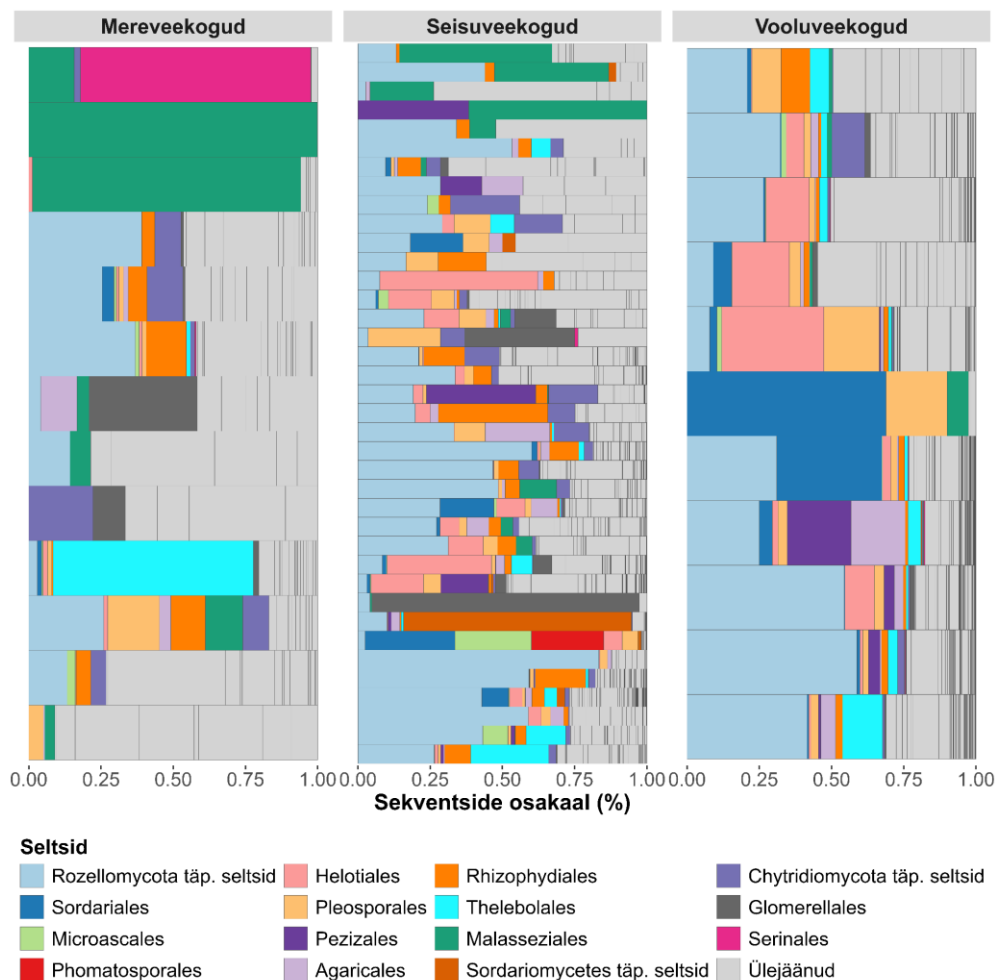
NMDS ordinatsiooni joonistel (joonis 9) ilmneb, et võrreldes veekogude koosluseid nii individuaalsete OTU-de, hõimkondade, seltside ja perekondade tasemel, olid seisuveekogud madalaima ja mereveekogud suurima koosluste varieerumisega.



Joonis 9. Seisu-, voolu- ja mereveekogude setete koosluste NMDS ordinatsiooni joonised. OTU-de taseme graafiku puhul on koosluseid võrreldud individuaalsete OTU-de alusel. Hõimkonna, seltside ja perekondade tasemel on võrreldud koosluseid vastavalt taksonoomilisele tasemele. Koosluste sekventsidi arvud on standardiseeritud Hellingeri transformatsiooniga ja sarnasuse distantsimaatriksid on arvutatud Bray-Curtis meetodiga.

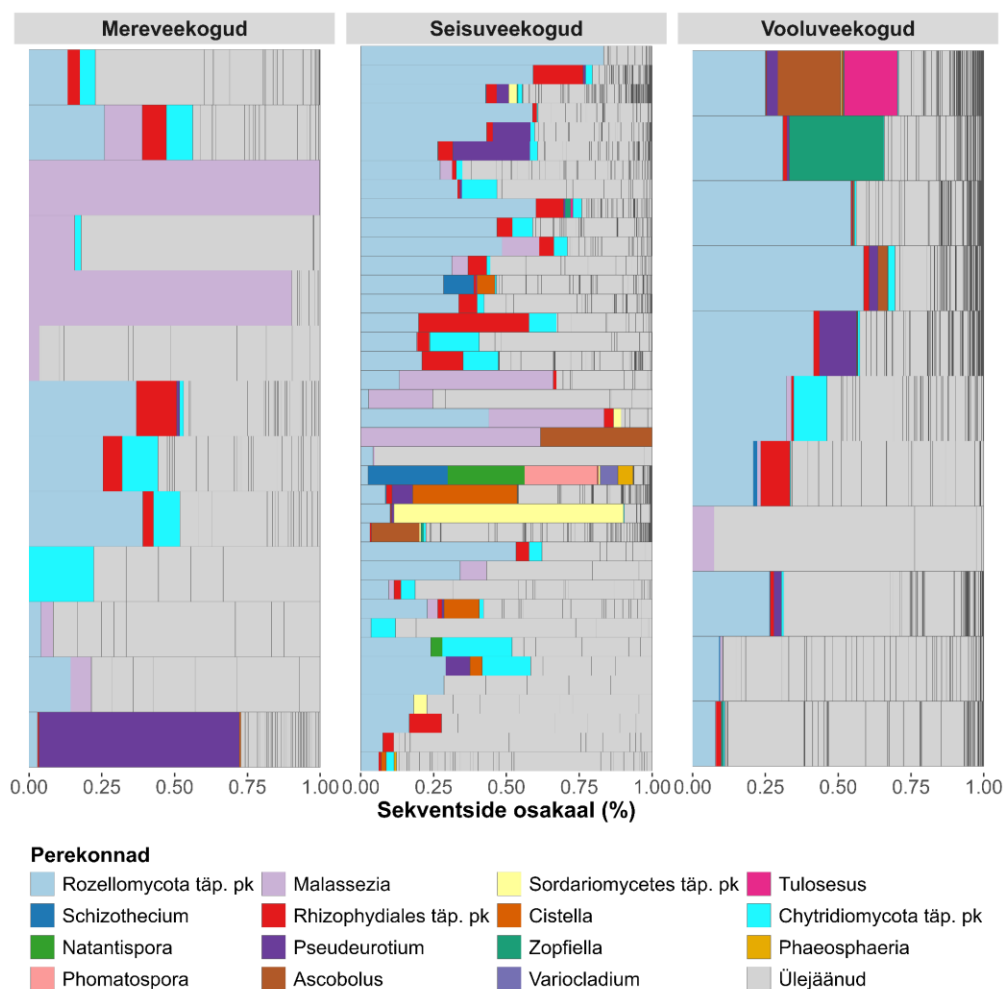
Suurima osakaaluga hõimkond kõigis kolmes veekogutüübis oli *Ascomycota*, mis moodustas seisuveekogudes 32,3%, vooluveekogudes 48% ja mereveekogudes 31,9% sekventsides. Seisu- ja vooluveekogudes järgnes *Rozellomycota* (vastavalt 32,3% ja 35,3% sekventsides) ning mereveekogudes *Basidiomycota* (25,7%).

Seltside tasemel olid suurima osakaaluga nii seisu- kui ka vooluveekogudes täpsemalt identifitseerimata *Rozellomycota* OTU-d (vastavalt 27% ja 27,9% sekventsides). Seisuveekogudes järgnesid *Malasseziales* (5,6%), *Helotiales* (6,3%), *Rhizophydiales* (4,9%) ja *Glomerellales* (4,2%) ning vooluveekogudes *Sordariales* (11,2%), *Helotiales* (8,5%), *Pleosporales* (6,5%) ja *Hypocreales* (3,6%). Mereveekogudes olid suurima osakaaluga *Malasseziales* (18,2%), täpsemalt identifitseerimata *Rozellomycota* OTU-d (12,5%), *Serinales* (6,2%) ja *Thelebolales* (5,4%) (joonis 10).



Joonis 10. Mere-, seisu- ja vooluveekogude setetes 15 enimlevinud seltside sekventsides protsentuaalsed osakaalud. täp. seltsid - seltside tasemel identifitseerimata OTU-d.

Perekondade tasemel on suurenenud vähemlevinud OTU-de arv (joonis 11). Seisu- ja vooluveekogudes oli taas suurima osakaaluga täpsemalt identifitseerimata OTU-dega *Rozellomycota* (vastavalt 27% ja 27,9% sekventsides). Seisuveekogudes järgnesid *Malassezia* (5,6%) ja täpsustamata *Rhizophydiales* (4%) sekvents. Vooluveekogudes olid osakaalult järgmised *Pseudorhizophila* (6,34%) ja täpsustamata *Pisorisporiaceae* OTU-d (3,3%). Mereveekogudes oli suurima osakaaluga *Malassezia* (18%), täpsustamata *Rozellomycota* sekvents (12,5%) ja *Babjeviella* (6,1%).

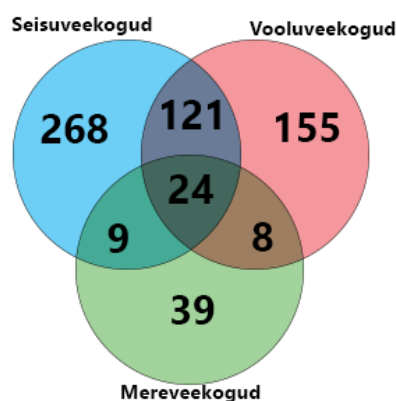


Joonis 11. Mere-, seis- ja vooluveekogude setetes 15 enimlevinud perekondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud. täp. pk - perekondade tasemel identifitseerimata OTU-d.

Perekondade poolest olid seisuveekogudest üksteisest enim erinevate kooslustega Uhtjärvi, kus täpsustamata *Rozellomycota* OTU-d moodustasid ca 85% sekventsides, ja Tüdre järv, kus *Rozellomycota* täpsemalt identifitseerimata OTU-d moodustasid ca 10% ja vooluveekogude enimlevinud perekondade hulka mittekuuluvad taksonid ca 80% sekventsides (lisa 11). Vooluveekogudest erinesid üksteisest enim Elva jõgi, kus suurima

osakaaluga oli *Pseudorhizophila* (ca 70% sekventsides) ja Tatra jõgi, kus domineerivat perekonda polnud, aga suurima osakaaluga olid täpsustamata *Rozellomycota* OTU-d (ca 25%) ja *Clavariopsis* (ca 20%) sekventsides (lisa 12). Mereveekogudest olid suurimad erinevused Õunaku lahe ja Paljassaare lahe vahel. Õunaku lahes moodustas ca 85% sekventsides *Babjevilla*. Paljassaare lahes oli võrdlemisi mitmekesine kooslus: 10 enim mereveekogudes levinud taksonit moodustasid kokku ca 90% sekventsides. Mereveekogudest tulevad esile lisaks Tallinna reid, mille proovis oli suurim täpsustamata *Chytridiomycota* OTU-de osakaal (ca 25%), ja Ariste laht, kus oli suurim osakaal *Pseudeurotium* sekventse (ca 60% sekventsides) (lisa 13).

Kõigi kolme veekogutüübi vahel kattuvaid liike oli 24 (joonis 12). Vaid ühes veekogutüübis esinenud liikide arv oli suurim seisuveekogudes (268 liiki) ja madalaim mereveekogudes (39). Enim oli kattuvaid liike seisu- ja vooluveekogude vahel (121).



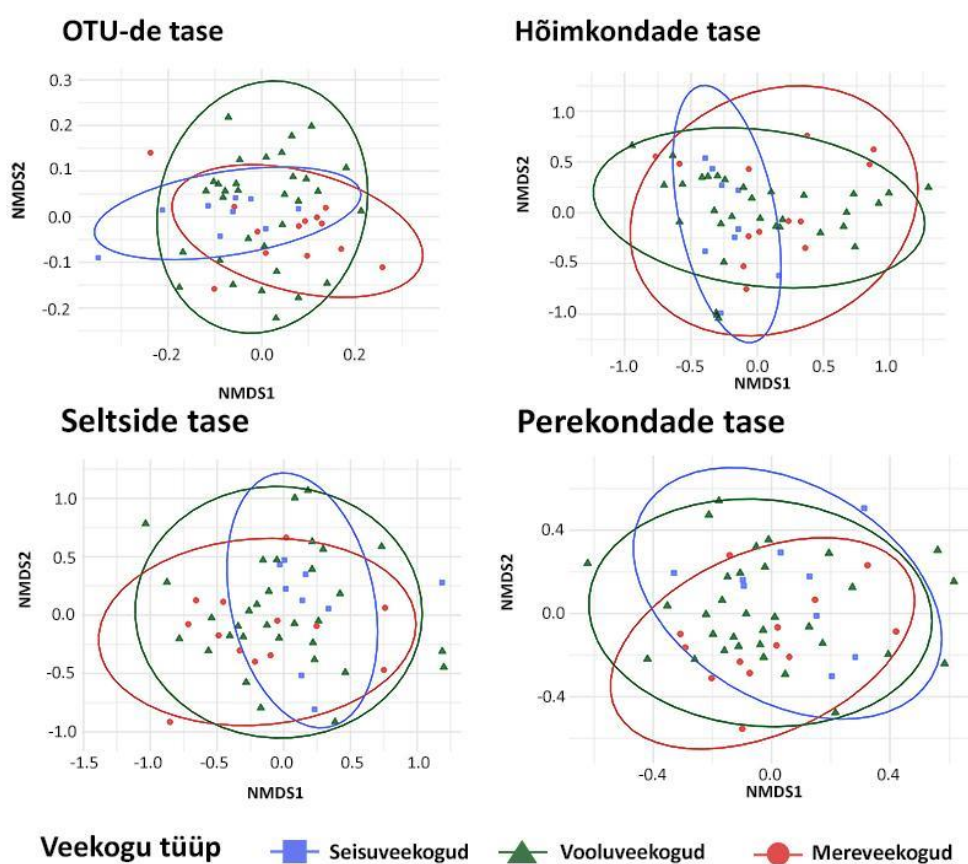
Joonis 12. Venn diagramm seisu-, voolu- ja mereveekogude setete kattuvate liikide arvude kohta.

2.3.3.2.2 Veekogutüüpide kooslused vees

Veeproovide PERMANOVA valimisse jäi 32 seisu-, 9 voolu- ja 13 mereveekogu. PERMANOVA analüüsi tulemustest selgus, et veekogutüüpide koosluste vahel ei esinenud olulisi erinevusi OTU-de ($df = 2$, $R^2 = 0,042$, $F = 1,106$, $p > 0,05$), hõimkondade ($R^2 = 0,044$, $F = 1,183$, $p > 0,05$), seltside ($R^2 = 0,042$, $F = 1,132$, $p > 0,05$) ja perekondade tasemel ($R^2 = 0,042$, $F = 1,106$, $p > 0,05$). Saadud tulemusi võis mõjutada veeproovides tuvastatud sekventsides arv, mis oli võrreldes setteproovidega väiksem.

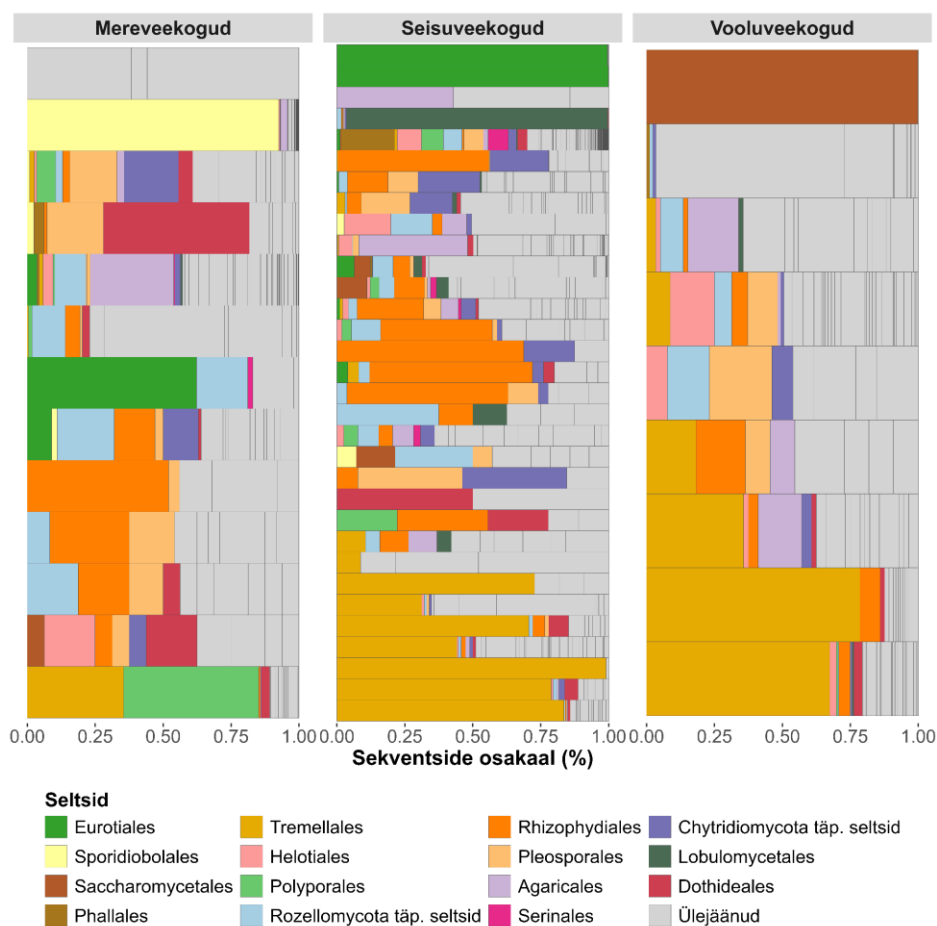
NMDS ordinatsioonide graafikutest (joonis 13) ilmneb, et individuaalsete OTU-de tasemel on vooluveekogudel suurim ning seisu- ja mereveekogudel üsna sarnane varieeruvus koosluseti. Suurim varieeruvus hõimkondade tasemel on mereveekogudel ja seltside tasemel vooluveekogudel ning mõlemal taksonoomilisel tasemel on madalaim varieeruvus seisuveekogudel. Perekondade poolt on koosluste varieeruvus kõikidel veekogutüüpidel üpriski sarnane, kuid varieeruvus on madalaim mereveekogudes ja suurim vooluveekogudes.

Suurima osakaaluga hõimkonnad olid kõigis kolmes veekogutüübis samad, kuid erineva järjekorra ja osakaaluga. Seisuveekogudes olid suurima osakaaluga hõimkonnad *Basidiomycota* (34,1% sekvensidest), *Ascomycota* (27,9%) ja *Chytridiomycota* (27,3%). Voolu- ja mereveekogudes olid enimlevinud *Ascomycota* (vastavalt 43,1% ja 32,8%), *Basidiomycota* (vastavalt 38,6% ja 24,3%) ja *Chytridiomycota* (7,7%; 20,3%).



Joonis 13. Seisu-, voolu- ja mereveekogude veeproovide koosluste NMDS ordinatsiooni graafikud. OTU-de taseme graafiku puhul on koosluseid võrreldud individuaalsete OTU-de alusel. Hõimkonna, seltside ja perekondade tasemel on võrreldud koosluseid vastavalt taksonoomilisele tasemele. Koosluste sekvenside arvud on standardiseeritud Hellingeri transformatsiooniga ja sarnasuse distantssimaatriksid on arvatatud Bray-Curtis meetodiga.

Seltside tasemel oli erinevate veekogutüüpide vahel väikseid erinevusi (joonis 14). Seisu- ja vooluveekogudes on enimlevinud seltsiks *Tremellales* (vastavalt 15,9% ja 23,6% sekvensidest). Seisuveekogudes järgnesid *Rhizophydiales* (13,3%), *Eurotiales* (6,7%) ning täpsustamata *Rozellomycota* (4,59%) ja *Chytridiomycota* (4,6%) OTU-d. Vooluveekogudes olid teised võrdlemisi suure osakaaluga seltsid *Saccharomycetales* (11,1%), *Mycosphaerellales* (7,9%), *Agaricales* (5%) ja *Malasseziales* (4,9%). Mereveekogudes olid suurima osakaaluga *Rhizophydiales* (10,6%), täpsemalt identifitseerimata GS46 OTU-d (7,6%), *Sporidiobolales* (7,5%), täpsustamata *Rozellomycota* OTU-d (7,2%) ja *Dothideales* (7%). Vaatamata eelmainitud erinevustele olid mõne teise seltsi osakaalud erinevates veekogutüüpides sarnased. Näiteks seisu- ja mereveekogudes *Rhizophydiales*, *Eurotiales* (vastavalt 6,7% ja 5,8%) ning *Agaricales* (vastavalt 3,8% ja 2,8%).



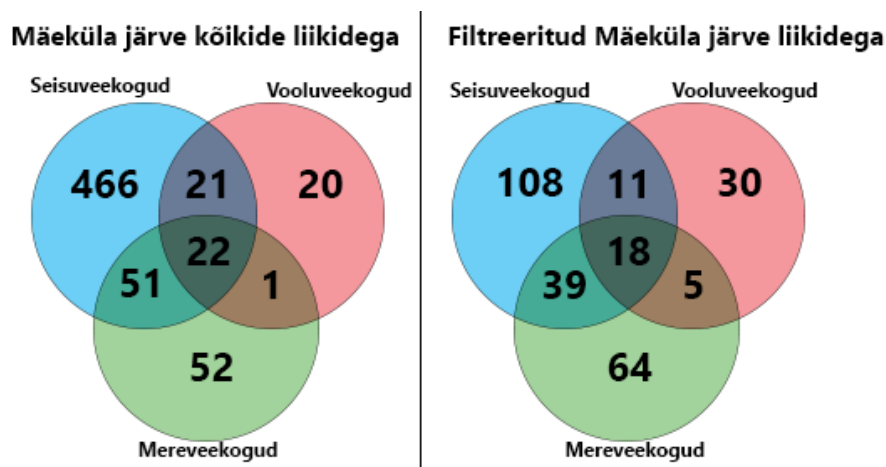
Joonis 14. Mere-, seisu- ja vooluveekogude veeproovide 15 enimlevinud seltside sekvensside protsentuaalsed osakaalud. täp. seltsid - seltside tasemel identifitseerimata OTU-d.

Sarnaselt setetele on perekondade tasemel suurenenud vähem esinevate taksonite arv (joonis 15). Perekondadest oli suurima osakaaluga seis- ja vooluveekogudes *Vishniacozyma* (vastavalt 15,4% ja 21,8% sekventsides). Seisuveekogudes järgnesid täpsustamata *Rhizophydiales* OTU-d (12,6%), *Penicillium* (6,6%), ning täpsustamata *Rozellomycota* (4,6%) ja *Chytridiomycota* (4,6%) OTU-d. Vooluveekogudes olid teised neli suurima levikuga seltsi *Candida* (11,1%), *Sphaerulina* (7,9%), *Malassezia* (4,9%) ja täpsustamata *Rhizophydiales* OTU-d (3,6%). Mereveekogudes olid suurima osakaaluga täpsustamata *Rhizophydiales* (9%) ja GS46 OTU-d (7,6%), *Rhodospiridiobolus* (7,5%), täpsustamata *Rozellomycota* OTU-d (7,2%) ja *Cladosporium* (6,3%). Seisuveekogudest erinesid üksteisest enim Aru-Lõuna lubjakivikarjäär ja Eerika tiik: Aru-Lõuna lubjakarjääris moodustas *Penicillium* pea kõik sekventsides ning Eerika tiigis moodustas ca 35% sekventsides *Vishniacozyma* (lisa 14). Vooluveekogudest olid suurimad erinevused Pärlijõe, kus *Vishniacozyma* moodustas ca 15% ja täpsustamata *Rhizophydiales* ca 20% sekventsides, ja Keila jõe vahel, kus domineerivaks hõimkonnaks oli *Vishniacozyma* (ca 65% sekventsides) (lisa 15). Mereveekogudest erinesid üksteisest enim Paljassaare lahe ja Soela väina veeproovid. Paljassaare lahes moodustas *Ganoderma* ligikaudu 50% ja *Vishniacozyma* ca 30% sekventsides. Soela väinas olid suurima osakaaluga täpsemalt identifitseerimata GS46 OTU-d (ca 35%) (lisa 16).

Kõigi kolme veekogutüübi vahel kattus 22 liiki (joonis 16). Liike, mida esines vaid ühes veekogutüübis, oli kõige rohkem seisuveekogudes (466 liiki) ja kõige vähem vooluveekogudes (20). Välistades seisuveekogude liikide hulgast need, mis esinesid ainult Mäeküla järve proovis, langes vaid seisuveekogudes esinenud liikide arv 108-le. Samuti vähenes kõigi kolme veekogutüübi vahel kattuvate liikide arv (18). Siiski, oli seisuveekogudes ka sel juhul endiselt kõrgeim (108) ja vooluveekogudes madalaim (30) kattumatute liikide arv (joonis 16).



Joonis 15. Mere-, seisu- ja vooluveekogude veeproovide 15 enimlevinud perekondade sekvensside protsentuaalsed osakaalud. täp. pk - perekondade tasemel identifitseerimata OTU-d.



Joonis 16. Venn diagrammid seisu-, voolu- ja mereveekogude veeproovide kattuvate liikide arvude kohta. Diagrammi „Mäeküla järve kõikide liikidega” puhul seisuveekogude valimis kõik Mäeküla järves tuvastatud liigid. Diagrammil „Filtreeritud Mäeküla järve liikidega” on Mäeküla järve liikide seast eemaldatud liigid, mis üheski teises seisuveekogus ei esinenud.

2.3.4 Liikide levik

Suurimate sekventsides arvuga liigid olid *Natantispora unipolaris* (7150 sekvents), *Phomatospora striatigera* (6670), *Penicillium verrucosum* (6959), *Rhodosporidiobolus mucilaginosus* (2970) ja *Candida parapsilosis* (2725). Tuvastatud liikidest esines vaid ühes proovis 670 liiki. Veeproovides olid enim esinenud liikideks *Sphaerulina polyspora* ja *Vishniacozyma victoriae*, mida esines 21 erinevas veeproovis. Neile järgnesid *Malassezia restricta* (14), *Vishniacozyma tephrensis* (13) ja *Filobasidium wieringae* (11). Setetes olid enim erinevates proovides tuvastatud liigid *Pseudeurotium hygrophilum* (23), *Malassezia restricta* (19), *Plectosphaerella populi* (17), *Pyrenochaetopsis leptospora* (15) ja *Sphaerulina polyspora* (14).

Fisherit täpse testiga hinnati, kas 15 enim erinevates proovides tuvastatud liikide arvukus erines sette- ja veeproovide vahel. Analüüsis oli 63 sette- ja 56 veeproovi. Statistiliselt oluline erinevus liigi leviku vahel esines 9 liigi puhul: *Vishniacozyma victoriae* (rohkem levinud vees), *Pseudeurotium hygrophilum* (sete), *Plectosphaerella populi* (sete), *Vishniacozyma tephrensis* (vesi), *Pyrenochaetopsis leptospora* (sete), *Patinella hyalophaea* (sete), *Cirrenalia iberica* (sete), *Filobasidium wieringae* (vesi) ja *Neobulgaria koningiana* (sete) puhul (tabel 2).

Tabel 2. Fisherit täpse testi tulemused enim erinevates proovides levinud liikida kohta. OR - odds ratio.

Liik	Setteproove	Veeproove	Kokku	p-väärtus	OR
<i>Sphaerulina polyspora</i>	14	21	35	0.074	0.479
<i>Malassezia restricta</i>	19	14	33	0.547	1.293
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	10	21	31	0.011	0.318
<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	23	3	26	3.58E-05	9.981
<i>Ganoderma oregonense</i>	11	9	20	1	1.104
<i>Plectosphaerella populi</i>	17	3	20	0.0025	6.438
<i>Vishniacozyma tephrensis</i>	6	13	19	0.0484	0.351
<i>Pyrenochaetopsis leptospora</i>	15	3	18	0.005	5.45
<i>Patinella hyalophaea</i>	13	2	15	0.006	6.795
<i>Aureobasidium pullulans</i>	9	5	14	0.407	1.693
<i>Vishniacozyma aff.carnescens</i>	5	9	14	0.254	0.453
<i>Cirrenalia iberica</i>	12	1	13	0.0023	12.735
<i>Filobasidium wieringae</i>	2	11	13	0.0062	0.136
<i>Itersonilia perplexans</i>	4	9	13	0.1396	0.357
<i>Neobulgaria koningiana</i>	11	2	13	0.0184	5.64

2.4 Arutelu

Uurimistöö käigus analüüsiti Eesti veekogude ja nende setete seente mitmekesisust ning võrreldi liigirikkust ja kooslusi substraadi ja veekogutüüpide vahel. Tulemustest selgus, et setteproovid (keskmine OTU-de arv 13,6) olid liigirikkamad kui veeproovid (5) ning sette ja vee kooslused erinesid üksteisest oluliselt kõikidel hinnatud taksonoomilistel tasemetel. Koosluste vahelised erinevused on kooskõlas varasemalt avaldatud uurimistööde tulemustega. Näiteks kattus Tisthammer jt (2016) uurimuses pelagiaali ja bentiliste koosluste vahel vaid 15,4% OTU-dest ja Wurzbacher jt (2016) uurimuses olid suurima osakaaluga seltsid settes ja veesambas erinevad. Eelnevaga haakub ka osade tuvastatud liikide sagedasem esinemine ühes või teises proovitüübis.

Veekogutüüpide vahel tulid erinevused liigirikkuses ja kooslustes ilmsiks vaid setete puhul. Setetest oli suurim keskmine OTU-de arv vooluveekogudes (50,7 OTU-t) ja madalaim mereveekogudes (5,2). Veekogutüüpide setete kooslused erinesid üksteisest kõigil neljal vaadeldud tasemel. Veeproovide puhul erinevusi veekogutüüpide vahel polnud. Seda võib mõjutada madal tuvastatud OTU-de arv veeproovides: setteproovides tuvastati 3,8 korda rohkem OTU-sid, kui veeproovides.

Madalam seene OTU-de arv veeproovides võib olla põhjustatud filtreeritud vee kogusest. Enamiku veeproovide puhul oli filtreeritud 150 ml vett ja suurema koguse vee filtreerimine oli takistatud filtrite ummistumise tõttu. Üks võimalus selle probleemi vältimiseks oleks kasutada ühe veekogu jaoks mitut filtrit, et suurendada filtreeritud vee kogust. Kuna aga Sterivex tüüpi kapselfiltrid on väga kallid, tuleks kaaluda teisi alternatiive. Näiteks võib tulevikus kaaluda suurema poorisuurusega eelfiltrite kasutamist või filtritüübi vahetust. Siiski, ka Richards jt (2015) uurimistöös oli erinevus proovitüüpide vahel suur: setteproovidest ($n = 24$) tuvastati ca 2,7 korda rohkem seene sekventse kui veeproovidest ($n = 106$).

Tuvastatud seened olid hõimkondade ja seltside tasemel enamasti ootuspärased. Mereveekogudes olid enimlevinud hõimkondadeks *Ascomycota*, *Basidiomycota* ja *Chytridiomycota*, mis on kooskõlas Rämä jt (2014) tööga. Samuti olid seis- ja vooluveekogudes kaks enimlevinud hõimkonda *Ascomycota* ja *Basidiomycota*, mis seisuveekogude puhul kattub Khomich jt (2017) uurimuse tulemustega ning vooluveekogude puhul Duarte jt (2015) tööga. Erinevused kirjeldatud töödega tulevad sisse laialdase *Rozellomycota* levikuga. Lepère jt (2019) uurimuses oli *Rozellomycota* teine arvukaim hõimkond ning Rojas-Jimenez jt (2018) töös nimetati see üheks domineerivaimaks

hõimkonnaks Läänemeres, kuid enamasti on varasemas kirjanduses selle hõimkonna osakaal kooslustes väike või olematu. Näiteks spekuleeriti Khomich jt (2017) uurimistöös, et selle sekventsidsid võivad kuuluda töö käigus leitud kuid tuvastamata sekventsides hulka. Hilisemate uurimuste käigus on aga nähtud, et suur hulk varasemalt keskkonnaproovidest isoleeritud kuid tundmatuks jäänud seenesekventse kuulub *Rozellomycota* hõimkonda (Tedersoo jt., 2020). Kuna enamik proove korjati suvel, võib *Rozellomycota* suur osakaal olla tingitud ka veeõitsengutest, sest mitmed *Rozellomycota* hõimkonna seened on vetikate parasiidid (Marino jr jt., 2022).

Pleosporales, *Helotiales*, *Hypocreales* ja *Agaricales* kuulumine liigirikkaimate seltside hulka on vastavuses Khusnullina jt (2018) ning Khomich jt (2017) uurimistöodes esitatud tulemustega. Kõige levinum selts veeproovides oli *Tremellales*, mida esines olulisel määral ka Khomich jt (2017) uurimuses. Teine suurima osakaaluga selts vees oli *Rhizophydiales*, mis on sarnane Wurzbacher jt (2016) välja toodud tulemustega. *Rhizophydiales* seened on obligatoorsed vetikate parasiidid, mida on seostatud sinivetikateõitsengutega (McKindles jt., 2021), seega võib nende esinemine olla sarnaselt *Rozellomycota* seentele tingitud suvistest veeõitsengutest.

Funktsionaalse rolli poolest olid domineerivad saprotroofid. See oli oodatav ja on kooskõlas veeseente suurima rolliga veekeskondade ainerings (Gulis jt., 2019). Erinevate taimedega seotud saprotroofid ja taimede patogeenid võisid olla vette edasi kandunud ka taimse materjaliga. Ka õietolmu saprotroofide esinemine pole ootamatu, sest varasemalt on kirjeldatud võimalikku seenelingu vormi, kus toiduahelas on fütoplanktoni asemel vette sattunud õietolmu terad (Kagami jt., 2017). Vetikate parasiitide osakaal polnud proovides märkimisväärselt suur (2,16% OTU-dest), kuid perekonna tasemel tuvastamata seened võivad seda funktsiooni omada, sest näiteks *Rozellomycota* hõimkonnas esineb mitmeid vetikate parasiite (Marino jt jt., 2022).

Uuritud veekogude alfamitmekesisus oli varieeruv. Enamasti jääb H' väärtus vahemikku 1,5-3,5 (University of Idaho, 2009) ja enamik analüüsitud veekogusid vastasid sellele ootusele. Sellegipoolest oli madalaima alfamitmekesisusega veekogudes $H' < 1$. Mäeküla järve vesi oli suurima tuvastatud liikide arvuga proov, kuid alfamitmekesisus oli kõrgeim hoopis Elistvere järve settes. Erinevus võib olla tingitud sellest, et Elistvere järves oli suurem osakaal täpsemalt identifitseerimata OTU-sid: Elistvere järve settest leiti 658 OTU-t, millest 517 polnud võimalik

perekonna tasemel tuvastada, Mäeküla järve veeproovi 951-st OTU-st ei olnud perekonna tasemel tuvastatav 326 OTU-t.

Eesti veekogudes tuvastatud liikide seas esines ka mitmeid patogeenseid seeni. Üheks suurima sekventsidi arvuga liigiks oli *Penicillium verrucosum*, mis toodab nisosagedaselt levinud okratoksiini (Moretti jt., 2014). *Candida parapsilosis* on oportunistlik inimeste patogeen, mis võib nakatada inimesi vee kaudu (Zupančič jt., 2018). Erinevates proovides oli laialdaselt esindatud nahahaigusi tekitav liik *Malassezia restricta* (Amend jt., 2014). Näiteks Võrtsjärve setteproovis moodustasid *Malassezia* sekventsidi koguni 65% ja vees ca 25% sekventsidest. Kuna Võrtsjärv on puhkemajanduslikult oluline veekogu, võib selle liigi laialdane levik veekogus osutada potentsiaalseks riskiks inimeste tervisele.

Veeõitsengutega seotud seente laiem levik Eesti veekogudes võib olla märk üha süvenevast veekogude eutrofeerumise probleemist. Analüüsitud veekogudest olid Eesti looduse infosüsteemi (Keskkonnaagentuur, n.d) järgi 19 veekogu eutroofsed ning 2 hüpertroofsed. Troofsuse kohta puudusid andmed 32 veekogu kohta. Keskkonnaagentuuri poolt koostatud 2022. aasta Eesti pinnaveekogumite seisundi vahehindangu (Eek ja Kovtun-Kante, 2023) kohaselt on pooled Eesti veekogud heas seisundis, kuid võrreldes 2012. aasta hinnanguga on heas seisundis olevate veekogude arv vähenenud ning halvas/väga halvas seisundis veekogude osakaal tõusnud. Veeseened on oma ökoloogiliste rollide tõttu veekogude seisundist lahutamatud, mistõttu on hakatud ka veeseente mitmekesisusele ja nende rollile suuremat tähelepanu pöörama. Viimastel aastatel on algatatud erinevaid projekte selle olulise elustikurühma uurimiseks, et arendada paremaid meetodeid veekogude seisundi hindamiseks ja liigilise mitmekesisuse kaitsmiseks. Näiteks on 2023. aastal alanud projekti FUNACTION peamiseks eesmärgiks välja töötada meetmeid veeseente efektiivseks seiramiseks ja kaitsmiseks (FUNACTION, n.d). Teise Biodiversa+ programmi ja Euroopa Liidu poolt rahastatud projekti „Monitoring strategies for aquatic fungi diversity - MoSTFUN” sihiks on välja arendada veeseente seiramiseks meetodeid, mida on võimalik siduda teiste veeseireprogrammidega (MoSTFUN, n.d). Mõlemasse projekti on kaasatud ka Eesti teadlased ning seega on tulevikus võimalik täpsustada ka Eesti veekogude seisundit võttes arvesse ka veeseente esinemise ja mitmekesisuse.

Võrreldes käesoleva magistritöö tulemusi Prins (2022) kaitstud bakalaureusetöoga leiti mitmeid sarnasusi ja ka erinevusi. Vaatamata setteproovide hulga suurenemisele 19 võrra, olid mõlemas töös setetes enim esindatud hõimkonnad samad. Suurima erinevuse tõi veeproovide lisamisel valimisse: hõimkonnast *Ascomycota* sai enimlevinud hõimkond ning teisele kohale langes *Rozellomycota*. Suurima tuvastatud liikide arvudega seltsid olid eelmainitud töös *Agaricales* (43 liiki), *Helotiales* (42), *Pleosporales* (29), *Hypocreales* (20) ja *Sordariales* (14), mis on ka käesoleva töö setete liigirikkaimad seltsid, kuid nende järjekord liikide arvu alusel on muutunud.

Erinevate veekogutüüpide vahelised erinevused liigirikkuses ja kooslustes olid ennustatud ka Prins (2022) töös, kus keskmine OTU-de ja liikide arv proovi kohta oli kõrgeim vooluveekogudes ja madalaim mereveekogudes, seda kinnitasid ka käesoleva töö valimi setete peal teostatud ANOVA analüüsid. Lisandunud setteproovidega tõusis kattuvate liikide arv seis- ja vooluveekogude vahel 68, seis- ja mereveekogude vahel kolme, mere- ja vooluveekogude vahel kuue ning kõikide veekogutüüpide vahel 22 võrra.

Suurima tuvastatud liikide arvuga setteks oli eelmainitud töö valimist puudunud Ruhijärv. Kui eelnevalt leiti suurima liikide arvuga veekogust, Löwenruh pargi tiigist, 52 liiki, siis käesolevas töös tuvastati märgatavalt rohkem liike. Ka Elistvere järve (varasemalt 51 liiki), Tatra jõe (43) ja Kunda jõe (30) setetes leidunud liikide arv tõusis. Tuvastatud liikide hulga suurenemise on põhjustanud eelmainitud töös kasutatud sekveneerimistulemuste uuesti analüüsimine ajakohaste andmebaasidega.

Kui Prins (2022) töös oli tuvastatud liikide arvu järgi liigirikkamateks veekogudeks loetud Löwenruh pargi tiik, Elistvere järv ja Ilmatsalu kalatiik, siis Shannoni indeksi järgi oli setetest kõrgeim alfamitmekesisus hoopis Elistvere järves, Võhandu jões ja Pärka ojas, millest kõik olid ka eelmainitud töö valimis. Eelmainitud töös oli tuvastatud liikide arvu järgi nimetatud liigivaesemateks veekogudeks Pangodi järv ja Rätsepa järv, kuid selgus, et setetest oli madalaim alfamitmekesisus Pakri lahe ja Soela väina settes, mis olid samuti eelneva töö valimis. Erinevused tulemustest on tingitud erinevatest statistilistest meetoditest. Liigirikkust on vaadeldud Prins (2022) töös vaid identifitseeritud liikide tasandil ning arvestusest jäid välja kõik madalamal taksonoomilisel tasemel kirjeldamata OTU-d, kuid käesolevas töös on vaadatud veekogude liigilist mitmekesisust, mida on hinnatud lähtuvalt sekventsist Shannon-Wiener indeksi põhjal.

Uurimistöõ kirjanduse ülevaates toodi üheks veeseente uurimist raskendava tegurina välja tumeaine seente esinemine. See probleem esines ka selles uurimuses, sest suur hulk seeni jäi perekonna tasemel tuvastamata. Tulemus on ootuspärane, ka näiteks Wurzbacher jt (2016) uurimuses jäid enamik OTU-sid täpselt kirjeldamata. Siiski tõestab see tulemus täpsustavate uurimistööde ja referentsandmebaaside täiustamise vajalikkust ning uurimismetoodika täiustamise ja optimeerimise vajadust. *Rozellomycota* oli suurima osakaaluga hõimkond setetes, kuid selle hõimkonna OTU-d jäid madalamatel taksonoomilistel tasemetel suures osas identifitseerimata. Ka kooslusi kirjeldades ja võrreldes jäi suur hulk enimlevinud seeneperekondadest täpsemalt kirjeldamata. Nende kirjeldamata taksonite esinemine teeb tuvastatud seente funktsioonide, ökoloogia ja koosluste kirjeldamise keeruliseks.

Teiseks võimalikuks probleemiks toodi veeseente eristamine maismaa seentest. Praeguse FungalTraits andmebaasi info järgi tuvastati veelise eluviisiga perekondi 278. See tähendab, et enamik tuvastatud seente perekondadest pole kinnitatud veeseened, kuid sellegipoolest olid suurimate sekventsides arvuga perekonnad vähemalt osaliselt veelise eluviisiga ning OTU-de arvu poolest olid veeseened ülekaalus. Andmebaaside järgi on veeseente eristamine maismaaseentest keeruline. Veeproovides suurima osakaaluga perekond *Vishniacozyma* on FungalTraits andmebaasi järgi mulla saprotroof ning maismaa seen, kuid selle perekonna seent *V. victoriae* on varasemalt isoleeritud ka järvede setetest (Ogaki jt., 2020). Seega võib tegemist olla vähemalt osaliselt veelise eluviisiga seeni sisaldava perekonnaga. *Malassezia* oli mereveekogudes arvestataval määral levinud ning oli FungalTraits andmebaasis nimetatud osaliselt vees elavaks seeneks, kuid näiteks marinefungi.org mereveeseente andmebaasist see puudub. Ka Steinbach jt (2023) uurimuses on *Malassezia* levikut mereveekogudes nimetatud laiahaardeliseks, seega pole tegemist anomaaliaga. Eelmainitud andmebaasis pole *Rozellomycota* nimetatud mereveeseeni sisaldavaks hõimkonnaks, kuid käesolevas töös leiti seda mitmest mereveekogude proovist ning selle hõimkonna esinemist mereveekogudes on varasemalt täheldatud ning on oletatud, et nad võivad täita suurt rolli mereveekogude seenelingus (Sen jt., 2022). Veeseentele keskenduvad uurimisprojektid on seega väga vajalikud, sest puuduvate andmete tõttu puudub ammendav ülevaade veekogude seenekoosluste kohta. Veeseente kirjeldamiseks laialdasel kasutatavaid eDNA-st lähtuvaid meetodeid oleks kasulik siduda RNA analüüside ja kultiveerimismeetoditega, et vähemalt osaliselt kinnitada leitud seente aktiivsust veekeskkonnas.

Käesoleva töö tulemused näitavad, et Eesti veekogudes on veeseenend laialdaselt levinud, nende kooslused on mitmekesised ja esindatud on mitmed erinevad seenerühmad. Tulemused on suuresti kooskõlas ka varasemate uuringutega. Kuna veeseeni on käesolevaks ajaks veel niivõrd vähe uuritud, on lisaks töö käigus vastatud uurimisküsimustele tekkinud mitmeid uusi potentsiaalseid uurimisküsimusi tulevikuks. Seenekoosluste omavahelised erinevused olid üsna vähesel määral seotud proovi- ja veekogutüübiga, seega oleks vajalik teha täpsustavaid uuringuid, kus analüüsitakse lisaks ka teisi võimalike muutujaid, näiteks seenekoosluste seost erinevate toiteainete, veekogu troofsuse, hapnikusisalduse, saasteainete, aastaaja ja teiste vees leiduvate mikroorganismidega. Paslik oleks võtta arvesse ka samas vesikonnas olevate veekogude seotust. Töö käigus leiti mitmete erinevate funktsioonidega seeni, mis tõestab vajadust Eesti veeseente funktsionaalse mitmekesisuse uuringute järele.

KOKKUVÖTE

Seened täidavad veekeskkondades olulisi funktsioone, kuid siiani on nende levikut ja mitmekesisust vähe kirjeldatud. Käesoleva magistritöö eesmärkideks oli kirjeldada ja analüüsida 66 Eesti veekogu vee (n=63) ja setete koosluseid (n=66). Selleks teostati statistilised analüüsid, mille käigus hinnati alfamitmekesisust kõikides veekogudes, võrreldi liigirikkust sette ja vee ning veekogutüüpide vahel, võrreldi seenekoosluseid lähtuvalt proovi- ja veekogutüübist ning võrreldi enimlevinud seeneliikide levikut sette ja vee vahel. Töö on koostatud EMÜ ja TÜ koostööprojekti FunAqua raames ja töös kasutatud proovid korjati vabatahtliku üleskutse alusel.

Töö laboratoorne osa hõlmas DNA eraldamist setteproovidest *MagAttract PowerSoil DNA KF Kit* (Qiagen, US) ja veeproovidest *NucleoMag® DNA/RNA Water* (MACHEREY-NAGEL, Saksamaa) komplektidega. DNA eraldusele järgnes rDNA ITS ja 18S rRNA V9 varieeruva regiooni amplifitseerimine PCR meetodiga. Sekvenerimistulemustest tuvastati kokku 22 erinevat seenehõimkonda, 75 klassi, 166 seltsi, 354 sugukonda, 739 perekonda ja 1048 liiki. Suurima osakaaluga olid hõimkonnad *Ascomycota* (44,02% OTU-dest) ja *Rozellomycota* (27,27%). Liigirikkaimaks seltsiks osutus *Pleosporales* (139 liiki). Enim erinevates proovides esinenud liik oli *Sphaerulina polyspora*, mida esines 14-s sette- ja 21-s veeproovis. Tuvastatud perekondad viidi kokku Põlme jt (2021) andmebaasiga FungalTraits, mille järgi oli suurim hulk tuvastatud perekondi puidu saprotroofid (18,54% tuvastatud perekondadest).

Setetest tuvastati enim erinevaid liike Ruhijärves (94 liiki) ja veeproovidest Mäeküla järves (411). Shannon-Wiener indeksi järgi oli kõrgeim alfamitmekesisus oli Elistvere järve settes (3,531) ning madalaim Pärka oja vees (0). Sette ja vee liigirikkused ja seenekooslused erinesid üksteisest oluliselt, kusjuures kõrgem liigirikkus oli setetes. Veekogutüüpide vahel olid erinevused liigirikkuses ja kooslustes vaid setteproovide siseselt, kus kõrgeim liigirikkus oli vooluveekogudes ning madalaim mereveekogudes. Koosluste erinevuste näiteks on erinevate proovi- ja veekogutüüpide suurima osakaaluga perekonnad. Setetes oli tuvastatud perekondadest suurima osakaaluga *Malassezia* (7,4% sekventsides), veeproovides aga *Vishniacozyma* (13,5%). Seisu- ja mereveekogudes oli suurima osakaaluga perekond *Malassezia* (vastavalt 5,6% ja 18%) ning vooluveekogudes *Pseudorhizophila* (6,34%). Statistiliselt oluline erinevus 15 enim erinevates proovides tuvastatud liikide levikus oli 9 liigi puhul, kusjuures 6 liiki olid rohkem levinud settes ja 3 liiki vees.

The diversity of fungi in Estonian water bodies and their sediments

Victoria Prins

Summary

Aquatic fungi play an important role in aquatic ecosystems, from leaf litter degradation to shaping the food web through complex interactions with phyto- and zooplankton. However, despite this significance, the ecology of aquatic fungi remains relatively understudied when compared to terrestrial fungi. This knowledge gap poses challenges for the conservation of aquatic ecosystems. To address this issue, the Estonian University of Life Sciences and Tartu University have launched a cooperation project entitled FunAqua. The project aims to build a comprehensive database for aquatic fungi. The present master's thesis is part of this project and focuses on describing and analyzing the diversity of 66 different Estonian water bodies and their sediments.

The laboratory work involved DNA extractions from sediment samples using the DNA Qiagen MagAttract PowerSoil DNA KF Kit (Qiagen, US) and DNA extractions from filtered water samples using the NucleoMag® DNA/RNA Water (MACHEREY-NAGEL, Germany) kit. Additionally, PCR amplification of the rDNA ITS and 18S rRNA V9 regions was performed. Across all samples, a total of 22 fungal phyla, 75 classes, 166 orders, 354 families, 739 genera, and 1048 species were identified. The dominant phyla were *Ascomycota* (44.02% of OTUs) and *Rozellomycota* (27.27% of OTUs). The order *Pleosporales* was the most species-rich, with 139 species. The identified genera were cross-referenced with the Pölme et al. (2022) FungalTraits database to determine their primary ecological functions. Notably, the largest share of genera were wood decomposers (18.54% of identified genera).

The statistical analysis included calculating alpha diversity using the Shannon-Wiener index. Additionally, species-richness was compared between sediments and water samples using a pairwise T-test. Differences in species-richness among lentic, lotic, and marine water bodies were assessed using ANOVA. Fungal communities were compared based on sample type and water body type using PERMANOVA. Furthermore, the frequency of the 15 most commonly found species was compared between sediments and water.

The sediment with the highest number of identified species was in Lake Ruhijärv (94 species) while the water sample with the highest number of identified species was Mäeküla lake (441). According to the Shannon-Wiener index, Lake Elistvere exhibited the highest alpha diversity ($H' = 3.531$). Statistically significant differences in species richness were observed

between sediment and water samples, with sediments having a higher average species richness (an average of 13.5 OTUs). The fungal communities also varied between sample types. Among different water body types, only sediments showed statistical significance with regards to species-richness and communities, with lotic water bodies having the highest species richness and marine water bodies the lowest. Regarding the most abundantly found species, 9 had a statistically significant difference in ratios, with 6 being more commonly found in the sediments, and 3 more commonly found in water.

In summary, aquatic fungi are readily found in Estonian water bodies. Further analysis is necessary to understand the reasons behind some of the observed differences.

Tänuõnad

Teadus, nagu ikka, on kollektiivne pingutus ning selle töö kirjutamise ajal olen järjepidevalt tundnud tänulikkust selle eest, et olen saanud koostööd teha inimestega, kes on olnud nõus mind ühel või teisel moel aitama ja oma teadmisi minuga jagama. Ma soovin tänada enda juhendajat Kristel Panksepa tema abivalmiduse, positiivsuse, laboritöö õpetuste ja põhjaliku tagasiside eest. Soovin tänada ka kaasjuhendajat Leho Tedersood, kes andis väärtusliku nõu statistilise analüüsi poole pealt ja hulganisti üldist tagasisidet. Lisaks olen tänulik neile mõlemale, et mul on olnud võimalus liituda FunAqua projektiga, mis on avanud ukSED teistes projektides kaasa löömiseks. Soovin tänada ka Rasmus Puuseppa, kes on laboris andnud rohkesti kasulikke näpunäiteid, Veljo Kisandit ja Vladimir Mikryukovit bioinformaatilise analüüsi teostamise eest ning kõiki vabatahtlikke, kes proove korjasid.

Soovin tänu avaldada ka kõikidele oma lähedastele, kes on mind lõputult toetanud õpingute jooksul.

KIRJANDUSE LOETELU

Abonyi, A., Fornberg, J., Rasconi, S., Ptacnik, R., Kainz, M. J. and Lafferty, K. D. (2024). The chytrid insurance hypothesis: Integrating parasitic chytrids into a biodiversity–ecosystem functioning framework for phytoplankton–zooplankton population dynamics. *Oecologia*, 204: 279– 288. <https://doi.org/10.1007/s00442-024-05519-w>

Agha, R., Saebelfeld, M., Manthey, C., Rohrlack, T. and Wolinska, J. (2016). Chytrid parasitism facilitates trophic transfer between bloom-forming cyanobacteria and zooplankton (*Daphnia*). *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep35039>

Alam, S., Afzal, G., Iqbal, Z., Hussain, R., ... Mustafa, G. (2023). Fungal Zoonotic Infections in Fish an emerging threat to Aquatic and Terrestrial life, pp 611-624. *In* S. Altaf, A. Khan, R. Z. Abbas (ed.), *Zoonosis*, vol.4. Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan. <https://doi.org/10.47278/book.zoon/2023.183>

Alekseyeva, S. K., Herndl, G. J., and Baltar, F. (2022). Extracellular Enzymatic Activities of Oceanic Pelagic Fungal Strains and the Influence of Temperature. *Journal of Fungi* 8: 571. <https://doi.org/10.3390/jof8060571>

Amend, A. (2014). From Dandruff to Deep-Sea Vents: *Malassezia*-like Fungi Are Ecologically Hyper-diverse. *PLoS Pathogens*, 10(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004277>

Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., ... Gladfelter, A. S. (2019). Fungi in the Marine Environment: Open Questions and Unsolved Problems. *mBio*, 10(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.01189-18>

Anderson, M.J. (2005). Permanova: A Fortran Computer Program for Permutational Multivariate Analysis of Variance. Department of Statistics, University of Auckland, Auckland.

Aranguren, L. F., Han, J. E. and Tang, K. F. J. (2017). *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) is a risk factor for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and septic hepatopancreatic necrosis (SHPN) in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 471: 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.12.038>

Asemaninejad, A., Thorn, R. G. and Lindo, Z. (2017). Vertical distribution of fungi in hollows and hummocks of boreal peatlands. *Fungal Ecology*, 27: 59–68.

<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.02.002>

Baar, J., Paradi, I., Lucassen, E. C. H. E. T., Hudson-Edwards, K. A., Redecker, D., Roelofs, J. G. M. and Smolders, A. J. P. (2011). Molecular analysis of AMF diversity in aquatic macrophytes: A comparison of oligotrophic and ultra-oligotrophic lakes. *Aquatic Botany*, 94(2): 53–61.

<https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2010.09.006>

Babič, M. N., Gunde-Cimerman, N., Vargha, M., Tischner, Z., Magyar, D., Veríssimo, C., Sabino, R., Viegas, C., Meyer, W. and Brandão, J. (2017). Fungal Contaminants in Drinking Water Regulation? A Tale of Ecology, Exposure, Purification and Clinical Relevance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6): 636.

<https://doi.org/10.3390/ijerph14060636>

Barnett, D. J. M., Arts, I. C. W. and Penders, J. (2021). microViz: an R package for microbiome data visualization and statistics. *Journal of Open Source Software*, 6(63).

<https://doi.org/10.21105/joss.03201>

Bao, X., Wang, Y. and Olsson, P. A. (2019). Arbuscular mycorrhiza under water—Carbon-phosphorus exchange between rice and arbuscular mycorrhizal fungi under different flooding regimes. *Soil Biology and Biochemistry*, 129: 169–177.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.020>

Barros, J. and Seena, S. (2021). Plastisphere in freshwaters: An emerging concern. *Environmental Pollution*, 290. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118123>

Baudy, P., Zubrod, J. P., Kanschak, M., Röder, N., Nguyen, T. H., Schreiner, V. C., Baschien, C., Schulz, R. and Bundschuh, M. (2021). Environmentally relevant fungicide levels modify fungal community composition and interactions but not functioning. *Environmental Pollution*, 285.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117234>

Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., ... 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>

Biedunkiewicz, A., Kowalska, K., Schulz, L., Stojek, K., Dynowska, M., Ejdys, E., Sucharzewska, E. and Kubiak, D. (2014). Mycological monitoring of selected aquatic ecosystems in the context of epidemiological hazards. Drinking water. *Annals of Parasitology*, 60(3): 191–198.

Boltersdorf, S. H. and Werner, W. (2014). Lichens as a useful mapping tool?—An approach to assess atmospheric N loads in Germany by total N content and stable isotope signature. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(8): 4767–4778.

<https://doi.org/10.1007/s10661-014-3736-3>

Brosed, M., Jabiol, J. and Gessner, M. O. (2017). Nutrient stoichiometry of aquatic hyphomycetes: Interstrain variation and ergosterol conversion factors. *Fungal Ecology*, 29: 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.04.008>

Bubnova, E. N., Grum-Grzhimaylo, O. A. and Kozlovsky, V. V. (2020). Composition and Structure of the Community of Mycelial Fungi in the Bottom Sediments of the White Sea. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 75(3): 153–158.

<https://doi.org/10.3103/S0096392520030037>

Cai, J., Bai, C., Tang, X., Dai, J., Gong, Y., Hu, Y., Shao, K., Zhou, L. and Gao, G. (2018). Characterization of bacterial and microbial eukaryotic communities associated with an ephemeral hypoxia event in Taihu Lake, a shallow eutrophic Chinese lake. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(31): 31543–31557. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2987-x>

Calabon, M. S., Hyde, K. D., Jones, E. B. G., Bao, D., ... Balasuriya, A. (2023). Freshwater fungal biology. *Mycosphere*, 14(1): 195–413. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/14/1/4>

Calabon, M. S., Hyde, K. D., Jones, E. B. G., ... Zeng, M. (2022). Freshwater fungal numbers. *Fungal Diversity*, 114(1): 3–235. <https://doi.org/10.1007/s13225-022-00503-2>

Campo, S., Martín-Cardoso, H., Olivé, M., Pla, E., Catala-Forner, M., Martínez-Eixarch, M. and San Segundo, B. (2020). Effect of Root Colonization by Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth, Productivity and Blast Resistance in Rice. *Rice*, 13(1): 42.

<https://doi.org/10.1186/s12284-020-00402-7>

Caro, L. F. A., Mai, H. N., Cruz-Florez, R., Marcos, F. L. A., Alenton, R. R. R. and Dhar, A. K. (2021). Experimental reproduction of White Feces Syndrome in whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*. PLOS ONE, 16(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261289>

Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A. and Wilson, A. E. (2013) Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. Nature Education Knowledge 4(4): 10.

Christmas, N. A. M., Allen, R., Hollingsworth, A. L., Taylor, J. D. and Cunliffe, M. (2021). Complex photobiont diversity in the marine lichen *Lichina pygmaea*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 101(4): 667–674.

<https://doi.org/10.1017/S002531542100062X>

Dewangan, N. K., Gopalakrishnan, A., Kannan, D., Shettu, N., PG and Research Department of Zoology, Pachaiyappa's College, Singh, R. R. and CP Aquaculture India Private Limited. (2015). Black gill disease of Pacific white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by *Aspergillus flavus*. Journal of Coastal Life Medicine, 3(10): 761–765. <https://doi.org/10.12980/jclm.3.2015j5-70>

Choudhury, T. G., Singh, S. K., Parhi, J., Barman, D. and Das, B. (2014). Common Fungal Diseases of Fish: A Review. Environment and Ecology, 32: 450–456.

Coste, C., Chauvet, E., Grieu, P. and Lamaze, T. (2016). Photosynthetic traits of freshwater lichens are consistent with the submersion conditions of their habitat. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology, 52: 235–242.

<https://doi.org/10.1051/limn/2016009>

Damasceno, J. L., Santos, R. A. dos, Barbosa, A. H., Casemiro, L. A., Pires, R. H. and Martins, C. H. G. (2017). Risk of Fungal Infection to Dental Patients. The Scientific World Journal, 2017: 8.

<https://doi.org/10.1155/2017/2982478>

De Queiroz, M. B., Jobim, K., Vista, X., Leroy, J. A. S., Gomes, S. B. S. and Goto, B. (2020). Occurrence of Glomeromycota species in aquatic habitats: A global overview. Mycotaxon, 135(2): 469–469. <https://doi.org/10.5248/135.469>

Du, Y., Liu, X., Dong, X. and Yin, Z. (2022). A review on marine plastisphere: Biodiversity, formation, and role in degradation. Computational and Structural Biotechnology Journal, 20: 975–988. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.008>

Duarte, S., Antunes, B., Trabulo, J., Seena, S., Cássio, F. and Pascoal, C. (2019). Intraspecific diversity affects stress response and the ecological performance of a cosmopolitan aquatic fungus. *Fungal Ecology*, 41: 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.06.001>

Duarte, S., Bärlocher, F., Trabulo, J., Cássio, F. and Pascoal, C. (2015). Stream-dwelling fungal decomposer communities along a gradient of eutrophication unraveled by 454 pyrosequencing. *Fungal Diversity*, 70(1): 127–148. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0300-y>

Edgar, R. C. (2016). UNCROSS: Filtering of high-frequency cross-talk in 16S amplicon reads. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/088666>

Elshobary, M. E., Osman, M. E. H., Abushady, A. M. and Piercey-Normore, M. D. (2015). Comparison of Lichen-Forming Cyanobacterial and Green Algal Photobionts with Free-Living Algae. *Cryptogamie, Algologie*, 36(1): 81–100. <https://doi.org/10.7872/crya.v36.iss1.2015.81>

Fenoy, E., Pradhan, A., Pascoal, C., Rubio-Ríos, J., Batista, D., Moyano-López, F. J., Cássio, F. and Casas, J. J. (2022). Elevated temperature may reduce functional but not taxonomic diversity of fungal assemblages on decomposing leaf litter in streams. *Global Change Biology*, 28(1): 115–127. <https://doi.org/10.1111/gcb.15931>

Fernández-Beaskoetxea, S., Carrascal, L. M., Fernández-Loras, A., Fisher, M. C. and Bosch, J. (2015). Short Term Minimum Water Temperatures Determine Levels of Infection by the Amphibian Chytrid Fungus in *Alytes obstetricans* Tadpoles. *PLOS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120237>

Franco-Duarte, R., Fernandes, I., Gulis, V., Cássio, F. and Pascoal, C. (2022). ITS rDNA Barcodes Clarify Molecular Diversity of Aquatic Hyphomycetes. *Microorganisms*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081569>

Frischer, M. E., Landers, S. C., Walker, A. N., Powell, S. A. and Lee, R. F. (2022). Black Gill in Marine Decapod Crustaceans: A Review. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 30(4): 498–519. <https://doi.org/10.1080/23308249.2022.2047153>

Frischer, M. E., Lee, R. F., Price, A. R., ... Landers, S. C. (2017). Causes, Diagnostics, and Distribution of an Ongoing Penaeid Shrimp Black Gill Epidemic in the U.S. South Atlantic Bight. *Journal of Shellfish Research*, 36(2), 487–500. <https://doi.org/10.2983/035.036.0220>

Geetha, R., Avunje, S., Solanki, H. G., Priyadharshini, R., Vinoth, S., Anand, P. R., Ravisankar, T. and Patil, P. K. (2022). Farm-level economic cost of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) to Indian *Penaeus vannamei* shrimp farming. *Aquaculture*, 548(2).

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737685>

Góes-Neto, A., Marcelino, V. R., Verbruggen, H., Da Silva, F. F. and Badotti, F. (2020). Biodiversity of endolithic fungi in coral skeletons and other reef substrates revealed with 18S rDNA metabarcoding. *Coral Reefs*, 39(1): 229–238. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01880-y>

Gonçalves, A. L., Carvalho, A., Bärlocher, F and Canhoto, C. (2019). Are fungal strains from salinized streams adapted to salt-rich conditions? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1764). <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0018>

Gonçalves, M. F. M., Esteves, A. C. and Alves, A. (2020). Revealing the hidden diversity of marine fungi in Portugal with the description of two novel species, *Neascochyta fuci* sp. Nov. And *Paraconiothyrium salinum* sp. Nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(10): 5337–5354. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004410>

Gonçalves, M. F. M., Esteves, A. C. and Alves, A. (2022). Marine Fungi: Opportunities and Challenges. *Encyclopedia*, 2(1): 559-577 . <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2010037>

Goodenough, U., Wagner, R. and Roth, R. (2021). Lichen 4. The Algal Layer. *Algal Research*, 58. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102355>

Góralaska, K., Błaszowska, J. and Dzikowiec, M. (2020). The occurrence of potentially pathogenic filamentous fungi in recreational surface water as a public health risk. *Journal of Water and Health*, 18(2): 127–144. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.096>

Graça, D., Fernandes, I., Cássio, F. and Pascoal, C. (2023). Eco-physiological Responses of Aquatic Fungi to Three Global Change Stressors Highlight the Importance of Intraspecific Trait Variability. *Microbial Ecology*, 85(4): 1215–1225. <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02007-7>

Grossart, H.-P., Van den Wyngaert, S., Kagami, M., Wurzbacher, C., Cunliffe, M. and Rojas-Jimenez, K. (2019). Fungi in aquatic ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6): 339–354. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0175-8>

Grossart, H.-P., Wurzbacher, C., James, T. Y. and Kagami, M. (2016). Discovery of dark matter fungi in aquatic ecosystems demands a reappraisal of the phylogeny and ecology of zoosporic fungi. *Fungal Ecology*, 19: 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.004>

Gulis, V., Su, R. and Kuehn K. A. (2019). Fungal Decomposers in Freshwater Environments, p. 121-155. In C. J. Hurst (ed.), *The Structure and Function of Aquatic Microbial Communities*, Springer Cham, Edinburgh, Scotland.

Hassan, O., Hassan, A., Abd El Ghany, N., Abd El-baky, A., Hanna, M. and Abd El Aziz, M. (2020). A contribution on the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolated from cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with trials for the treatment. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(5): 197–215. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2020.104139>

Hsu, L.-H., Su, C.-Y., Sun, P.-L. and Chen, Y.-L. (2021). *Fusarium solani* species complex infection in elasmobranchs: A case report for rough-tail stingray with valid antifungal therapy. *Medical Mycology Case Reports*, 32: 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2021.02.002>

Iqbal, M. T., Ahmed, Ibrahim. A. M., Isik, M., Sultana, F. and Ortaş, I. (2021). Role of mycorrhizae inoculations on nutrient uptake in rice grown under aerobic and anaerobic water management. *Journal of Plant Nutrition*, 44(4): 550–568.

<https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1845375>

Jenks, J. D. and Preziosi, M. (2015). A challenging case of invasive pulmonary aspergillosis after near-drowning: A case report and literature review. *Infectious Diseases in Clinical Practice (Baltimore, Md.)*, 23(5): 227. <https://doi.org/10.1097/IPC.0000000000000263>

Jones, E. B. G., Pang, K.-L., Abdel-Wahab, M. A ... Norphanphoun, C. (2019). An online resource for marine fungi. *Fungal Diversity*, 96(1): 347–433. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00426-5>

Kagami, M., Miki, T. and Takimoto, G. (2014). Mycoloop: Chytrids in aquatic food webs. *Frontiers in microbiology*, 5: 166. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00166>

Karthikeyan, V., Selvakumar, P. and Gopalakrishnan, A. (2015). A novel report of fungal pathogen *Aspergillus awamori* causing black gill infection on *Litopenaeus vannamei* (pacific white shrimp). *Aquaculture*, 444: 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.021>

- Kettner, M. T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M. and Grossart, H.-P. (2017) Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems. *Environmental Microbiology*, 19: 4447-4459. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13891>
- Khallil, A. R. M., Ali, E. H. and Ibrahim, S. S. (2023). Seasonal fluctuations and diversity of Ingoldian mycobiota in two water bodies receiving different effluents at Assiut Governorate (Upper Egypt). *BMC Microbiology* 23:163. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02903-z>
- Khomich, M., Davey, M. L., Kauserud, H., Rasconi, S. and Andersen, T. (2017). Fungal communities in Scandinavian lakes along a longitudinal gradient. *Fungal Ecology*, 27: 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.01.008>
- Khusnullina, A. I., Bilanenko, E. N. and Kurakov, A. V. (2018). Microscopic Fungi of White Sea Sediments. *Contemporary Problems of Ecology*, 11(5): 503–513. <https://doi.org/10.1134/S1995425518050062>
- Kłós, A., Wierzba, S., Świsłowski, P., ... Wieczorek, P. (2023). The significance of heterophasic ion exchange in active biomonitoring of heavy metal pollution of surface waters. *Scientific Reports*, 13(1): 16500. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43454-7>
- Krevš, A. and Kučinskiene, A. (2017). Influence of invasive *Acer negundo* leaf litter on benthic microbial abundance and activity in the littoral zone of a temperate river in Lithuania. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, 418: 26. <https://doi.org/10.1051/kmae/2017015>
- Lepère, C., Domaizon, I., Humbert, J.-F., Jardillier, L., Hugoni, M. and Debroas, D. (2019). Diversity, spatial distribution and activity of fungi in freshwater ecosystems. *PeerJ*, 7. <https://doi.org/10.7717/peerj.6247>
- Linder, M. B., Szilvay, G. R., Nakari-Setälä, T. and Penttilä, M. E. (2005). Hydrophobins: The protein-amphiphiles of filamentous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(5): 877–896. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.01.004>
- Liu, R., Zhu, J., Yu, Z., Joshi, D., Zhang, H., Lin, W. and Yang, M. (2014). Molecular analysis of long-term biofilm formation on PVC and cast iron surfaces in drinking water distribution system. *Journal of environmental sciences (China)*, 26: 865–874. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60481-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60481-7)

Lobo, L. Q., Izabel-Shen, D., Albertsson, J., Raymond, C., Gunnarsson, J. S., Broman, E. and Nascimento, F. J. A. (2024). Salinity and resource availability as drivers of Baltic benthic fungal diversity. *Environmental DNA*, 6(1). <https://doi.org/10.1002/edn3.526>

Marchetta, A., Gerrits van den Ende, B., Al-Hatmi, A., Id, P., Zalar, P., Sudhadham, M., Gunde-cimerman, N., Urzì, C., Hoog, S. and De Leo, F. (2018). Global Molecular Diversity of the Halotolerant Fungus *Hortaea werneckii*. *Life*, 8. <https://doi.org/10.3390/life8030031>

Marino jr, J. A., Deneff, V. J., Dick, G. J., Duhaime, M. B. and James, T. Y. (2022). Fungal community dynamics associated with harmful cyanobacterial blooms in two Great Lakes. *Journal of Great Lakes Research*, 48(4): 1021–1031.

<https://doi.org/10.1016/j.jglr.2022.05.007>

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*, 17(1): 10-12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>

Martínez-Ruiz, E. B., Agha, R., Spahr, S. and Wolinska, J. (2024). Widely used herbicide metolachlor can promote harmful bloom formation by stimulating cyanobacterial growth and driving detrimental effects on their chytrid parasites. *Environmental Pollution*, 344.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123437>

McKindles, K. M., Jorge, A. N., McKay, R. M., Davis, T. W. and Bullerjahn, G. S. (2021). Isolation and Characterization of *Rhizophydiales* (*Chytridiomycota*), Obligate Parasites of *Planktothrix agardhii* in a Laurentian Great Lakes Embayment. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(4). <https://doi.org/10.1128/AEM.02308-20>

Mesquita-Rocha, S., Godoy-Martinez, P. C., Gonçalves, S. S., Urrutia, M. D., Carlesse, F., Seber, A., Silva, M. A. A., Petrilli, A. S. and Colombo, A. L. (2013). The water supply system as a potential source of fungal infection in paediatric haematopoietic stem cell units. *BMC Infectious Diseases*, 13(1): 289. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-289>

Møller, C. L., Kjøller, R. and Sand-Jensen, K. (2013). Organic enrichment of sediments reduces arbuscular mycorrhizal fungi in oligotrophic lake plants. *Freshwater Biology*, 58(4): 769–779. <https://doi.org/10.1111/fwb.12083>

Monnet, F., Bordas, F., Deluchat, V., Chatenet, P., Botineau, M. and Baudu, M. (2005). Use of the aquatic lichen *Dermatocarpon luridum* as bioindicator of copper pollution: Accumulation

and cellular distribution tests. *Environmental Pollution*, 138(3): 455–461.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.04.019>

Moora, M., Öpik, M., Davison, J., Jairus, T., Vasar, M., Zobel, M. and Eckstein, R. L. (2016). AM fungal communities inhabiting the roots of submerged aquatic plant *Lobelia dortmanna* are diverse and include a high proportion of novel taxa. *Mycorrhiza*, 26(7): 735–745.

<https://doi.org/10.1007/s00572-016-0709-0>

Moretti, A., Waalwijk, C. and Geisen, R. (2014). Identification of *Fusarium spp.* And *Penicillium Verrucosum* in the Wheat Grain Chain, p. 149-168. In J. F. Leslie, and A. F. Logrieco (ed.), *Mycotoxin Reduction in Grain Chains*, John Wiley & Sons, Ltd, New Jersey.

<https://doi.org/10.1002/9781118832790.ch11>

Munkongwongsiri, N., Prachumwat, A., Eamsaard, W., Lertsiri, K., Flegel, T. W., Stentiford, G. D. and Sritunyalucksana, K. (2022). *Propionigenium* and *Vibrio* species identified as possible component causes of shrimp white feces syndrome (WFS) associated with the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 192.

<https://doi.org/10.1016/j.jip.2022.107784>

Muszyńska, E., Kiziewicz, B., Godlewska, A. and Milewski, R. (2014). Fungi and Straminipilous Organisms Growing in the Narew River and its Chosen Tributaries in NE Poland. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2014, 23(2): 401-408.

Niskanen, T., Lücking, R., Dahlberg, A., ... 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: 149–176.

<https://doi.org/10.1146/annurev-environ-112621-090937>

Nokes, L. F., Haelewaters, D. and Pfister, D. H. (2022). Exploration of Marine Lichenized Fungi as Bioindicators of Coastal Ocean Pollution in the Boston Harbor Islands National Recreation Area. *Rhodora*, 122(992): 251–273. <https://doi.org/10.3119/20-10>

Ogaki, M. B., Teixeira, D. R., Vieira, R., ... Rosa, L. H. (2020). Diversity and bioprospecting of cultivable fungal assemblages in sediments of lakes in the Antarctic Peninsula. *Fungal Biology*, 124(6): 601–611. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.02.015>

Ogaki, M. B., Pinto, O. H. B., Vieira, R., Neto, A. A., Convey, P., Carvalho-Silva, M., Rosa, C. A., Câmara, P. E. A. S. and Rosa, L. H. (2021). Fungi Present in Antarctic Deep-Sea Sediments Assessed Using DNA Metabarcoding. *Microbial Ecology* 82: 157–164. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01658-8>

Ortiz-Cañavate, B. K., Wolinska, J. and Agha, R. (2019). Fungicides at environmentally relevant concentrations can promote the proliferation of toxic bloom-forming cyanobacteria by inhibiting natural fungal parasite epidemics. *Chemosphere*, 229: 18–21. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.203>

Pang, K.-L., Overy, D. P., Jones, E. B. G., Calado, M. da L., Burgaud, G., Walker, A. K., Johnson, J. A., Kerr, R. G., Cha, H.-J. and Bills, G. F. (2016). ‘Marine fungi’ and ‘marine-derived fungi’ in natural product chemistry research: Toward a new consensual definition. *Fungal Biology Reviews*, 30(4): 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.08.001>

Panksep, K., Tedersoo, L., Tammert., H., Laas, A. and Kisand, V. (2023). Sampling protocol for aquatic fungi from marine, river and lake water and sediment. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7875536>

Pękala-Safińska, A., Jedziniak, P., Kycko, A., Ciepliński, M., Paździor, E., Panasiuk, Ł., Kasprzak, M. and Jerzak, L. (2020). Could mycotoxigenic *Fusarium sp.* Play a role in ulcerative dermal necrosis (UDN) of brown trout (*Salmo trutta morpha trutta*)?. *Mycotoxin Research*, 36(3): 311–318. <https://doi.org/10.1007/s12550-020-00395-8>

Pietryczuk, A., Cudowski, A., Hauschild, T., Świśłocka, M., Więcko, A. and Karpowicz, M. (2018). Abundance and Species Diversity of Fungi in Rivers with Various Contaminations. *Current Microbiology*, 75(5): 630–638. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1427-3>

Pilaniya, V., Gera, K., Gothi, R. and Shah, A. (2015). Acute invasive pulmonary aspergillosis, shortly after occupational exposure to polluted muddy water, in a previously healthy subject. *Jornal Brasileiro De Pneumologia: Publicacao Oficial Da Sociedade Brasileira De Pneumologia E Tisiologia*, 41(5), 473–477: <https://doi.org/10.1590/S1806-37132015000000108>

Pirarat, N., Sahatrakul, K., Lacharoje, S., Lombardini, E., Chansue, N. and Techangamsuwan, S. (2016). Molecular and pathological characterization of *Fusarium solani* species complex

infection in the head and lateral line system of *Sphyrna lewini*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120(3): 195–204. <https://doi.org/10.3354/dao03028>

Prins, V. (2022). Veeseenud ja nende mitmekesisus Eesti veekogude setetes. Bakalaureuse-töö. Tartu Ülikool, bioloogia ja elustiku kaitse õppekava.

Pölme, S., Abarenkov, K., Henrik Nilsson, R., ... Tedersoo, L. (2020). FungalTraits: A user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*, 105(1): 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>

Rao, S., Hyde, K. D. and Pointing, S. B. (2013). Comparison of DNA and RNA, and Cultivation Approaches for the Recovery of Terrestrial and Aquatic Fungi from Environmental Samples. *Current Microbiology*, 66(2): 185–191. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0256-7>

Richards, T. A., Leonard, G., Mahé, F., ... Chambouvet, A. (2015). Molecular diversity and distribution of marine fungi across 130 European environmental samples. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1819). <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2243>

Ristić, S., Stamenković, S., Stojković Piperac, M., Šajn, R., Kosanić, M. and Ranković, B. (2020). Searching for lichen indicator species: The application of self-organizing maps in air quality assessment—a case study from Balkan area (Serbia). *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(11): 693. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08633-3>

Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C. and Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>

Rojas-Jimenez, K., Rieck, A., Wurzbacher, C., Jürgens, K., Labrenz, M. and Grossart, H.-P. (2019). A Salinity Threshold Separating Fungal Communities in the Baltic Sea. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00680>

Root, H. T., Jovan, S., Fenn, M., Amacher, M., Hall, J. and Shaw, J. D. (2021). Lichen bioindicators of nitrogen and sulfur deposition in dry forests of Utah and New Mexico, USA. *Ecological Indicators*, 127. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107727>

Rämä, T., Nordén, J., Davey, M. L., Mathiassen, G. H., Spatafora, J. W. and Kauserud, H. (2014). Fungi ahoy! Diversity on marine wooden substrata in the high North. *Fungal Ecology*, 8: 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.12.002>

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16): 6241–6246.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Sen, K., Sen, B. and Wang, G. (2022). Diversity, Abundance, and Ecological Roles of Planktonic Fungi in Marine Environments. *Journal of Fungi*, 8(5): 491.

<https://doi.org/10.3390/jof8050491>

Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory on communications. *The bell system technical journal*, 28(3): 379-656.

Shearer, C. A., Descals, E., Kohlmeyer, B., ... Voglymayr, H. (2007). Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodiversity and Conservation*, 16(1): 49–67.

<https://doi.org/10.1007/s10531-006-9120-z>

Shimadzu, H. (2018) On species richness and rarefaction: size- and coverage-based techniques quantify different characteristics of richness change in biodiversity. *J. Math. Biol.* 77: 1363–1381 . <https://doi.org/10.1007/s00285-018-1255-5>

Sieber, G., Beisser, D., Bock, C. and Boenigk, J. (2020). Protistan and fungal diversity in soils and freshwater lakes are substantially different. *Scientific Reports*, 10(1): 20025.

<https://doi.org/10.1038/s41598-020-77045-7>

Sonina, A. and Androsova, V. (2021). Coastal Lichens Distribution Patterns and Adaptive Strategies, p. 1-22. *In* M. N. Grigore (ed.), *Handbook of Halophytes*. Springer, Cham

https://doi.org/10.1007/978-3-030-17854-3_34-1

Spribile, T., Resl, P., Stanton, D. E. and Tagirdzhanova, G. (2022). Evolutionary biology of lichen symbioses. *New Phytologist*, 234(5): 1566–1582. <https://doi.org/10.1111/nph.18048>

Steinbach, R. M., El Baidouri, F., Mitchison-Field, L. M. Y., Lim, F. Y., Ekena, J., Vogt, E. J. D., Gladfelter, A., Theberge, A. B. and Amend, A. S. (2023). *Malassezia* is widespread and has undescribed diversity in the marine environment. *Fungal Ecology*, 65.

<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2023.101273>

Sudová, R., Kohout, P., Rydlová, J., Čtvrtlíková, M., Suda, J., Voříšková, J. and Kolaříková, Z. (2020). Diverse fungal communities associated with the roots of isoetid plants are structured by host plant identity. *Fungal Ecology*, 45. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100914>

Sumudumali, I., Jayawardana, J., Gunatilake, S., Udayakumara, E. P. N., Malavipathirana, S. and Jayalal, R. (2022). The effects of fungicide chlorothalonil on leaf litter breakdown rate in tropical streams: A microcosm study. *Aquatic Sciences*, 84. <https://doi.org/10.1007/s00027-021-00845-0>

Zupančič, J., Babič, M. N., Gunde-Cimerman, N., Zupančič, J., Babič, M. N. and Gunde-Cimerman, N. (2018). High Incidence of an Emerging Opportunistic Pathogen *Candida parapsilosis* in Water-Related Domestic Environments. *Fungal Infection*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81313>

Tang, K. F. J., Pantoja, C. R., Redman, R. M., Han, J. E., Tran, L. H. and Lightner, D. V. (2015). Development of *in situ* hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130: 37–41. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.06.009>

Taştan, Y. and Çagatay, T. (2022). *Fusarium oxysporum* causes black gill disease in narrow-clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus*. *Diseases of Aquatic organisms*, 148: 19-27. <https://doi.org/10.3354/dao03643>

Tedersoo, L. and Anslan, S. (2019). Towards PacBio-based pan-eukaryote metabarcoding using full-length ITS sequences. *Environmental Microbiology Reports*, 11: 659-668. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12776>

Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Kõljalg, U. and Abarenkov, K. (2020). Identifying the 'unidentified' fungi: a global-scale long-read third-generation sequencing approach. *Fungal Diversity* 103: 273–293. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00456-4>

Tedersoo, L., Moghaddam, M. S. H., Mikryukov, V., ... Anslan, S. (In press). EUKARYOME: the rRNA gene reference database for identification of all eukaryotes.

Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Kõljalg, U., Mohammad, B., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M. and Abarenkov, K. (2018). High-level classification of the Fungi and a tool for

evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90:135–159.

<https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0>

Thongthaisong, P., Kasada, M., Grossart, H.-P. and Wollrab, S. (2022). Critical role of parasite-mediated energy pathway on community response to nutrient enrichment. *Ecology and Evolution*, 12(12). <https://doi.org/10.1002/ece3.9622>

Thüs, H., Aptroot, A. and Seaward, M. R. D. (2014). Freshwater lichen, p. 333–358. In E. B. G. Jones, K. D. Hyde, and K.-L. Pang (ed.), *Freshwater Fungi: and Fungal-like Organisms*, De Gruyter, Boston.

Tibell, S., Tibell, L., Pang, K.-L., Calabon, M. and Jones, E. B. G. (2020). Marine fungi of the Baltic Sea. *Mycology*, 11(3): 195–213. <https://doi.org/10.1080/21501203.2020.1729886>

Tisthammer, K. H., Cobian, G. M. and Amend, A. S. (2016). Global biogeography of marine fungi is shaped by the environment. *Fungal Ecology*, 19: 39–46.

<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.09.003>

Trabulo, J., Pradhan, A., Pascoal, C. and Cássio, F. (2022). Can microplastics from personal care products affect stream microbial decomposers in the presence of silver nanoparticles? *Science of The Total Environment*, 832. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155038>

Upadhyay, R., K. (2016). How Rice (*Oryza sativa L.*), a Semi-Aquatic Plant Adapt to Natural Flood or Submerged Condition? A Physiological Perspective. *Sains Malaysiana* 45(6), 879–882.

Vallino, M., Fiorilli, V. and Bonfante, P. (2014). Rice flooding negatively impacts root branching and arbuscular mycorrhizal colonization, but not fungal viability. *Plant, Cell & Environment*, 37(3): 557–572. <https://doi.org/10.1111/pce.12177>

Venkateswarlu, V. and Venkatrayulu, C. (2019). Prevalence of disease problems affecting shrimp *Litopenaeus vannamei* farming in Andhra Pradesh, India. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 2019, 7(5): 275–279.

Vergara, C., Araujo, K. E. C., Alves, L. S., Souza, S. R. D., Santos, L. A., Santa-Catarina, C., Silva, K. D., Pereira, G. M. D., Xavier, G. R. and Zilli, J. É. (2018). Contribution of dark septate fungi to the nutrient uptake and growth of rice plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1): 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.04.010>

Wang, Z., Shi, C., Wang, H., ... Huang, J. (2020). A novel research on isolation and characterization of *Photobacterium damsela* subsp. *Damsela* from Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, displaying black gill disease cultured in China. *Journal of Fish Diseases*, 43(5): 551–559. <https://doi.org/10.1111/jfd.13153>

Wang, Y., Li, Y., Bao, X., Björn, L. O., Li, S. and Olsson, P. A. (2016). Response differences of arbuscular mycorrhizal fungi communities in the roots of an aquatic and a semiaquatic species to various flooding regimes. *Plant and Soil*, 403(1): 361–373. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2811-7>

Wang, Y., Li, T., Li, Y., Björn, L. O., Rosendahl, S., Olsson, P. A., Li, S. and Fu, X. (2015). Community Dynamics of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in High-Input and Intensively Irrigated Rice Cultivation Systems. *Applied and Environmental Microbiology* 81(8).

Wurzbacher, C., Warthmann, N., Bourne, E., Attermeyer, K., Allgaier, M., Powell, J. R., Detering, H., Mbedi, S., Grossart, H.-P. and Monaghan, M. (2016). High habitat-specificity in fungal communities in oligo-mesotrophic, temperate Lake Stechlin (North-East Germany). *Mycology*, 16: 17–44. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.16.9646>

Wösten, H. A. B. and Scholtmeijer, K. (2015). Applications of hydrophobins: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(4): 1587–1597. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6319-x>

Yao, L., Wang, C., Li, G., ... Kong, J. (2022). Identification of *Fusarium solani* as a causal agent of black spot disease (BSD) of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 548. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737602>

KASUTATUD VEEBIAADDRESSID

Awan, A. A. (2023) T-tests in R tutorial: Learn How to Conduct T-tests.

<https://www.datacamp.com/tutorial/t-tests-r-tutorial> (Last visited 19.05.2024)

BLAST® koduleht: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Last visited 19.05.2024).

B. Braun koduleht: <https://www.bbraun.com/en.html> (Last visited 20.05.2024).

Diez, D., Cetinkaya-Rundel, M., Barr., C. and OpenIntro. (2022). OpenIntro online supplement.

https://www.openintro.org/go/?id=stat_better_understand_anova&referrer=/book/os/index.php (Last visited 19.05.2024).

Eek, L. and Kovtun-Kante., A. (2023). Eesti pinnaveekogumite seisundi 2022. aasta ajakohastatud vahehindang. Keskkonnaagentuur, Tallinn.

<https://keskkonnaportaal.ee/et/teemad/vesi/pinnavesi/pinnaveekogumite-seisundiinfo> (Last visited 18.05.2024).

EUKARYOME andmebaasi koduleht: <https://eukaryome.org/> (Last visited 24.05.2024)

FAVORGEN BIOTECH CORP kodulehekülg: <https://www.favorgen.com/en> (Last visited 16.05.2024).

FAVORGEN BIOTECH CORP (n.d). FavorPrep™ GEL/PCR Purification Kit protokoll:

<https://www.favorgen.com/data/manual/files/1679534782968656194.pdf> (Last visited 16.05.2024).

FUNACTION koduleht: <https://funaction.eu/> (Last visited 18.05.2024).

Greenacre, M. (2008). Correspondence Analysis and Related Methods, chapter on non-Euclidean distance. Department of Statistics, Stanford University.

<https://www.econ.upf.edu/~michael/stanford/> (Last visited 18.05.2024).

Jones, E. B. G., Pang, K.-L., Abdel-Wahab, M. A ... Norphanphoun, C. (2024). Marine Fungi.

<https://www.marinefungi.org/> (Last visited 19.05.2024).

Joogivee kvaliteedi- ja kontrollinõuded ja analüüsimeetodid ning tarbijale teabe esitamise nõuded. (08.09.2023). Riigi Teataja I.

<https://www.riigiteataja.ee/akt/126092019002?leiaKehtiv> (Last visited 19.05.2024).

Keskkonnaagentuur. (n.d). Eesti looduse infosüsteem. <https://infoleht.keskkonnainfo.ee/> (Last visited 18.05.2024).

Thermo Fisher Scientific koduleht: <https://www.thermofisher.com/ee/en/home.html> (Last visited 20.05.2024)

Maa-amet. (2024). X-GIS 2. <https://xgis.maaamet.ee/xgis2/page/app/maainfo> (Last visited 20.05.2024).

Maa-amet. (2018). Maa-ameti avatud ruumiandmete litsents, 01.07.2018. https://geoportaal.maaamet.ee/docs/Avaandmed/ETAK_ruumiandmete_litsentsileping.pdf (Last visited 20.05.2024).

MACHEREY-NAGEL koduleht: <https://www.mn-net.com/> (Last visited 19.05.2024).

MACHEREY-NAGEL. (2023). User manual. DNA and RNA from water. NucleoMag® DNA/RNA Water. 21-23, 27-28. <https://www.mn-net.com/media/pdf/ce/b5/38/Instruction-NucleoMag-DNA-RNA-Water.pdf> (Last visited 19.05.2024).

McMurdie, P. J. (2022). phyloseq: Explore microbiome profiles using R. <https://joey711.github.io/phyloseq/> (Last visited 19.05.2024).

Meier, L. (2023). ANOVA and Mixed Models: A Short Introduction Using R. Chapter 5 Complete Block Designs. <https://people.math.ethz.ch/~meier/teaching/anova/block-designs.html> (Last visited 17.05.2024)

Merck Millipore koduleht: <https://www.merckmillipore.com/INTL/en> (Last visited 15.05.2024).

MoSTFun koduleht: <https://mostfun.eu/> (Last visited 18.05.2024).

National Bioinformatics Infrastructure Sweden koduleht: <https://nbis.se/> (Last visited 15.05.2024)

National Institute of Standards and Technology. (n.d). 7.4.3.2. The one-way ANOVA model and assumptions. <https://www.itl.nist.gov/div898/handbook/prc/section4/prc432.htm> (Last visited 15.05.2024).

Nõuded plusveele ja supelrannale. (19.05.2024). Riigi Teataja I. <https://www.riigiteataja.ee/akt/108102019004> (Last visited 19.05.2024).

Oksanen., J. (2024). vegan: Community Ecology Package. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/> (Last visited 19.05.2024).

Oksanen., J. (2024). Vegan: ecological diversity. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vignettes/diversity-vegan.pdf> (Last visited 19.05.2024).

Oslo Ülikooli koduleht: <https://www.uio.no/english/> (Last visited 20.05.2024)

Pacific Biosciences koduleht: <https://www.pacb.com/> (Last visited 16.05.2024).

Pacific Biosciences. (2024). lima - Demultiplex PacBio data <https://github.com/PacificBiosciences/barcoding> (Last visited 16.05.2024).

Pedersen, T. (2024). patchwork: The Composer of Plots. R package version 1.2.0.9000. <https://github.com/thomasp85/patchwork> (Last visited 15.05.2024).

Posit team. (2024). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. <http://www.posit.co/> (Last visited 15.05.2024).

QIAGEN koduleht: <https://www.qiagen.com/us> (Last visited 15.05.2024).

QIAGEN. (2016). Quick-Start Protocol MagAttract® PowerSoil® DNA KF Kit. <https://www.qiagen.com/nl/resources/resourcedetail?id=d345d67f-5b5a-42ae-95cf-5a32ac755da0&lang=en&Print=1> (Last visited 15.05.2024).

Quebec centre for biodiversity science. (2023). (DIS)SIMILARITY MEASURES. Chapter 10 Transformations. <https://r.qcbs.ca/workshop09/book-en/transformations.html> (Last visited 15.05.2024).

R Core Team. (2024). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org> (Last visited 15.05.2024)

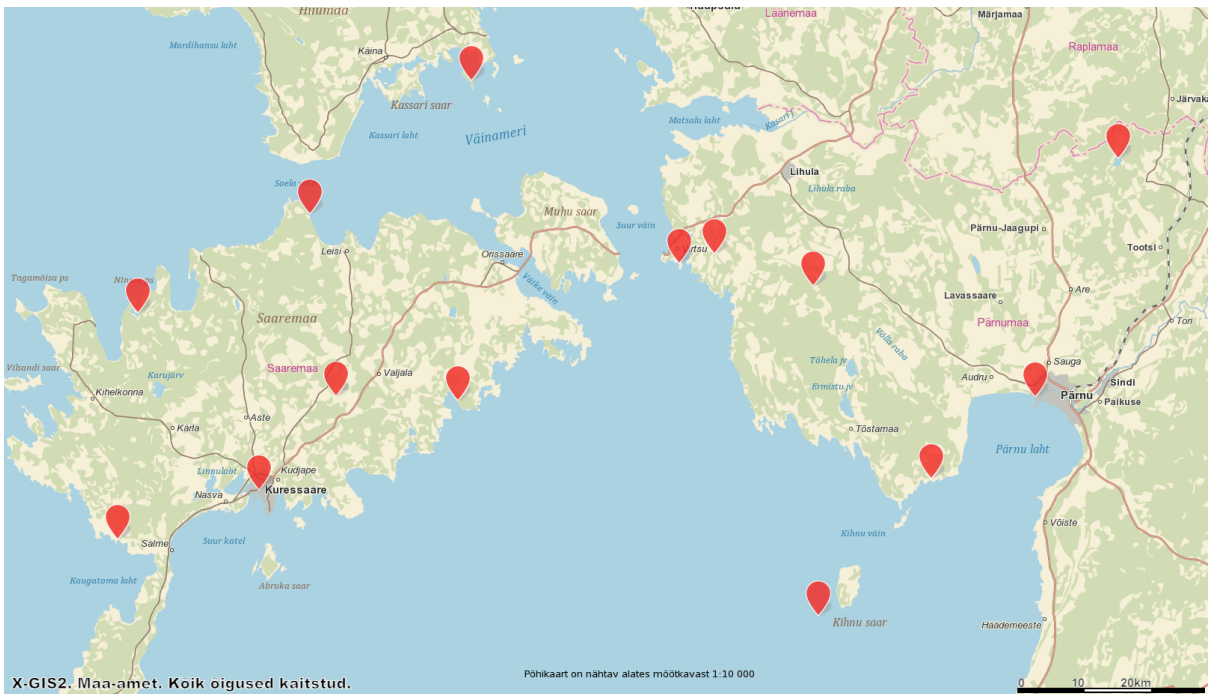
Sapkota, A. (2023). ANOVA: Definition, one-way, two-way, table, examples, uses. <https://microbenotes.com/anova/> (Last visited 15.05.2024).

Solis BioDyne koduleht: <https://solisbiodyne.com/EN/> (Last visited 16.05.2024).

Solis BioDyne. (2021). FIREPol® Master mix data sheet. https://solisbiodyne.com/pics/9751_DS-04-11-125_v2_FIREPol_Master_Mix_with_12.5_mM_MgCl2_revised_18.10.2021.pdf (Last visited 16.05.2024)

University of Idaho. (2009). Estimating Biodiversity. College of Natural Resources. [https://www.webpages.uidaho.edu/veg_measure/modules/lessons/module%209\(composition&diversity\)/9_3_Estimating%20Biodiversity.htm](https://www.webpages.uidaho.edu/veg_measure/modules/lessons/module%209(composition&diversity)/9_3_Estimating%20Biodiversity.htm) (Last visited 19.05.2024).

Wichkam, H., Chang, W., Henry, L., Pedersen, T. L., Takahashi, K., Wilke, C., Woo, K., Yutani, H., Dunnington, D. and van den Brand, T. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. <https://ggplot2.tidyverse.org/index.html> (Last visited 15.05.2024).



Lisa 2: Modifitseeritud protokoll Sterivex™ filtritest DNA eraldamiseks NucleoMag® DNA/RNA Water (MACHERY-NAGEL, Saksamaa) komplektiga

Reagendid

Lahus	Funktsioon
C1	Lüüsilahus
Binding Buffer MWA2	Nukleiinhapete sidumispuhver
Wash buffer MWA3	Pesulahus
Wash buffer MWA4	Pesulahus
NucleoMag® B-Beads	Nukleiinhapete sidumine
RNase-vaba H ₂ O	DNA elueerimine

Kuluvahendid

Luer-Lock süstlad (3ml) (REF: 4617022V) (B. Braun, Saksamaa)
Luer-lock korgid (REF: 4495101) (B. Braun, Saksamaa)
NucleoSpin Bead Tube Type A tuubid (REF: 740786.50) (MACHERY-NAGEL, Saksamaa)
KingFisher™ 96 deep-well plate plaadid (REF: 95040450) (Thermo Fisher Scientific, US)
KingFisher™ 96 microplate (200µL) (REF: 97002540) (Thermo Fisher Scientific, US)
KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets (REF: 97002534) (Thermo Fisher Scientific, US)

Ettevalmistavad etapid:

1. Eemaldada Luer-Lock süstlaga Sterivex™ filtrilt säilituspuhver (etanool). Eemaldatud etanool panna 2 ml Eppendorf tuubi.
2. Tühjendatud Sterivex™ panna kuumakappi 56 °C juurde, et aurustada välja etanool.
3. 2 ml tuubid etanooliga tsentrifuugida 5 min 11000 g juures.
4. Eemaldada pelletilt etanool ja panna tuub lahtiselt 56 °C juurde kuivama.

Lüüsimine:

1. Kuivatatud pelletile pipeteerida 900 µl C1 lüüsilahust. Pellet lahustada pipetiga 10 korda üles-alla pipeteerides.

2. Kuivanud Sterivex™ filtri *outlet* ots sulgeda Luer-lock korgiga. Lisada Sterivex™ filtrile C1 lahus koos eelnevas etapis lahustatud pelletiga. Sulgeda Sterivex™'i *inlet* ots Luer-lock korgiga.
3. Loksutada Sterivex™ filtrit 5 min vorteksil maksimaalsel kiirusel.
4. Panna Sterivex™ kuumakappi 70 °C juurde inkubeerimiseks.
5. Loksutada uuesti Sterivex™ filtrit 5 min vorteksil maksimaalsel kiirusel.
6. Eemaldada Luer-Lock süstlaga Sterivex™ tuubist lüüsilahus. Lüüsilahus lisada *beads*'idega NucleoSpin Bead Tube Type A tuubi.
7. Lüüsida edasi mehhaaniliselt: tuub loksutada 5 min vorteksile maksimaalsel kiirusel.
8. Tuub tsentrifuugida 30 s 11000 g juures.

Ettevalmistused pesu- ja elueerimisetappidele:

1. Tõsta igast proovist 450 µl lüsaati KingFisher™ 96 deep-well plate plaadi süvenditesse.
2. Pipeteerida proovidele 475 µl MWA2 ja 25 µl NucleoMag® B-Beads lahust.
3. Pipeteerida kahele KingFisher™ 96 deep-well plate plaadi süvenditesse 850 µl MWA3 pesulahust.
4. Pipeteerida ühele KingFisher™ 96 deep-well plate plaadi süvenditesse 850 µl MWA4 lahust.
5. Pipeteerida 100 µl RNase-vaba H₂O KingFisher 96 microplate plaadi süvenditesse.

Pesu- ja elueerimisetapid on automatiseeritud ja läbi viidud KingFisher™ Flex System aparaadil (Thermo Fisher Scientific, US) lähtuvalt NucleoMag® DNA/RNA Water tootjapoolsest protokollist (MACHEREY-NAGEL, 2023)

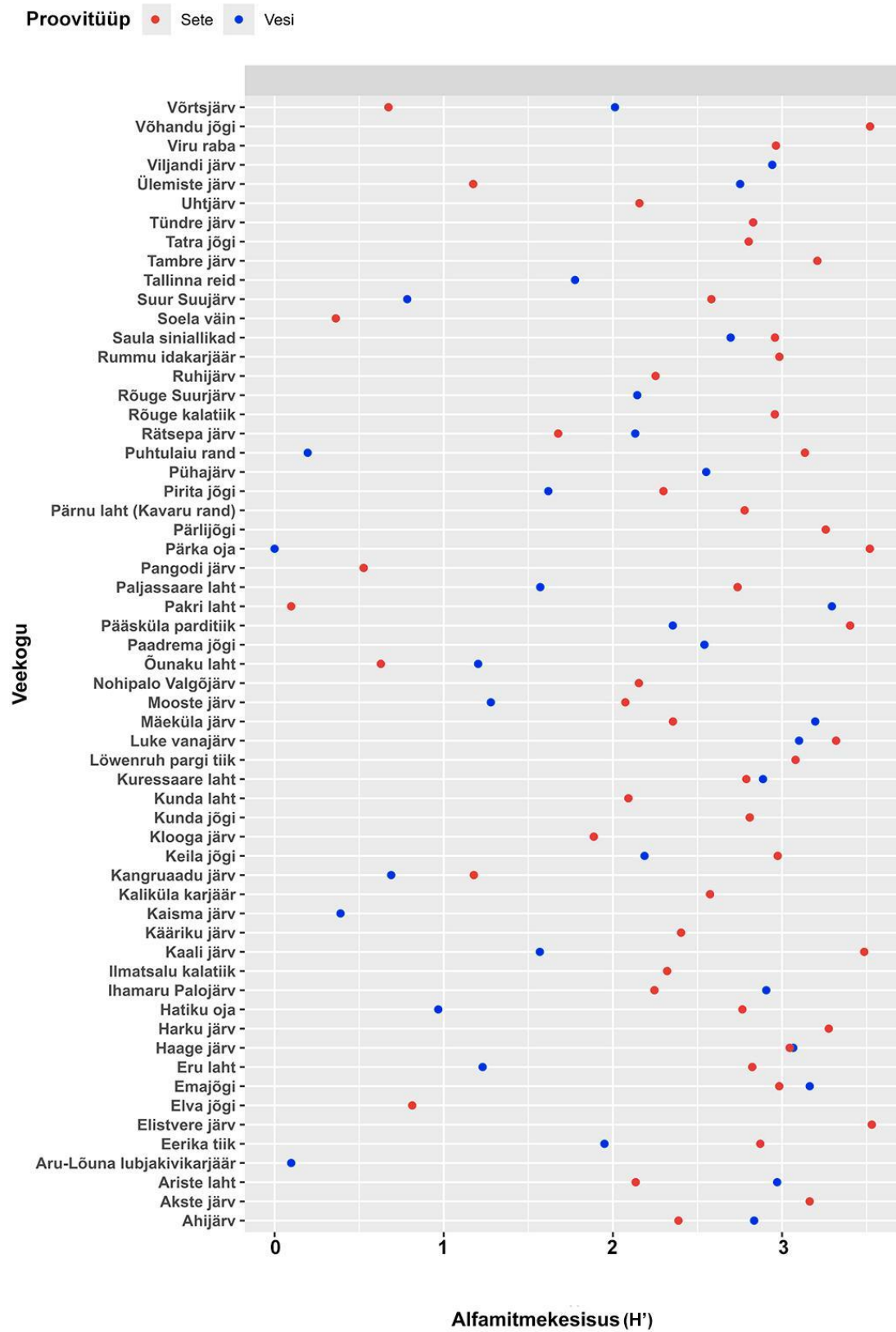
Lisa 3: Kasutatud praimerid ja nende järjestused

5'→3' praimer	Järjestus	3'→5' praimer	Järjestus
ITS9mun_201	ACAACACTCCGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_201	ACAACACTCCGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_202	ACAAGTGCTGCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_202	ACAAGTGCTGCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_203	ACACAGTCCTGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_203	ACACAGTCCTGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_204	ACACCAACACCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_204	ACACCAACACCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_205	ACACCGCACAAATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_205	ACACCGCACAAATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_206	ACACTTCGGCAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_206	ACACTTCGGCAAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_214	ACCAGCTCAGATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_214	ACCAGCTCAGATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_215	ACCAGTGACTCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_215	ACCAGTGACTCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_216	ACCATCCAACGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_216	ACCATCCAACGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_217	ACCGACGCTTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_217	ACCGACGCTTGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_218	ACCGATTAGGTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_218	ACCGATTAGGTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_219	ACCGGAGTAGGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_219	ACCGGAGTAGGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_220	ACCGTAAGACATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_220	ACCGTAAGACATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_221	ACCGTGCTCACAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_221	ACCGTGCTCACAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_222	ACCTACTTGTCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_222	ACCTACTTGTCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_223	ACCTATGGTGAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_223	ACCTATGGTGAAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_224	ACCTCTATTCGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_224	ACCTCTATTCGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_225	ACCTGATCCGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_225	ACCTGATCCGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_226	ACCTTACACCTTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_226	ACCTTACACCTTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_227	ACCTTGACAAGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_227	ACCTTGACAAGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_228	ACGACCTACGCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_228	ACGACCTACGCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_229	ACGACTGCATAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_229	ACGACTGCATAAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_230	ACGAGACTGATTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_230	ACGAGACTGATTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_231	ACGAGGAGTCGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_231	ACGAGGAGTCGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_238	ACGCTGTGGTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_238	ACGCTGTGGTGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_239	ACGGCGTTATGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_239	ACGGCGTTATGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_242	ACGTGCCTTAGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_242	ACGTGCCTTAGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC

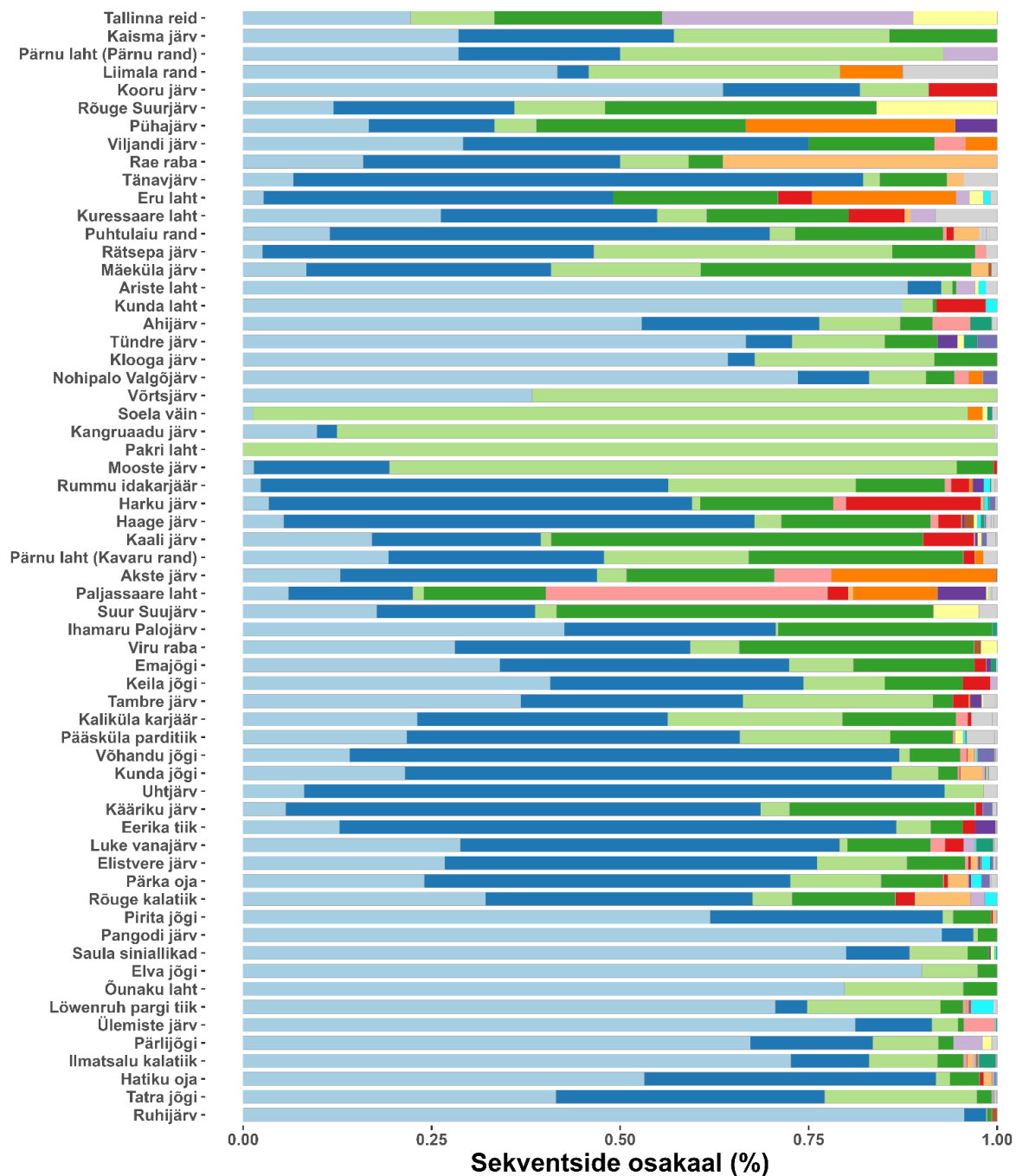
ITS9mun_244	ACTAATACGCGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_244	ACTAATACGCGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_245	ACTACCTCTTCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_245	ACTACCTCTTCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_246	ACTACTGAGGATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_246	ACTACTGAGGATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_249	ACTCACAGGAATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_249	ACTCACAGGAATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_250	ACTCATCTTCCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_250	ACTCATCTTCCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_251	ACTCCTTGTTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_251	ACTCCTTGTTGTCgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_252	ACTCGGCCAACTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_252	ACTCGGCCAACTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_253	ACTCTAGCCGGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_253	ACTCTAGCCGGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_254	ACTGAGCTGCATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_254	ACTGAGCTGCATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_255	ACTGTACATGAGGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_255	ACTGTACATGAGcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_256	ACTGTCGCAGTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_256	ACTGTCGCAGTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_257	ACTTCGGATGCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_257	ACTTCGGATGCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_258	AGAACCGTCATAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_258	AGAACCGTCATAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_259	AGAACTTGACGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_259	AGAACTTGACGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_260	AGAAGGCCTTATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_260	AGAAGGCCTTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_261	AGAATAGCGCTTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_261	AGAATAGCGCTTCgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_262	AGACACCAATGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_262	AGACACCAATGTcgcCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_263	AGACATACCGTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_263	AGACATACCGTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_264	AGACGACGTGGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_264	AGACGACGTGGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_265	AGAGAGACAGGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_265	AGAGAGACAGGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_266	AGAGCATCCACTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_266	AGAGCATCCACTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_267	AGAGCGGAACAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_267	AGAGCGGAACAACgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_268	AGAGTCTTGCCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_268	AGAGTCTTGCCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_273	AGCAACATTGCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_273	AGCAACATTGCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_274	AGCAATCGGTATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_274	AGCAATCGGTATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_275	AGCACCGGTCTTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_275	AGCACCGGTCTTCgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_276	AGCAGAACATCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_276	AGCAGAACATCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_277	AGCAGGCACGAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_277	AGCAGGCACGAACgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_278	AGCCGACTCTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_278	AGCCGACTCTGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_279	AGCCGGAGAGTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_279	AGCCGGAGAGTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC

ITS9mun_280	AGCCTGGTACCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_280	AGCCTGGTACCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_281	AGCGAACCTGTTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_281	AGCGAACCTGTTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_282	AGCGAGAAGTGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_282	AGCGAGAAGTGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_283	AGCGCATATCCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_283	AGCGCATATCCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_284	AGCGGCCTATTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_284	AGCGGCCTATTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_285	AGCGTCTGAACTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_285	AGCGTCTGAACTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_287	AGCTAGCGTTCAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_287	AGCTAGCGTTCAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_288	AGCTGCACCTAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_288	AGCTGCACCTAAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_289	AGCTGTCAAGCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_289	AGCTGTCAAGCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_290	AGCTTCGACAGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_290	AGCTTCGACAGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_291	AGGCTCCATGTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_291	AGGCTCCATGTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_292	AGGCTTACGTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_292	AGGCTTACGTGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_293	AGGTACGCAATTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_293	AGGTACGCAATTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_294	AGGTATTACCGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_294	AGGTATTACCGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_295	AGGTGAGTTCTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_295	AGGTGAGTTCTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_304	AGTCCGAGTTGTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_304	AGTCCGAGTTGTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_305	AGTCGCTACACAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_305	AGTCGCTACACAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_306	AGTCGTGCACATGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_306	AGTCGTGCACATcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_307	AGTGACTGTCAAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_307	AGTGACTGTCAAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_308	AGTGATGTGACTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_308	AGTGATGTGACTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_309	AGTGCTAGGTTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_309	AGTGCTAGGTTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_310	AGTGTACCATGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_310	AGTGTACCATGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_311	AGTGTGAACGTTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_311	AGTGTGAACGTTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_312	AGTTACGAGCTAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_312	AGTTACGAGCTAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_313	AGTTCCACGGCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_313	AGTTCCACGGCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_314	AGTTGAGGCATTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_314	AGTTGAGGCATTcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_315	AGTTGTTACGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_315	AGTTGTTACGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_207	ACAGACGACGGAGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_207	ACAGACGACGGAcgCCTSCSCTTANTDATATGC
ITS9mun_269	AGATAGCTCGCTGTACACACCGCCCGTCG	ITS4ngsUni_269	AGATAGCTCGCTcgCCTSCSCTTANTDATATGC

Lisa 4: Seente alfamitmekesisus kõikides veekogudes



Lisa 5: Setteproovide 15 enimlevinud seenehõimkondade sekventsidesse protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes

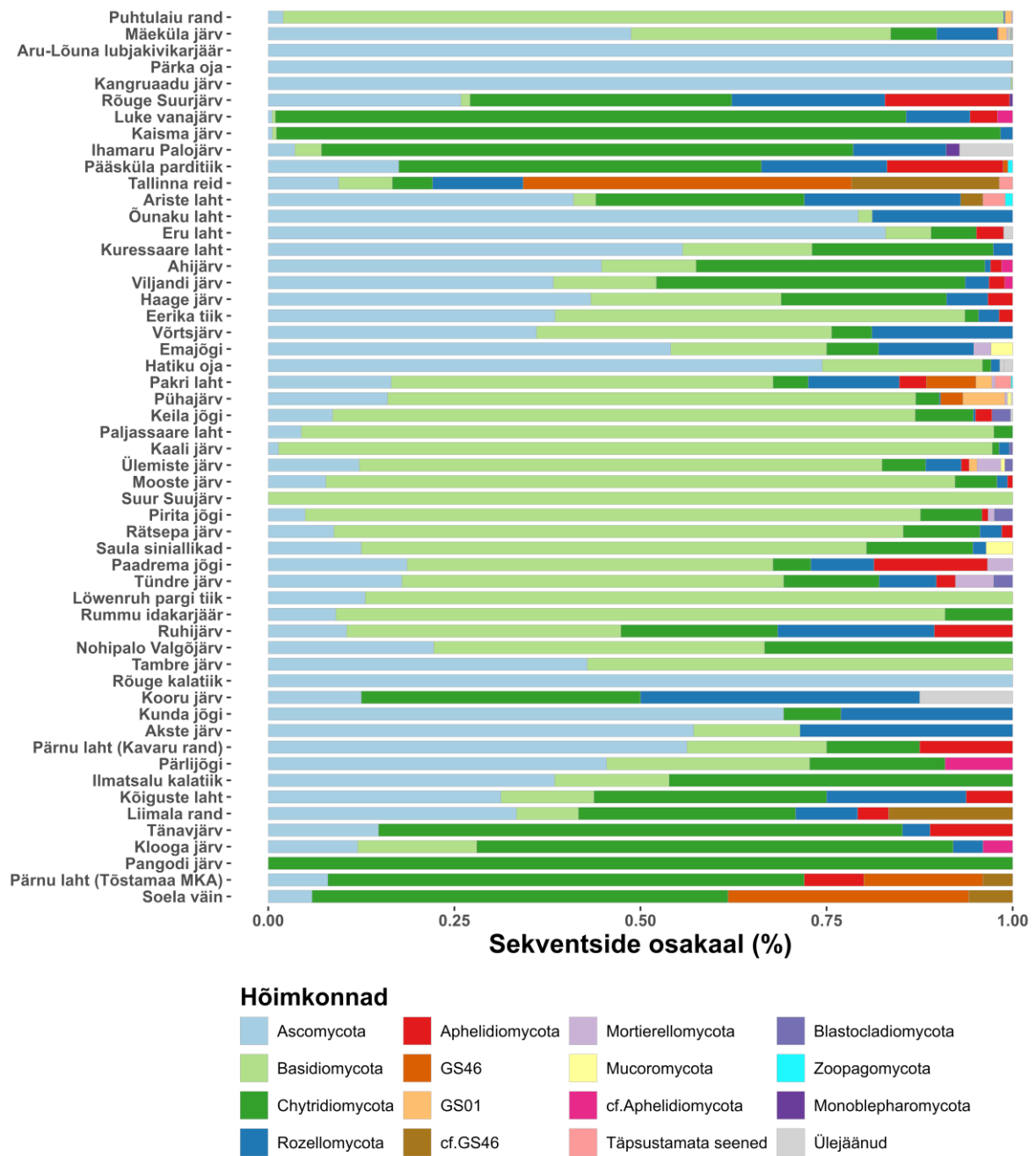


Hõimkonnad



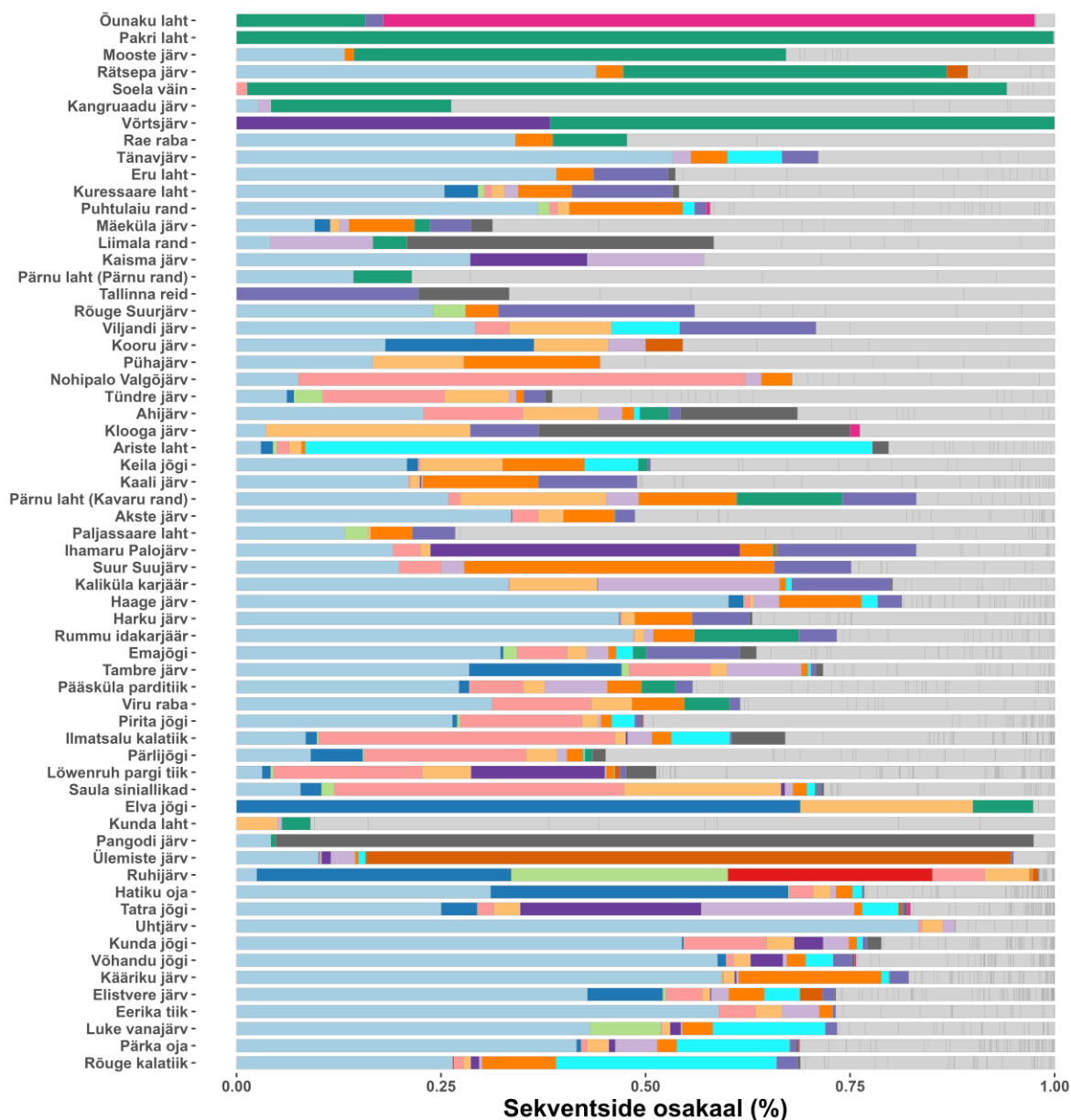
Tuvastamata seente hk- täpsemalt identifitseerimata seened

Lisa 6: Veeproovide 15 enimlevinud seenehõimkondade sekventsides protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude veeproovides



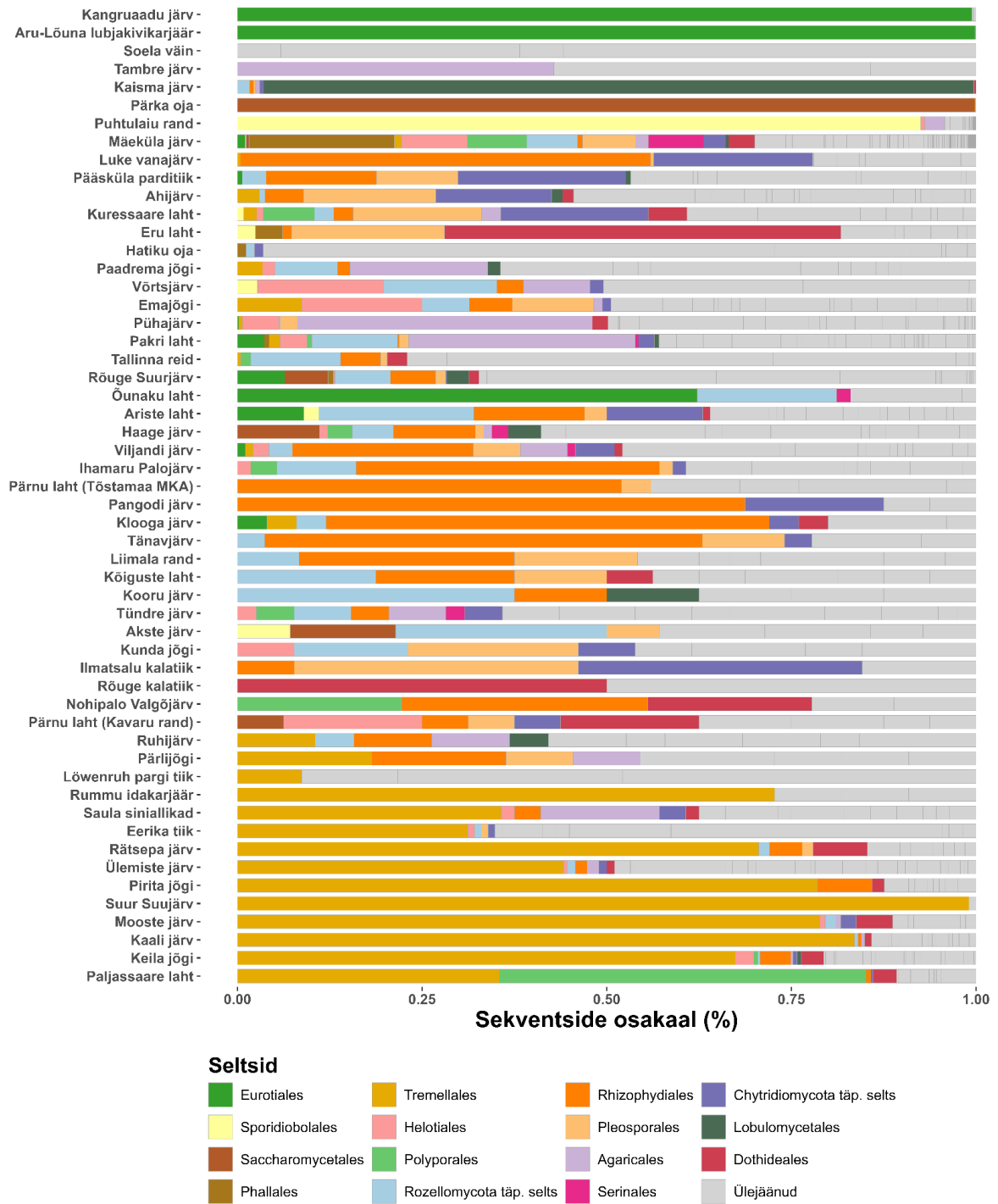
Täpsustamata seened - täpsemalt identifitseerimata seened.

Lisa 7: Setteproovide 15 enimlevinud seeneseltside sekventsiaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes



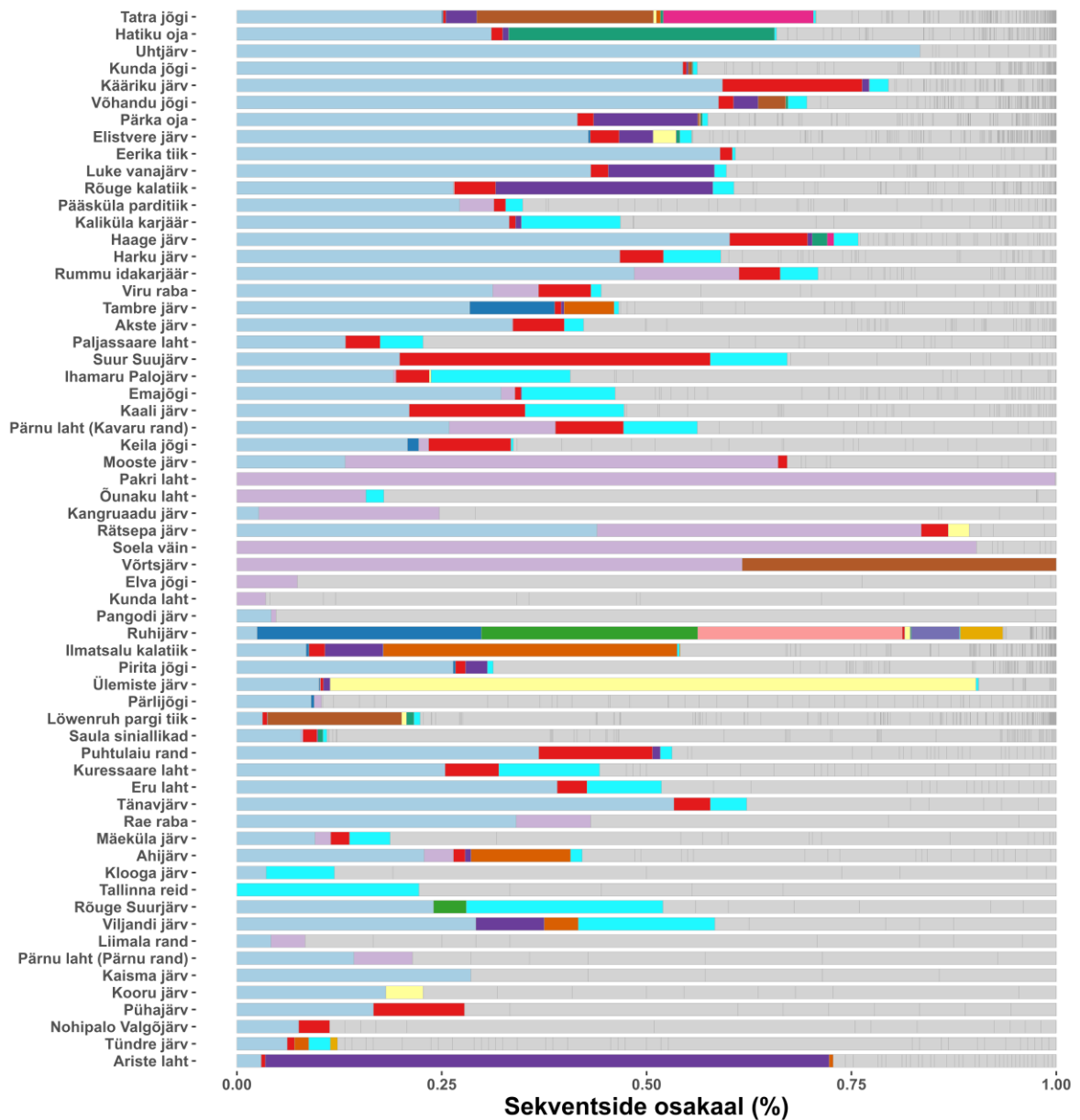
täp. selts - täpsustamata seltsid ehk seltsi tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 8: Veeproovide 15 enimlevinud seeneseltside sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikides veekogudes



täp. selts - täpsustamata seltsid ehk seltside tasemel tuvastamata OTU-d.

Lisa 9: Setteproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsaside protsentuaalsed osakaalud kõikide veekogude setetes

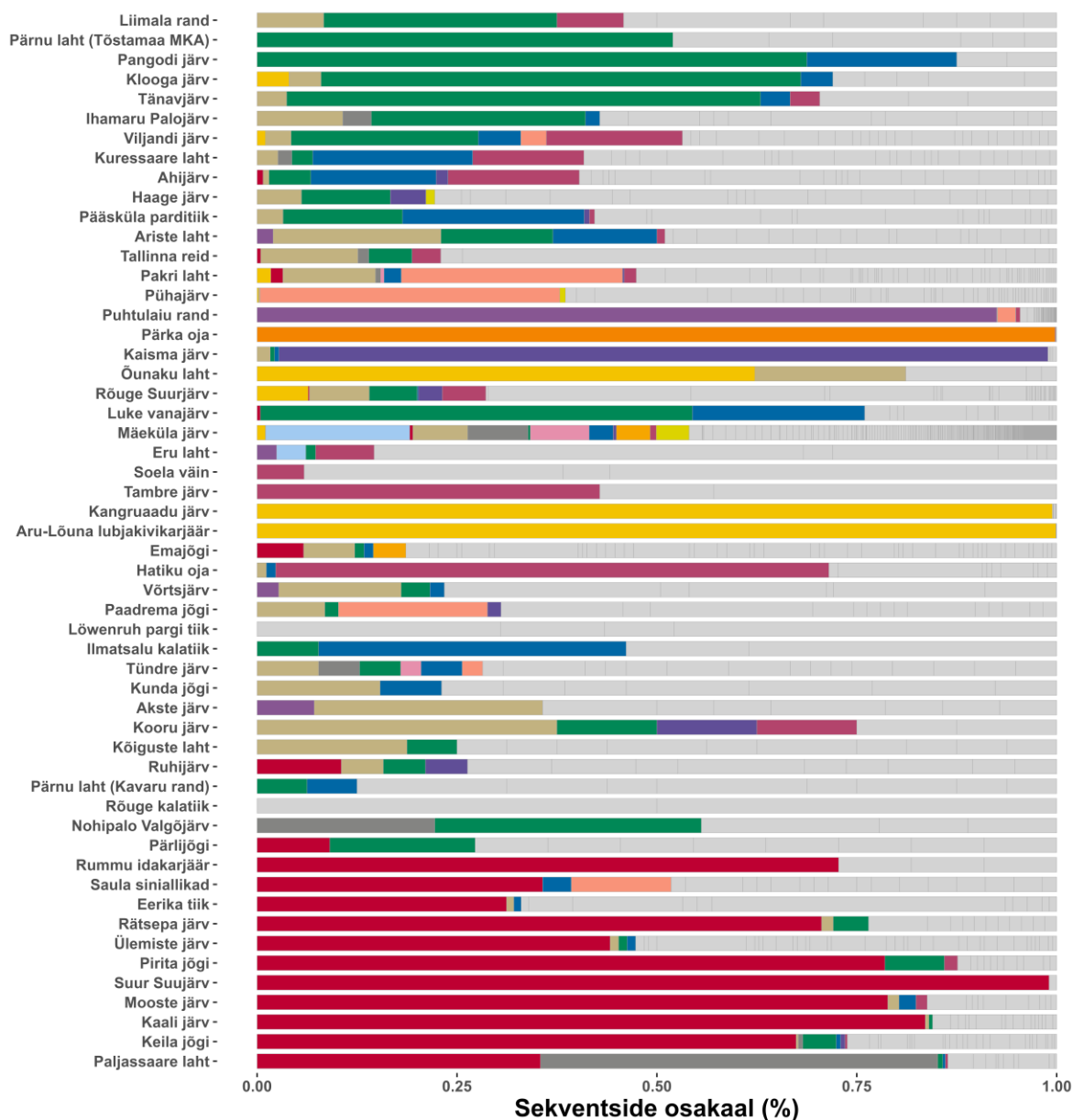


Perekonnad

- | | | | |
|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Rozellomycota täp. pk | Malassezia | Sordariomycetes täp. pk | Tulosesus |
| Schizothecium | Rhizophydiales täp. pk | Cistella | Chytridiomycota täp. pk |
| Natantispora | Pseudeurotium | Zopfiella | Phaeosphaeria |
| Phomatospora | Ascobolus | Variocladium | Ülejäänud |

täp. pk - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 10: Veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsise protsentuaalsed osakaalud kõikides veekogudes

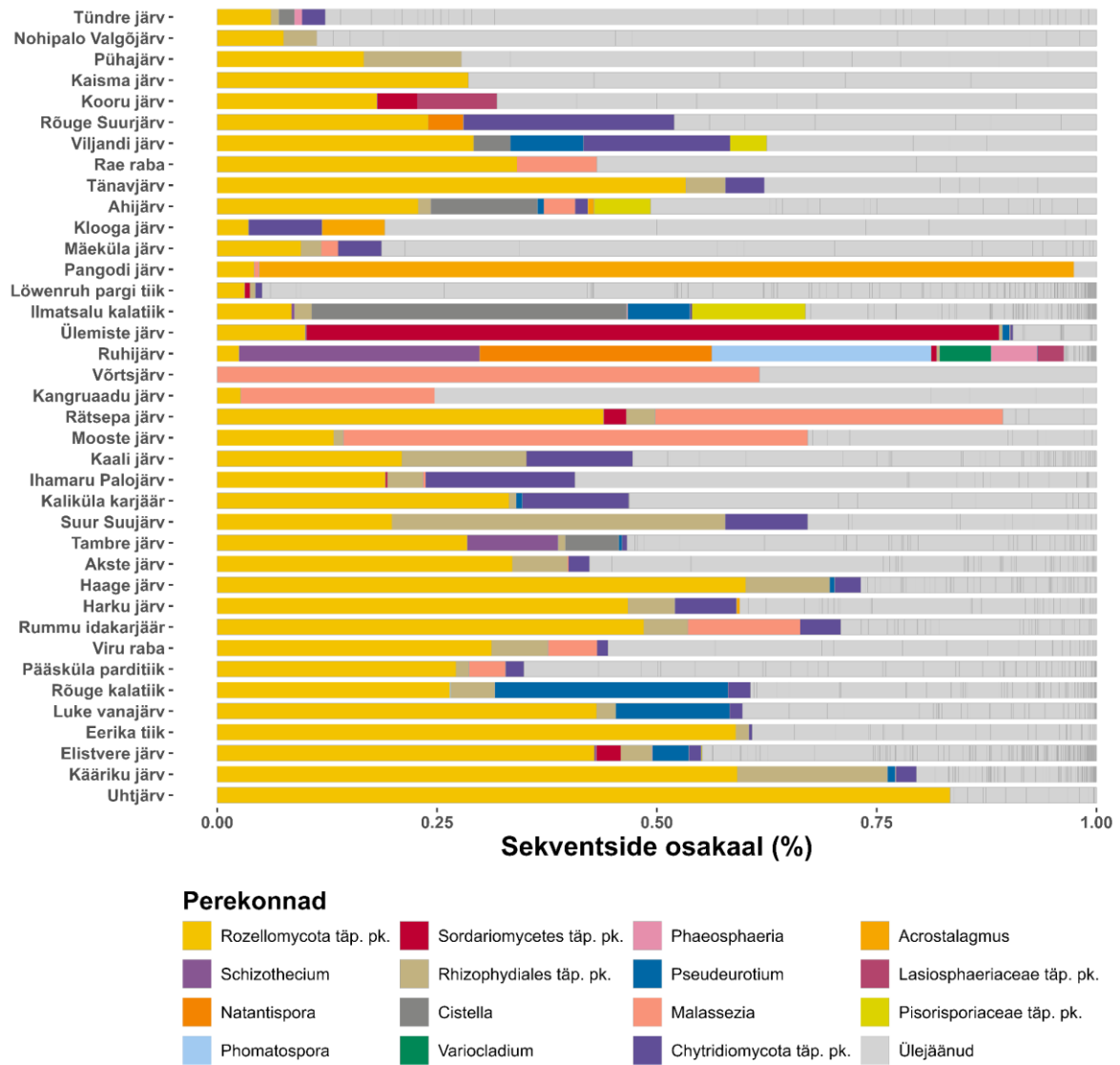


Perekonnad



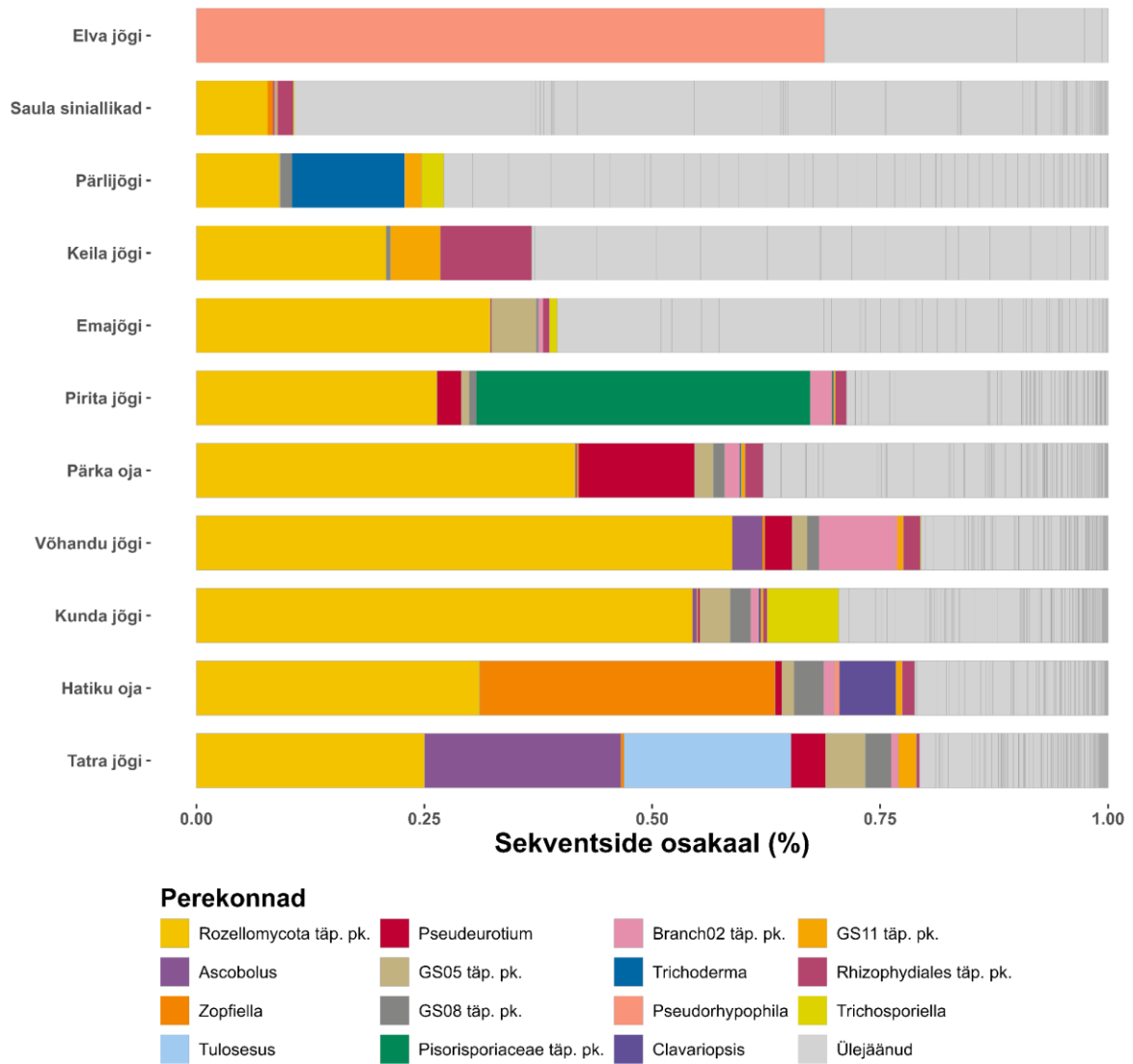
täp. pk - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 11: Seisuveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikide seisuveekogude setetes



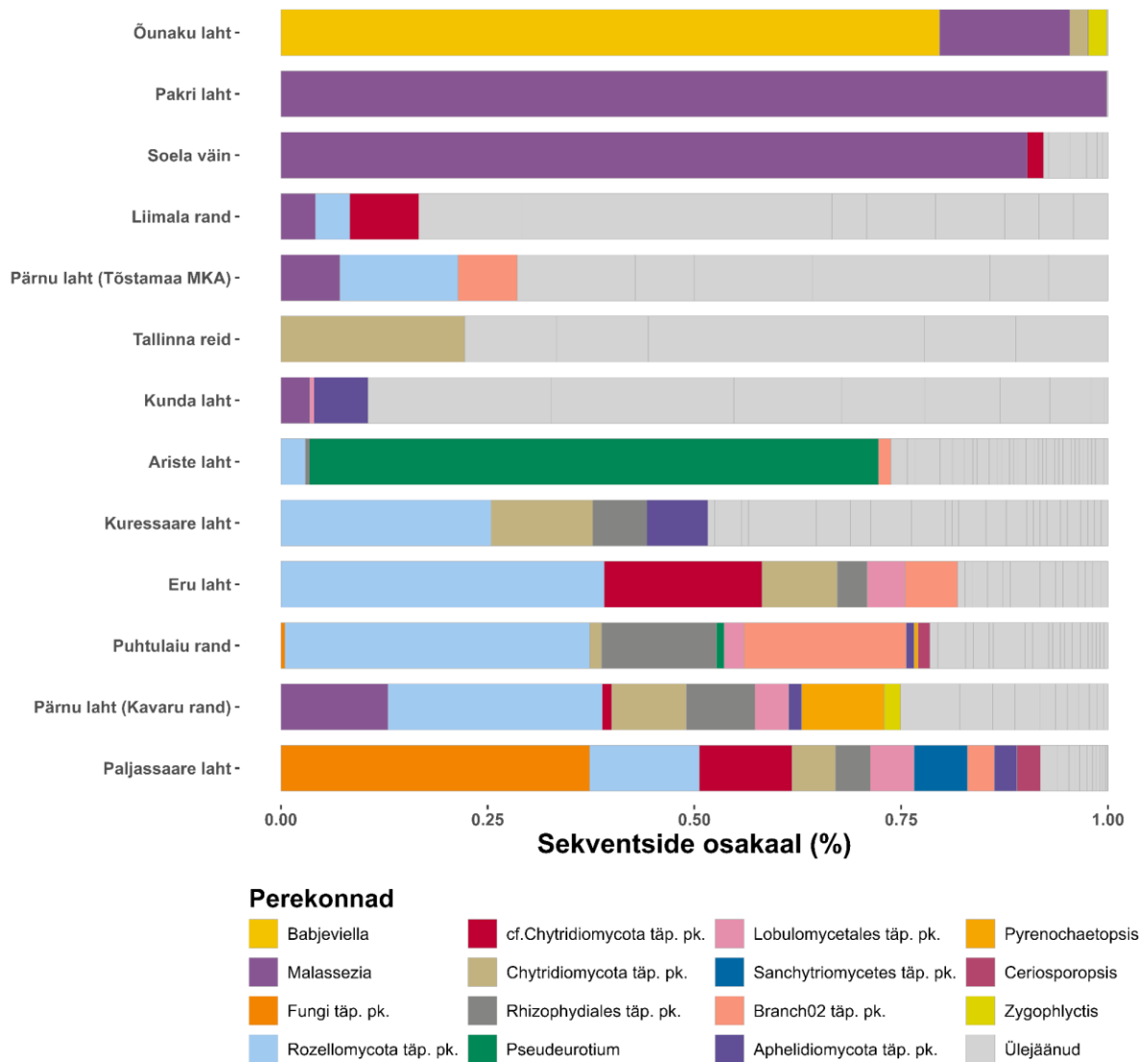
täp. pk - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 12: Vooluveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikides vooluveekogudes



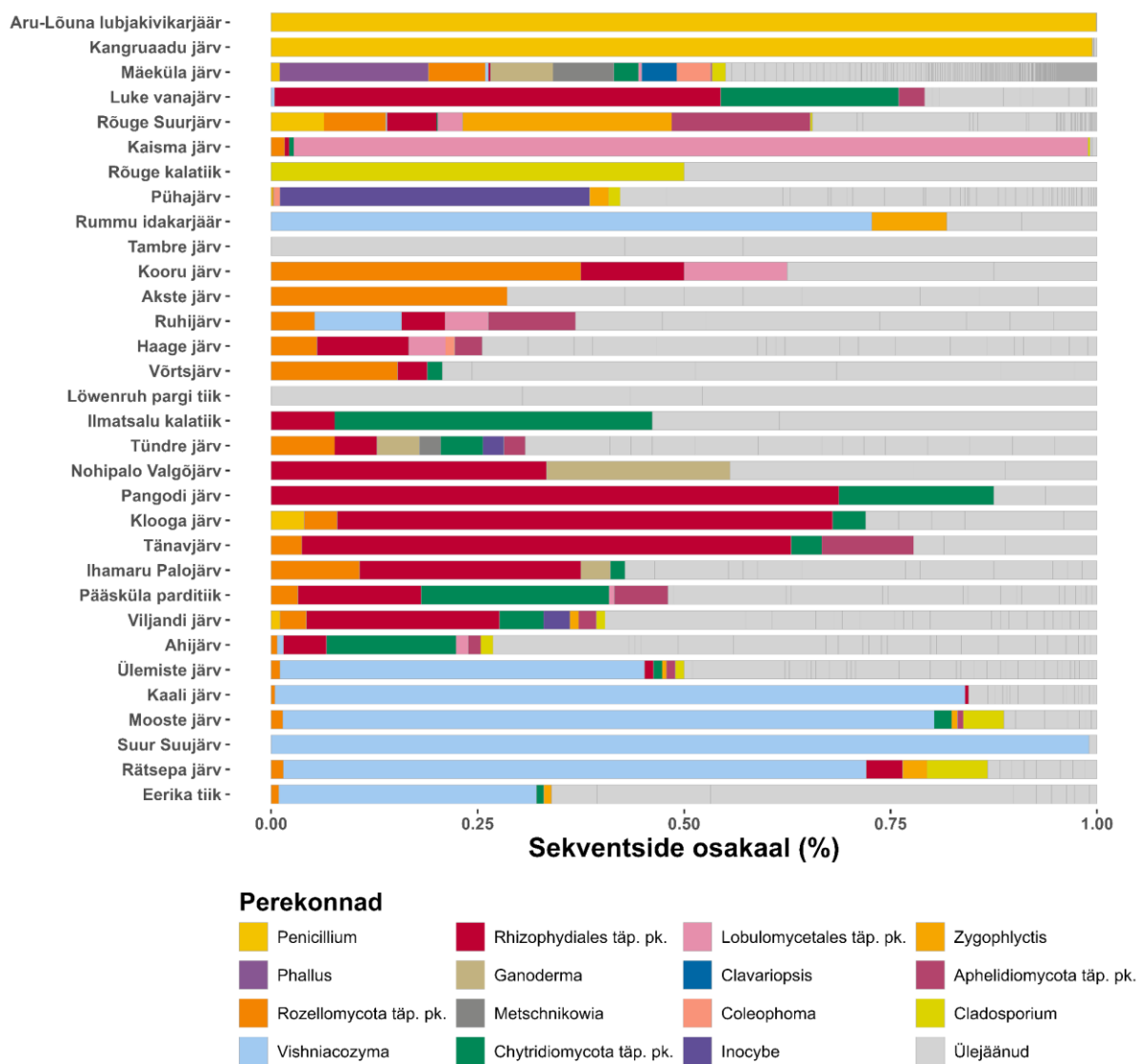
GS05, GS08, GS11 ja Branch02 kuuluvad *Rozellomycota* hõimkonda. täp. pk. - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 13: Mereveekogude setete 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikide mereveekogude setetes



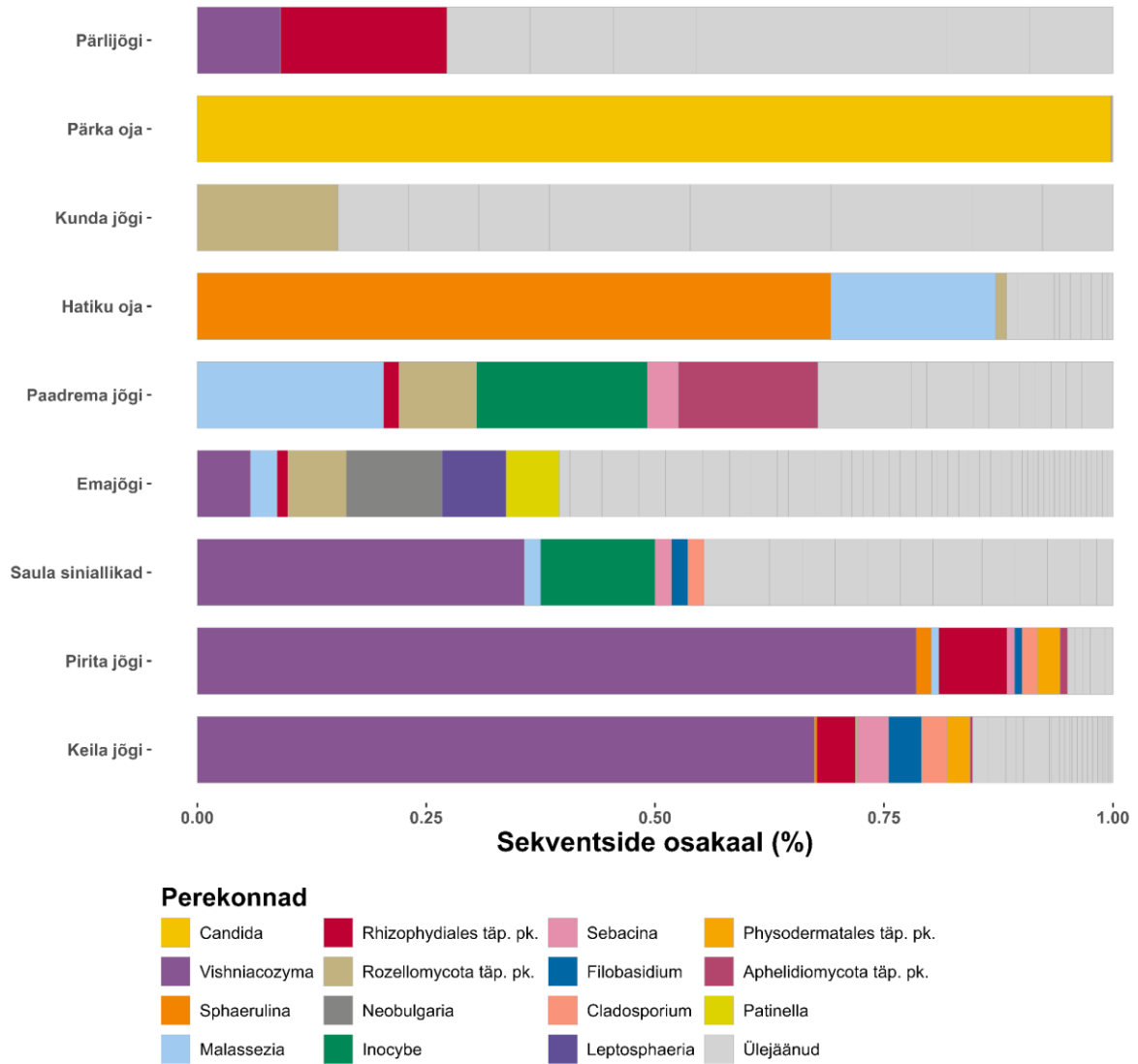
Branch02 kuulub *Rozellomycota* hõimkonda. täp. pk. - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 14: Seisuveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekonnade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikides seisuveekogudes



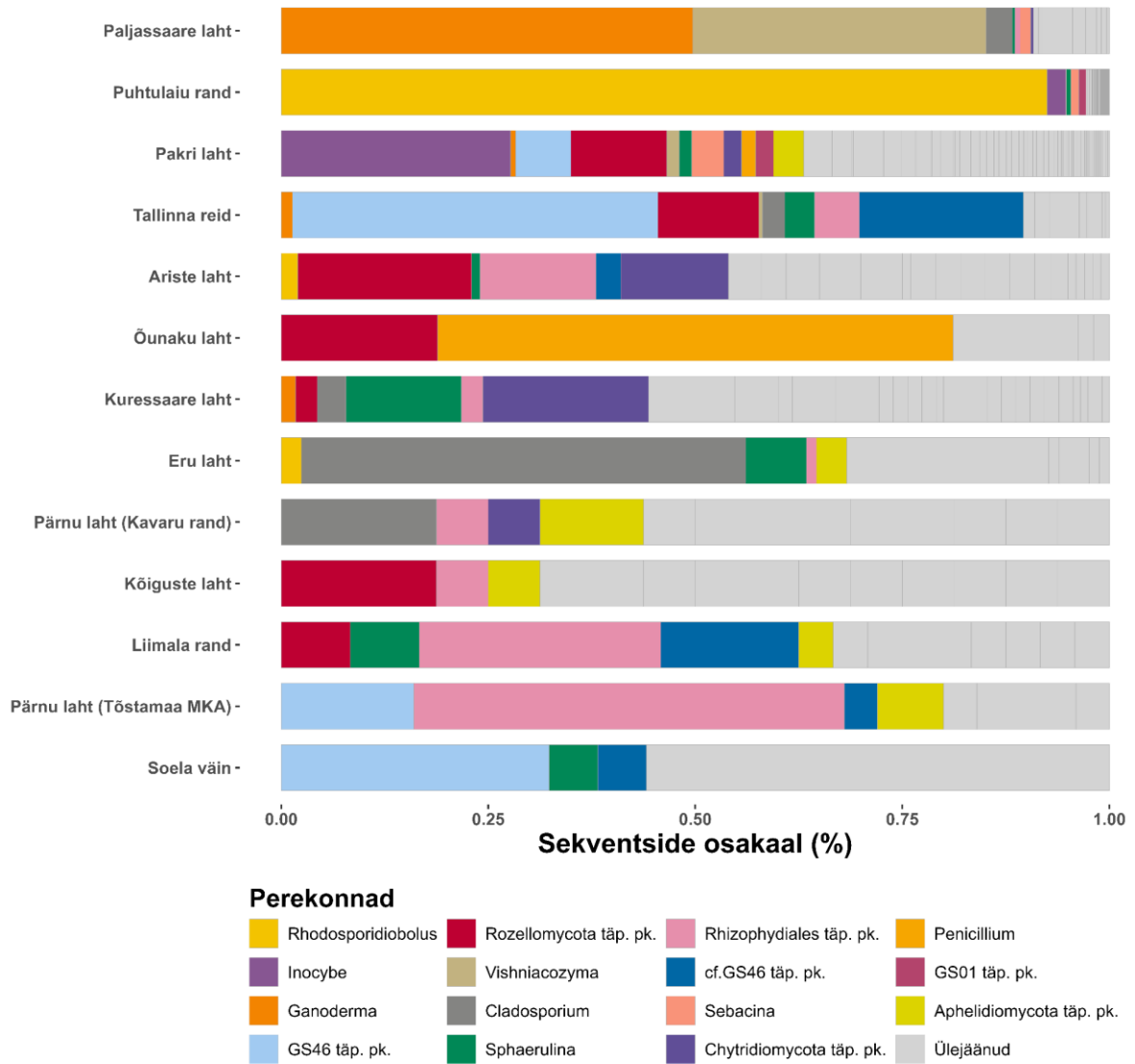
täp. pk. - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 15: Vooluveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikides vooluveekogudes



täp. pk. - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lisa 16: Mereveekogude veeproovide 15 enimlevinud seeneperekondade sekventsidi protsentuaalsed osakaalud kõikides mereveekogudes



täp. pk. - täpsustamata perekonnad ehk perekonna tasemel identifitseerimata OTU-d.

Lihtlitsents

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Victoria Prins,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose Seente mitmekesisus Eesti veekogude vees ja nende setetes, mille juhendaja on Kristel Panksep ja kaasjuhendaja Leho Tedersoo, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

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

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

Victoria Prins

29.05.2024