

Tartu Ülikool

Loodus- ja tehnoloogiateaduskond

Ökoloogia ja maateaduste instituut

Geograafia osakond

Magistritöö keskkonnatehnoloogias (30 EAP)

**Erinevate taimeliikide mõju mikrobioloogilisele metaani- ja
lämmastikuringele ning CH₄ ja N₂O emissioonidele riimveest
mõjutatud rannikul**

Kristin Pille

Juhendajad: teadur Mikk Espenberg, PhD

professor Ülo Mander, PhD

Kaitsmisele lubatud:

Juhendajad:

Osakonna juhataja:

Tartu 2020

Erinevate taimeliikide mõju mikrobioloogilisele metaani- ja lämmastikuringele ning CH₄ ja N₂O emissioonidele riimveest mõjutatud rannikul

Rannikualad on mitmekesised ökosüsteemid, mis on üha enam negatiivselt mõjutatud intensiivsest inimtegevusest ning kliimamuutusest. Üleliigsete toitainete (orgaaniline aine, lämmastik, fosfor) kontsentratsioone aitavad rannikul edukalt vähendada erinevad mikrobioloogilised protsessid ning taimed. Mitmete mikrobioloogiliste protsesside tagajärjel võib atmosfääri eralduda ka kahjulikke kasvuhoonegaase, sh metaani ja dilämmastikoksiidi. Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida erinevate taimeliikide mõju riimveeliste rannikualade mikrobioloogilise metaani- (metanogeenid, metanotroofid ja nitritist sõltuv anaeroobne metaani oksüdeerimine (n-damo)) ja lämmastikuringe protsessidele (nitrifikatsioon, denitrifikatsioon, dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammooniumiks (DNRA), molekulaarse lämmastiku (N₂) fikseerimine, anaeroobse ammooniumi oksüdeerimine (ANAMMOX) ja täielik ammooniumi oksüdeerimine (COMAMMOX)). Uuritavateks taimeliikideks olid kare-kaisla (*Schoenoplectus tabernaemontani*) ja hariliku pillirooga (*Phragmites australis*) kaetud alad Lääne-Eestis ning sooheina *Spartina alterniflora* ja kõrkja *Scirpus mariqueter* liigid Ida-Hiinas. Protsesside toimumise potentsiaali hinnati kvantitatiivse polümeraas-ahelreaktsiooni (qPCR) abil. Lisaks seostati protsesside geneetilist potentsiaali mõõdetud füüsikaliskemiliste parameetritega ning metaani ja naerugaasi emissioonidega. Tulemused näitasid, et erinevad taimeliigid mängivad olulist rolli emissiooni vahendamisel, kus tähtsateks võivad osutada nende vanuseline koosseis ning biomass. Rannikualadel oli suur geneetiline potentsiaal metaani vähendamisel n-damo protsessil, mis on esmakordne analoogilistes uurimustes. DNRA protsessi suurim geneetiline potentsiaal tuvastati Hiina uurimisalal, kuigi vähem oluline oli see Eesti pillirooga katsealal. Metaaniringe protsessid mõjutasid oluliselt metaanivoogusid Hiina rannikul, kus täheldati neli korda suuremaid metaani emissioone võrreldes Eestiga. Dilämmastikoksiidi eraldus atmosfääri nii denitrifikatsiooni kui ka nitrifikatsiooni tagajärjel.

Märksõnad: *rannikualad, lämmastikuringe, metaaniringe, metaani emissioon, naerugaasi emissioon*

CERCS: T270 *Keskkonnatehnoloogia, reostuskontroll*, B230 *Mikrobioloogia, bakterioloogia, viroloogia, mükoloogia*

Impact of different plant species on the microbial methane and nitrogen cycle and CH₄ and N₂O emissions on coasts affected by brackish water

Coastal areas are diverse ecosystems, which are increasingly vulnerable to intense human activity and the impacts of global change. Concentrations of excess nutrients (organic matter, nitrogen, phosphorus) are successfully reduced by various microbiological processes and plants on the coast. As a result of several microbiological processes, harmful greenhouse gases, including methane and nitrous oxide, can be released into the atmosphere. The aim of this master thesis was to study different plant species impact on the microbial methane (methanogens, methanotrophs and nitrite-dependent anaerobic methane oxidation (n-damo)) and nitrogen cycle (nitrification, denitrification, dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA), nitrogen (N₂) fixation, anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX), complete oxidation of ammonia to nitrate (COMAMMOX). The studied sites were covered with *Schoenoplectus tabernaemontani* and *Phragmites australis* in West-Estonia, and with *Spartina alterniflora* and *Scirpus mariqueter* in East-China. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to assess the genetic potential of microbiological methane and nitrogen cycle processes. In addition, the genetic potential of the processes was associated with measured physicochemical parameters with methane and nitrous oxide gas emissions. The results concluded that different plant species played an important role in mediating gas emissions, where their age composition and biomass may be important. In coastal areas, a high genetic potential for methane reduction in the n-damo process was identified, the first of its kind in similar studies. The greatest genetic potential of the DNRA process was identified in the Chinese research area, where the process was less likely to occur in the Estonia *Phragmites australis* study. Methane cycle processes significantly affected methane flows on the Chinese coast, where four times higher methane emissions were observed compared to Estonia. As a result of nitrification and denitrification, nitrous oxide was emitted to the atmosphere.

Keywords: *coastal areas, nitrogen cycle, methane cycle, methane emission, nitrous oxide emission*

CERCS: T270 *Environmental technology, pollution control*, B230 *microbiology, bacteriology, virology, mycology*

Sisukord

Kasutatud lühendid	6
Sissejuhatus	8
1. Kirjanduse ülevaade	10
1.1. Rannikute ökosüsteemid ja probleemid	10
1.1.1. Metaani (CH ₄) emissioonid	11
1.1.2. Naerugaasi (N ₂ O) emissioonid	12
1.2. Rannikuala protsessid	13
1.2.1. Metaaniringe	14
1.2.2. Lämmastikuringe	16
1.2.2.1. Lämmastikuringe geenid	17
2. Metoodika.....	19
2.1. Prooviala kirjeldus	19
2.1.1. Eesti uurimisala	19
2.1.2. Hiina uurimisala	20
2.2. Gaasiemissioonide mõõtmine	21
2.3. Vee-, sette- ja taimeproovide kogumine ja analüüs	22
2.4. DNA eraldamine	23
2.5. Geenikoopiate arvukuse määramine setteproovidest qPCR meetodil	23
2.6. Andmeanalüüs ja autori osalus	26
3. Tulemused	27
3.1. Vee, mulla ja taimede füüsikalised-keemilised parameetrid	27
3.2. Metaani ja naerugaasi emissioonid	29
3.3. Mikroobikoosluste parameetrid	31
3.3.1. Metaaniringe.....	31
3.3.2. Lämmastikuringe.....	34
3.3.3. Geeniparameetrite omavahelised suhted.....	35

3.3.4. Geeniparameetrite seosed füüsikalis-keemiliste näitajatega	36
4. Arutelu.....	38
Kokkuvõte	42
Summary.....	44
Tänuavaldused.....	46
Kasutatud kirjandus	47
Lisad	59

Kasutatud lühendid

amoA – nitrifikatsiooni markergeen ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$)

ANAMMOX (ingl *anaerobic ammonium oxidation*) – anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon

Ca – kaltsium

CH_4 – metaan ehk metüülhüdriid

CO_2 – süsihappegaas ehk süsinikdioksiid

COMAMMOX (ingl *complete oxidation of ammonia to nitrate*) – täielik ammooniumi oksüdeerimine

DC – lahustunud üldsüsinik

DN – lahustunud üldlämmastik

DNRA (ingl *dissimilatory nitrate reduction to ammonium*) – dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammooniumiks

DOC – lahustunud üldorgaaniline süsinik

K – kaalium

mcrA – metanogeenide markergeen (viib läbi protsessi mulla orgaaniline aine $\rightarrow \text{CH}_4$)

Mg – magneesium

N_2 – molekulaarne lämmastik ehk dilämmastik

N_2O – naerugaas ehk dilämmastikoksiid

n-damo (ingl *nitrite-dependent anaerobic methane oxidation*) – nitritist sõltuv anaeroobne metaani oksüdeerimine

NH_4^+ – ammoonium

nifH – lämmastiku fikseerimise markergeen (viib läbi protsessi $\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_4^+$)

nirK – denitrifikatsiooni markergeen (viib läbi protsessi $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$)

nirS – denitrifikatsiooni markergeen (viib läbi protsessi $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$)

NO_2^- – nitritlämmastik

NO_3^- – nitraatlämmastik

nosZI – denitrifikatsiooni markergeen (viib läbi protsessi $\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$)

nosZII – denitrifikatsiooni markergeen (viib läbi protsessi $\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$)

nrfA – DNRA markergeen (viib läbi protsessi $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$)

P – fosfor

pmoA – metanotroofide markergeen (viib läbi protsessi $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CO}_2$)

TC – üldsüsinik

TOC – üldorgaaniline süsinik

Sissejuhatus

Rannikualade ökosüsteemid on nende pakutavate ressursside ja teenuste tõttu inimestele äärmiselt olulised ning seetõttu elab *ca* 40 protsenti maailma rahvastikust 100 kilomeetri raadiuses rannikust (Bruns, 2014). Viimaste sajandite kiire rahvastiku kasv, laienev linnastumine ja intensiivne inimtegevus on oluliselt mõjutanud rannikualasid (Craig-Smith *et al.* 2006). Selle tulemusena on suurenenud reoainete ning üleliigsete toitainete (orgaaniline aine, lämmastik, fosfor) kontsentratsioonid rannikuvetes (Howarth, 2008; Vikas & Dwarakish, 2015). Lisaks on nende rannikualade protsessidesse sekkunud erinevate infrastruktuuride rajamisega (näiteks maaparandus ning avamere ja kanalite süvendamine), mis on intensiivistanud erosiooni ning tinginud mererohuga kaetud alade, soode, randade ja liivaluidete hävimist (Dugan *et al.* 2012). Merepinna tõus ja teised kliimamuutuse eeldatavad mõjud avaldavad rannikualade ökosüsteemidele veelgi suuremat survet: sagenevad üleujutused, intensiivistub erosiooni, eutrofeerumine ja sooldumine. Need protsessid muudavad ja vähendavad elupaiku ning kiirendavad kaldajoone taandumist (Dugan *et al.* 2012; Toimil *et al.* 2020). Selliseid negatiivseid mõjusid püütakse suunata või vähendada erinevate looduslike ja tehislise meetmete või rajatistega.

Toitainete ringlust rannikualade ökosüsteemides kontrollivad peamiselt taimede või mikroorganismide bioloogilised mehhanismid. Erinevad taimed mõjutavad oluliselt rannikumulla mikroobikooslusi (Jurasinski *et al.* 2020), muutes seeläbi ka süsiniku- ja lämmastikuringet. Mitmete mikrobioloogiliste protsesside toimumisel võib eralduda keskkonda ka ohtlikke kasvuhoonegaase nagu metaani (CH₄) (Stams & Plugge, 2010) ja naerugaasi (N₂O) (Baggs & Philippot, 2010; Bange *et al.* 2010). Eelnevalt nimetatud kasvuhoonegaase võivad mõjutada lisaks ka taimed (Zhang *et al.* 2013; Schindler *et al.* 2020).

Mikrobioloogilist metaaniringet mõjutavad peamiselt anaeroobsed metanogeenid (Kallistova *et al.* 2017) ja aeroobsed metanotroofid (Kallistova *et al.* 2017; Kalyuzhnaya *et al.* 2019). Hiljuti avastatud protsessi nitritist sõltuv anaeroobne metaani oksüdeerimine (Raghoebarsing *et al.* 2006) täpsem roll ökosüsteemis on veel teadmata, kuigi see on otseselt seotud ka lämmastikuringega. Mikrobioloogiline lämmastikuringe on oluliselt keerulisem ja võib hõlmata endas paljusid protsesse: nitrifikatsioon (Holmes *et al.* 1995; Könneke *et al.* 2005), denitrifikatsioon (Wrage *et al.* 2001), dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammooniumiks (DNRA) (Tiedje, 1988), molekulaarse lämmastiku (N₂) fikseerimine (Zehr *et al.* 2003), anaeroobse ammooniumi oksüdeerimine (ANAMMOX) (Mulder *et al.* 1995) ja

ka hiljuti kirjeldatud täielik ammooniumi oksüdeerimine (COMAMMOX) (Daims *et al.* 2015; Van Kessel *et al.* 2015).

Rannikualade mikrobioloogiliste aineringete parem mõistmine võimaldab leida ja rakendada uusi meetmeid inimtegevusest tulenevate mõjutuste leevendamiseks ja kliimamuutustega kohanemiseks (Reddy & Delaune, 2008). Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli uurida erinevate taimeliikide mõju metaani- ja lämmastikuringe mikrobioloogiliste protsesside potentsiaalile ning metaani ja naerugaasi emissioonile. Lisaks näidata nende seoseid füüsikalise-keemiliste parameetritega kahel riiimveelisel rannikualal, millest üks asus Lääne-Eestis ja teine Ida-Hiinas.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Rannikute ökosüsteemid ja probleemid

Rannikuala on maismaa ja suure veekogu vaheline siirdeala, mille ökosüsteeme kujundavad paljud erinevad tegurid (Craig-Smith *et al.* 2006). Rannikuala ökosüsteemide mitmekesisus varieerub laiuskraaditi ning nad jaotatakse peamiselt nelja gruppi: (1) kaldaäärsed ökosüsteemid (näiteks liivarannad, lüüsed, kaljud, tööstuslikud ja põllumajanduslikud maastikud), (2) loodetega ökosüsteemid (näiteks jõesuudmed, deltid, mangroovimetsad, märgalad, rannikusood), (3) veelused ökosüsteemid (näiteks korallrahnud) ning (4) mandrilava kohal asuvad avaveed (Burke *et al.* 2001). Neist kõige produktiivsemateks peetakse rannikusoid ja jõesuudmeid, kuna seal toimub pidev toitainete sissekanne sinna suubuvate jõgede poolt (Reddy & Delaune, 2008). Lisaks pakuvad nad oma mitmekesisusega erinevaid tähtsaid ökosüsteemi tugi- (näiteks toitainete tsükli reguleerimine), reguleerimis- (näiteks kaitset rannikut laastavate tormide eest), varustus- (näiteks toormaterjal) ja rekreatiivseid teenuseid (Reddy & Delaune, 2008; Barbier *et al.* 2011; Bruns, 2014). Tiheda inimasustuse ning suure bioloogilise mitmekesisuse tõttu on rannikualad haavatavad nii looduslikele kui inimeste poolt põhjustatud muutustele (Vörösmarty *et al.* 2005; Bruns, 2014).

Intensiivne majandamine ja liigsete toitainete kandumine jõgedega sisemaalt rannikuveekogudesse on põhjustanud mitmeid probleeme, nagu näiteks eutrofeerumist, erosiooni, patogeenide ja toksiliste ainete levikut ning maakasutuse muutusi (National research council, 1994). Eelpool nimetatud häiringud võivad kaasa tuua muutusi rannikualade taime- ja mikroobikooslustes, füüsikalises-keemilistes parameetrites ning ökosüsteemide ainerings. Kliima- ja maakasutuse muutused võivad kiirendada toitainete voogu ning rannikualade eutrofeerumist (Vilmin *et al.* 2018). Selle tagajärjel väheneb hapniku kättesaadavus, mis soodustab anaeroobseid protsesse ja võib viia erinevate kasvuhoonegaaside emissioonide suurenemisele, sh CH₄ ja N₂O (Chowdhury & Dick, 2013; Reading *et al.* 2020). Lisaks soodustab kliimamuutuse suurenev mõju ka invasiivsete taimeliikide levikut, mis võib tuua endaga kaasa nii kasvuhoonegaaside suurenemist (Zhang *et al.* 2013) kui ka vähenemist (Yang *et al.* 2020).

Põllumajandussektori intensiivne kasv ja väetiste ebaratsionaalne kasutamine on suurendanud lämmastikühendite kontsentratsioone jõesuudmetes. Lisaks põhjustavad rannikuvetes toitainete suurenemist punktkoormusallikad ning atmosfäärne depositsioon

(Paerl *et al.* 2002; Lapointe *et al.* 2015). Suurenenud toitainete hulk võib rannikul ja jõesuudmetes põhjustada suuremaid kasvuhoonegaaside emissioone, näiteks N₂O (Zhang *et al.* 2013; Martin *et al.* 2018). Kaldajoonetele ehitatud tehisrajatised ja taimkatte muutused suurendavad erosiooni ohtu ning vähendavad erinevate rannikuökosüsteemide pindala ja sealseid elupaiku (Dugan *et al.* 2012; Toimil *et al.* 2020). Samuti on sagenenud ekstreemsed ilmaolud ja tõusnud merevee tase, mis on tekitanud aina suurema vajaduse rannikualade kaitsmiseks ning seal toimuvate protsesside mõistmiseks (Toimil *et al.* 2020).

1.1.1. Metaani (CH₄) emissioonid

Metaan (CH₄) on kasvuhoonegaas, mille potentsiaalset rolli kliimasoojenemisele peetakse süsihappegaasist (CO₂) 100-aastaselt skaalal 28 korda suuremaks (Forster *et al.* 2007; Stocker *et al.* 2013). CH₄ emissioone mõjutavad erinevad inimtekkelised allikad, milleks on looma- ja riisikasvatuse, fossiilkütuse ja biomassi põletamine, prügilad ja erinevad jäätmeäitlustehnoloogiad (Denman *et al.* 2007). Suuremateks looduslikeks metaaniallikeks peetakse troopilistel laiuskraadidel asuvaid märgalaid (Bridgham *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2017) ning madalaid rannikuveega alasid (Bange, 2006). Rannikualadelt emiteerub enam CH₄ kui avatud ookeaniveest (Bange *et al.* 1994).

Metaani võib eralduda atmosfääri peamiselt kolmel erineval moel, milleks on setete difusiooni, mullidena või taimede poolt vahendatud transpordi kaudu (Le Mer & Roger, 2001; Bridgham *et al.* 2013). Märgalade taimed võivad mitmel viisil soodustada metaani lendumist atmosfääri: hapnikuvabadesse mullakihtidesse viiakse mööda aerenhüümi hapniku, metaani vahendatakse mööda õhkkude (Schimel, 1995), metanogeneesi läbiviivaid arhesid varustatakse vajalike süsinikühenditega (Ström *et al.* 2005; Cheng *et al.* 2007) või mutualismis metanotroofsete bakteritega, näiteks turbasammaldega (Putkinen *et al.* 2012). Puittaimed võivad CH₄ emissioone suurendada vastusena üleujutustele (Schindler *et al.* 2020). Anaeroobsetest sügavamatest mullakihtidest võivad taimed CH₄ transportida atmosfääri õhujuurte abiga ja mõjutada seeläbi mulla CH₄ voogusid (Lin *et al.* 2020). Ehkki on leitud vastastikuseid seoseid õhujuurte rollist CH₄ emissiooniga (He *et al.* 2019a), pole erinevate mangrooviliikide ja nende juurestruktuuride osatähtsus mulla kasvuhoonegaaside heitkogusete osas selge (Lin *et al.* 2020). Taimede poolt vahendatud metaanivoog on pigem väike, kuid siiski mängib olulist rolli CH₄ tootmisel (Bridgham *et al.* 2013).

Atmosfääri eralduv metaani kogus on mõjutatud ka mikroorganismide aktiivsusest, kes toodavad CH₄ (metanogeenid) või tarbivad CH₄ (metanotroofid) (Bridgham *et al.* 2013, vt

1.2.1). Metanotroofsed mikroorganismid on võimelised CH₄ oksüdeerima nii aeroobselt kui ka anaeroobselt, vähendades märkimisväärselt kasvuhoonegaasi jõudmist atmosfääri (Kallistova *et al.* 2017; Kalyuzhnaya *et al.* 2019). Setetes võidakse toota metaani, mis jõuab hiljem läbi veesamba atmosfääri (Bange, 2006). Rannikute pinnasvee kõrged CH₄ kontsentratsioonid on tingitud jõesuudmetes orgaanilise aine settimisest, kus saab seetõttu toimuda suurel määral metanogenees (Bange *et al.* 1994). Samuti võib veekogude pindmiste kihtide soojenemine põhjustada emissioonide suurenemist (Borges *et al.* 2016). Metaani vooge mõjutavad rannikutel mitmed biokeemilised parameetrid, nagu soolsus, redokspotentsiaal, hapniku kättesaadavus, pH, veesisaldus, temperatuur ning erinevate orgaaniliste ühendite (sulfaadid, üldlämmastik, nitritlämmastik, ammoniaak) sisaldus pinnases (Whalen, 2005).

1.1.2. Naerugaasi (N₂O) emissioonid

Dilämmastikoksiid ehk naerugaas (N₂O) on oluline kasvuhoonegaas (Montzka *et al.* 2011), mis on üheks peamiseks osoonikihti kahandavaks teguriks (Ravishankara *et al.* 2009). N₂O kontsentratsioon on atmosfääris väike, kuid selle globaalse soojenemise potentsiaali peetakse 100-aastase skaala lõikes ligikaudu 300 korda suuremaks võrreldes süsinikdioksiidiga (CO₂) (Forster *et al.* 2007; Stocker, 2013). Intensiivse inimtegevuse mõju tagajärjel jõuab rannikualade veekogudesse üha rohkem lämmastikväetisi, mis võivad aga märkimisväärselt suurendada N₂O emissioone jõgede suudmealadel (Reading *et al.* 2020).

Enam kui poolt veekeskkonnast pärit inimtekkelisi N₂O emissioonidest seostatakse põhjapoolkera keskmiste laiuskraadidega, sest seal kasutatakse rohkem põllumajandusväetisi ning on suurem rahvastikutihedus võrreldes lõunapoolkeraga (Seitzinger *et al.* 2000; Murray *et al.* 2015). Uuringud on näidanud, et N₂O dünaamika ja maakasutuse vahel on positiivne seos, mil N₂O kontsentratsioon suureneb jõesuudmetes ning jõgedes vastavalt valgala suurenemisele. Samuti maakasutuse intensiivsuse suurenemine mõjutab oluliselt N₂O kontsentratsioone (Reading *et al.* 2020).

Jõesuudmetes võivad N₂O voogusid mõjutada ka invasiivsed taimeliigid ja tehisrajatised (Zhang *et al.* 2013; Song *et al.* 2018). Suure biomassiga taimed varustavad mulda rohkete süsiniku- ja hapnikuühenditega, mis omakorda soodustavad bakterite elutegevust, mille tagajärjel võib atmosfääri emiteeruda võrreldes nooremate taimedega rohkem N₂O-d (Zhang *et al.* 2013; Yang *et al.* 2020). Song *et al.* (2018) uurisid lähemalt mõlema teguri koosmõju ja leidsid, et muuli ehitus ja sooheina *Spartina alterniflora* invasioon põhjustas muutusi

mulla füüsikalis-keemilistes parameetrites ning suurendas märkimisväärselt N₂O voogusid Kollase jõe suudmealal. Siiski võib teistsugustes ökosüsteemides invasiivne taimeliik *S. alterniflora* ka pärssida N₂O teket, näiteks loodetega märgaladel (Yang *et al.* 2020).

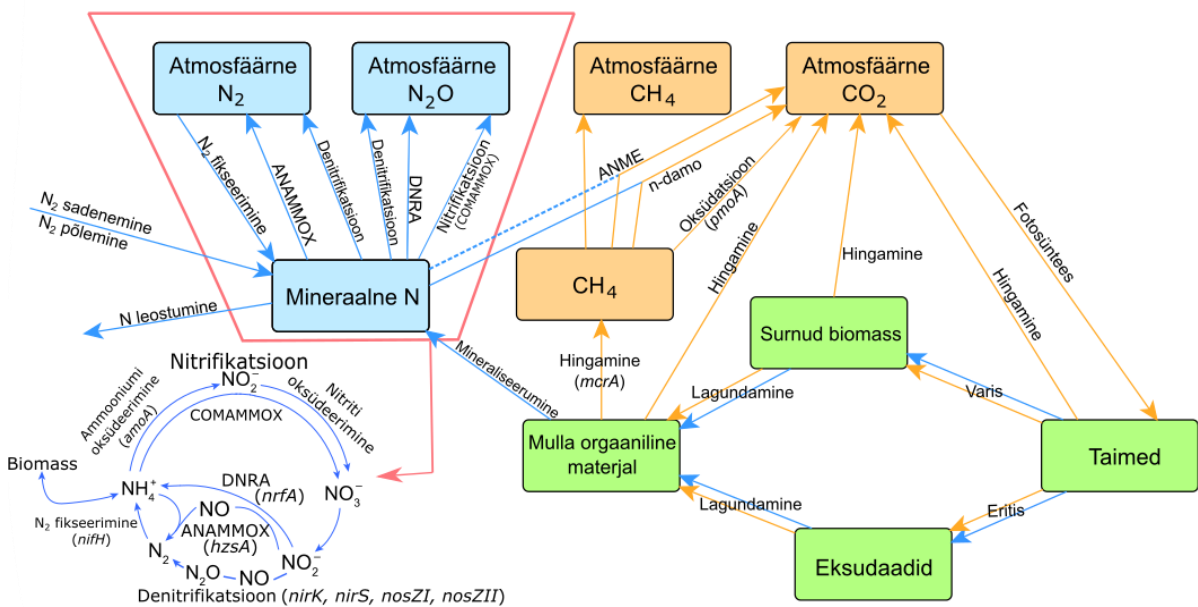
Erinevaid lämmastikuringe protsesse läbiviivad mikroorganismid võivad oma elutegevuse tagajärjel emiteerida N₂O-d (Baggs & Philippot, 2010; Bange *et al.* 2010). Kasvuhoonegaasi produtseerivaid mikroorganisme mõjutavad suudmealadel ja jõgedes tugevalt orgaanilise süsiniku kättesaadavus ning erinevad füüsikalis-keemilised parameetrid, nagu pH, temperatuur, soolsus ja lahustunud hapniku sisaldus (Bange, 2006). Neist olulisemaks peetakse anorgaanilise lämmastiku lahustuvust ning hapniku kättesaadavust (Murray *et al.* 2015; Quick *et al.* 2019; Reading *et al.* 2020). Allen *et al.* (2007) täheldasid, et kõrgem süsiniku hulk setetes ning elektrijuhtivus vähendasid N₂O emissioone. Negatiivne pinnase redokspotentsiaal seevastu suurendas N₂O vooge. Erinevad keskkonnaparameetrid on suuresti mõjutatud loodete tsüklitest, põhjavee sisendist ning makrofüütide tihedusest (Murray *et al.* 2015). N₂O heitkoguseid keskkonnas mõjutavad õhu- ja settetemperatuur (Yang *et al.* 2020), mil vood varieeruvad aastaajaliselt ning ööpäeva lõikes (Allen *et al.* 2007; Xu *et al.* 2017; Song *et al.* 2018). Suuremaid N₂O voogusid on täheldatud soojematel suvekuudel (Moseman-Valtierra *et al.* 2011).

1.2. Rannikuala protsessid

Tänapäeval ilmestavad rannikualasid erinevad antropogeensed tegevused ja kliimamuutused, mis omakorda kujundavad ümber seal toimuvaid protsesse ning aineringeid. Veetaseme tõus ning pidevatest üleujutustest tingitud erosioon ja rannajoone kadu on pannud inimesi otsima lahendusi, kuidas kaitsta sealseid elupaiku ning rannikuid. Merevee tõusu kahjulike mõjude vähendamiseks on võetud kasutusele mitmeid kaitsemeetmeid, näiteks ehitatud rannikuäärseid mereseinu või teisi üleujutuse tõkkeid (Dugan *et al.* 2012). Samuti võib tormikindlam taimekooslus oluliselt leevendada tuule ning teiste tegurite ebasoodsat mõju (Yang *et al.* 2020). Tihtilugu ei võeta erinevate tehisrajatiste rajamisel arvesse mõju ökosüsteemidele ning toitainete ringlusele (Dugan *et al.* 2012) ja see põhjustab häiringuid rannikualade biogeokeemilistes ringetes (Reddy & Delaune, 2008).

Rannikualade mikrobioloogilisi protsesse mõjutavad erinevad füüsikalis-keemilised parameetrid ning sealse mikroobikoosluse mitmekesisus ja aktiivsus. Üleujutustest tingitud merevee sissetung suurendab soolsuse hulka pinnases, mis kiirendab sette süsiniku- ja

lämmastikuühendite mineraliseerumist ning toob kaasa muutusi taimekooslustes ja nende produktiivsuses, mõjutades omakorda rannikumulla mikroobikooslusi (Tejada *et al.* 2006; Reddy & Delaune, 2008; Jurasinski *et al.* 2020). Muutuv hapniku kättesaadavus ning toitainete ja orgaanilise süsiniku sisend mõjutavad mikroorganismide aktiivsust setetes ja veesambas (Bange, 2006; Quick *et al.* 2019). Suurenenud toitainete sisaldus setetes ja veekogudes aktiveerib mikroobide elutegevust, mille tagajärjel võib atmosfääri erinevate protsesside tulemusel emitteeruda kahjulikke kasvuhoonegaase, nagu N₂O, CH₄ ja CO₂ (joonis 1).



Joonis 1. Süsiniku- ja lämmastikuringe protsessid (kohandatud ja modifitseeritud Espenberg 2017 järgi). Siniste nooltega on tähistatud lämmastikuringe protsessid ning oranžide nooltega süsinikuringe protsessid. Katkendjoonega on näidatud, et seda võidakse kasutada, aga ei pruugita. Lühendid: ANME – anaeroobne metaani oksüdeerimine, ANAMMOX – anaeroobne ammoniumi oksüdatsioon, COMAMMOX – täielik ammoniumi oksüdeerimine, DNRA – dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammoniumiks, n-damo – nitritist sõltuv anaeroobne metaani oksüdeerimine.

1.2.1. Metaaniringe

Ökosüsteemi erinevate komponentide vahel ringleb süsinik (atmosfäär, surnud biomass, mulla orgaaniline materjal, varis, eksudaadid, taimed; joonis 1), kus süsinikuringe toimub nii aeroobsetes kui ka anaeroobsetes tingimustes, milles viimases tekib ka metaan CH₄. Atmosfääri ja pinnase vahelise mikrobioloogilise metaaniringe moodustavad peamiselt kaks

mikroorganismide rühma, kuhu kuuluvad CH₄ tootvad arhed (metanogeenid) ning CH₄ oksüdeerivad bakterid (metanotroofid) (Aronson *et al.* 2013). Nende prokariootide vahetamine määrab CH₄ voo atmosfääri. Olulist rolli metaaniringes mängivad ka soontaimed, kes varustavad mikroobe erinevate substraatidega (Cheng *et al.* 2007).

Metanogeenid viivad läbi anaeroobse lagunemise viimast etappi, kus CH₄ tootmiseks kasutatakse süsihappegaasi süsinikku või muid madala molekulmassiga orgaanilisi ühendeid, näiteks metüülrühmi (Chowdhury & Dick, 2013). Metanogeenid võivad kasutada elektronaktseptorina erinevaid formüülrühmasid, vesinikku (H₂), formaate (HCO₂⁻), või süsinikoksiidi (CO) (Stams & Plugge, 2010). Keskkonnas saab tuvastada metanogeenide olemasolu *mcrA* geeni abil (joonis 1), mis kodeerib metüülkoensüümi M reduktaasi α -subühikut. Ensüüm katalüüsib omakorda viimast lagunemisetappi (Bridgham *et al.* 2013). Markergeen võimaldab uurida ka metanogeenide fülogeneesi (Lueders *et al.* 2001; Juottonen *et al.* 2006). Lisaks looduslikele märgaladele on leitud *mcrA* geeni omavaid mikroorganisme ka mitmetest teistest keskkondadest, nagu tundra, igikeltsa alad, riisipõldudel ning mäletsejate ja putukate, näiteks termiitide seedekulglast (Lueders *et al.* 2001; Krüger *et al.* 2005; Juottonen *et al.* 2006; Ganzert *et al.* 2007; Conrad, 2009).

Metanotroofid kasutavad metaani süsiniku- ja energiaallikana, kus oksüdatsiooni käigus muudetakse metaanis sisalduv süsinik süsihappegaasiks või assimileeritakse raku biomassiks (Hanson & Hanson, 1996). Metanotroofsed mikroorganismid võivad CH₄ oksüdeerida nii aeroobselt kui ka anaeroobselt (Kallistova *et al.* 2017). Anaeroobse metaani oksüdeerimise käigus kasutatakse erinevaid elektronaktseptoreid, nagu nitraatlämmastik (NO₃⁻), nitritlämmastik (NO₂⁻), sulfaat (SO₄²⁻) ja metalloksiide, erinevalt aeroobsest, kus kasutatakse elektronaktseptorina hapnikku (Xu *et al.* 2018). Oksüdeerimise protsessi mõjutab lisaks substraatide kättesaadavusele ka veetase (Wagner *et al.* 2003). Metaani tarbivaid mikroorganisme leidub paljudes ökosüsteemides, mistõttu mängivad nad suurt rolli CH₄ jõudmisel atmosfääri (Kallistova *et al.* 2017). Aeroobsete metanotroofide tuvastamiseks erinevates keskkondades kasutatakse markergeeni *pmoA* (joonis 1), mis mängib rolli ensüümi metaanmonooksügenaasi (pMMO) kodeerimises (Chowdhury & Dick, 2013). Mitmetes veekeskkondades (näiteks märgalad, prügilad) vähendab CH₄ emissioone peamiselt aeroobne CH₄ tarbimine (Wagner *et al.* 2003). Aeroobsed metanotroofid on võimelised oksüdeerima väga suure osa maailmas toodetud metaanist (Semrau *et al.* 2010).

Anaeroobsete tingimustega märgalades võib mängida suuremat rolli CH₄ sidumises protsess nimega nitritist sõltuva anaeroobse metaani oksüdatsioon (n-damo), mis seob omavahel

lämmastiku- ja süsinikuringe (Raghoebarsing *et al.* 2006; Hu *et al.* 2014). Teadaolevalt suudavad protsessi läbi viia NC10 hõimkonda kuuluvad bakterid „*Candidatus Methylophilus oxyferus*“ (Ettwig *et al.* 2010). Baktiereid leidub mitmesugustes elupaikades (Zhu *et al.* 2015), ka aluselistes keskkondades (pH>9), kus tema elutegevust mõjutab lisaks pH-le nitraatlämmastiku kättesaadavus ja lenduvad orgaanilised ühendid (Xu *et al.* 2018). Metanogeneesi pöördreaktsiooni suudavad läbi viia sulfaadi või nitraadi osalusel anaeroobsed metaani oksüdeerivad arhed (ingl *anaerobic methanotrophic (ANME)*), näiteks „*Candidatus Methanoperedens nitroreducens*“ (Haroon *et al.* 2013). Lisaks võidakse kasutada elektronakseptorina erinevaid metallühendeid, nagu rauda (Fe), mangaani (Mn) ja kroomi (Cr), kuid mille täpsem mehhanism pole veel teada (Kallistova *et al.* 2017; In 't Zandt *et al.* 2018).

1.2.2. Lämmastikuringe

Lämmastik on element, mida kasutatakse elutegevuseks vajalike nukleiinhapete ja valkude sünteesil. Jõesuudmetesse jõuab lämmastik erinevatest allikatest, nagu setete sissekanne jõgedest, tõusu ja mõõnaga, põllumajanduses lämmastikväetiste leostumisel, määrdedepositsioonil ja lämmastiku fikseerimisel (Reddy & Delaune, 2008). Lämmastikuringe koosneb erinevatest biotilistest, lagunemis-, assimilatsiooni- ja dissimilatsiooniprotsessidest, mida vahendavad mikroorganismid (joonis 1). Mikrobioloogiline lämmastikuringe koosneb paljudest protsessidest: nitrifikatsioon (Holmes *et al.* 1995; Könneke *et al.* 2005), denitrifikatsioon (Wrage *et al.* 2001), dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammooniumiks (DNRA) (Tiedje, 1988), molekulaarse lämmastiku (N₂) fikseerimine (Zehr *et al.* 2003), anaeroobse ammooniumi oksüdeerimine (ANAMMOX) (Mulder *et al.* 1995) ning täielik ammooniumi oksüdeerimine (COMAMMOX) (Daims *et al.* 2015; van Kessel *et al.* 2015).

Teadaolevalt võib nitrifikatsiooni (k.a COMAMMOX), denitrifikatsiooni, dissimilatoorse nitraadi redutseerimisel ammooniumiks (DNRA) ja nitrifitseerivate bakterite denitrifikatsiooni protsesside vaheetappides eralduda atmosfääri kahjulik kasvuhoonegaas N₂O (Baggs & Philippot, 2010; Quick *et al.* 2019). Neist levinumaks protsessiks peetakse mittetäielikku denitrifitseerimist, mis domineerib keskkonnatingimustes, kus on piisavalt orgaanilist süsinikku, kõrged nitraadi kontsentratsioonid ning suboksilised tingimused (Quick *et al.* 2019). Taimed võivad konkureerida nitrifitseerijate ja denitrifitseerijatega (Cheng *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2013; Wrage-Mönnig *et al.* 2018) ja seeläbi mõjutada N₂O voogusid, näiteks pärssides N₂O tootmist (Yu *et al.* 2012). Makrofüütide koosseisu

muutused võivad inhibeerida nitrifikatsiooni teel tekkivat N₂O, seevastu võivad tingimused denitrifikatsiooni käigus toodetud N₂O emissiooni hoopis suurendada (Murray *et al.* 2015).

Nitrifikatsiooni tuntakse eelkõige kui kahe-etapilise protsessina, kus kõigepealt ammoniaaki oksüdeerivad bakterid ja arhed oksüdeerivad ammoniaagi nitritiks ning seejärel nitrit oksüdeeritakse nitraadiks teiste organismide poolt (Holmes *et al.* 1995; Könneke *et al.* 2005). Siiski leidub keskkonnas baktereid, kes on suutelised täieliku ammoniumi oksüdatsiooni nitraadiks läbi viima üksinda ja seda nimetatakse COMAMMOX-iks (Daims *et al.* 2015; Van Kessel *et al.* 2015). Nitrifikatsiooni soodustavad kõrged lahustunud hapniku ja ammoniaagi kontsentratsioonid (Quick *et al.* 2019), mil muutlike hapniku tingimustega ja suurema pH-ga keskkondades on soodustatud nitrifitseerivate bakterite poolt läbiviidav denitrifikatsioon (Wrage-Mönnig *et al.* 2018). Viimati nimetatud protsessi mõjutavad lisaks temperatuur ja süsinikühendite kättesaadavus (Wrage-Mönnig *et al.* 2018). DNRA protsessi käigus emiteeritakse N₂O nitriti tootmise vaheetapis, kuid selle protsessi täpsem roll ökosüsteemides vajab veel uurimist (Quick *et al.* 2019).

1.2.2.1. Lämmastikuringe geenid

Keskkonnas tuvastatakse mikrobioloogilise lämmastikuringe protsesse erinevate markergeenidega (joonis 1), mille abil saab hinnata protsesse läbiviivate mikroorganismide geneetilist potentsiaali toimumiseks: nitrifikatsioon (bakterite ja arhede *amoA*), denitrifikatsioon (*nirS*, *nirK*, *nosZI*, *nosZII*), molekulaarse lämmastiku (N₂) fikseerimine (*nifH*), dissimilatoorne nitraadi redutseerumine ammooniumiks (*nrfA*), ANAMMOX (*hzsA*), n-damo (protsessi spetsiifiline 16S rRNA) ja COMAMMOX (protsessi spetsiifiline 16S rRNA).

Nitrifikatsiooni esimest etappi (ammoniaaagi oksüdeerimist) viib läbi ensüüm ammoniaagi monooksügenaas, mille üht subühikut A kodeerib *amoA* geen. ANAMMOX-i puhul oksüdeeritakse ammoniaak või redutseeritakse nitrit hüdroksüülamiiniks, mille käigus mängib olulist rolli hüdrasiini süntetaas, mille üht elementi kodeerib *hzsA* geen (Harhangi *et al.* 2012). DNRA protsessi on võimalik hinnata markergeeni *nrfA* abil (Welsh *et al.* 2014). Mikroorganismid on suutelised lämmastikku fikseerima ensüümi nitrogenaasi abil, mille struktuurgeeni *nifH* sekveneerimise abil on uuritud protsessi toimumist erinevates keskkondades (Zehr *et al.* 2003). Lämmastikuringe geenid on tugevasti mõjutatud erinevatest keskkonnaparameetritest, nagu lahustunud hapniku sisaldusest, pinnase

temperatuurist, soolusest, sulfaadi ja lämmastikuühendite kättesaadavusest ja pH-st (Dini-Andreote *et al.* 2016).

Mikroorganismid, kes omavad *nosZ* geeni (N₂O redukaasi), suudavad N₂O muundada molekulaarseks lämmastikuks (Jones *et al.* 2013). N₂O tootmise ja tarbimise vahekorra määravad mikroorganismide kohastumuste eelistused erinevates keskkondades (Philippot *et al.* 2011; Jones *et al.* 2014). Kui varasemalt omistati ensüüm vaid bakteritele ja arhedele, kes viisid läbi täieliku denitrifikatsiooni, siis nüüd leidub aina rohkem uurimusi, mis näitavad, et *nosZ* geeni võivad omada ka mittetäielikud denitrifitseerivad mikroorganismid. Mittetäielikeks denitrifitseerijateks nimetatakse mikroorganisme, kes suudavad läbi viia vaid mõne etapi denitrifikatsioonis, näiteks nitriti reduktsiooni N₂O-ks või N₂O reduktsiooni lämmastikuks (Hallin *et al.* 2018). *nosZ* I klaadi omavad organismid on suurema tõenäosusega täielikud denitrifitseerijad (Graf *et al.* 2014). *nosZ* geeni erinevate klaadide arvukus muutub keskkonniti, näiteks mullas domineerivad peamiselt mikroorganismid, kes omavad klaadi II (Jones *et al.* 2013), kuid rannikusetetes on arvukamaks mikroobid klaad I (Dini-Andreote *et al.* 2016).

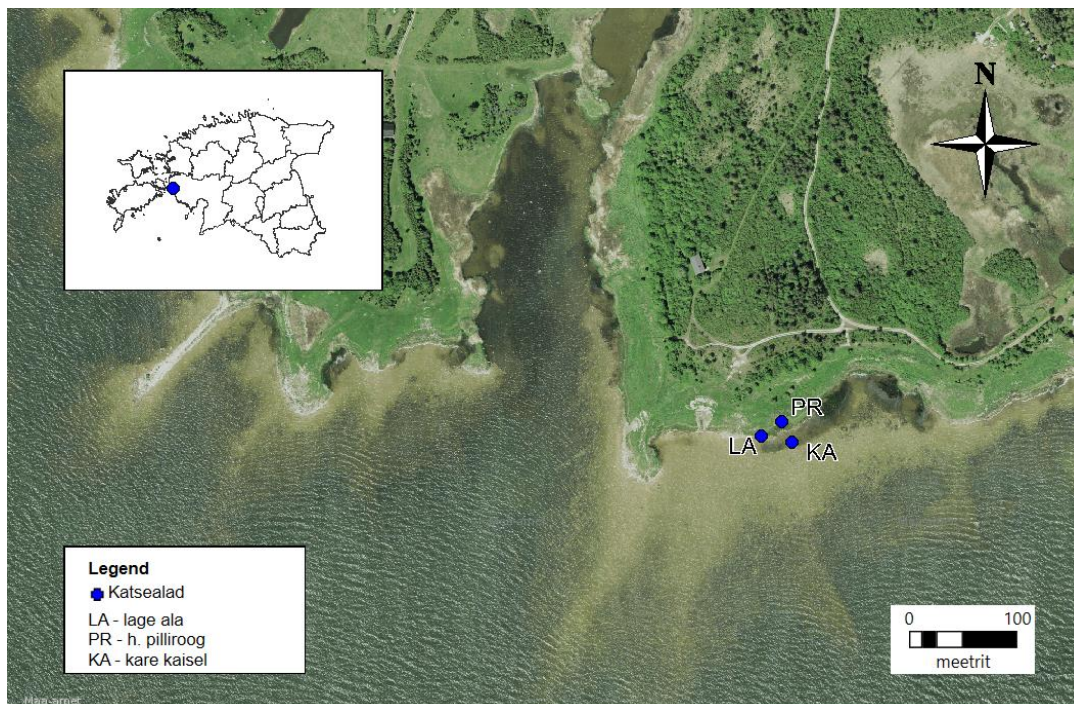
Denitrifikatsiooni võivad läbi viia kaht tüüpi nitriti reduktaasid, milleks on vaske sisaldav nitriti reduktaas, mille kodeerimises osaleb *nirK* ja *nirS* geeni osalusel kodeeritud tsütokroom cd-1 sisaldav nitriti reduktaas (Zumft, 1997). Üldiselt ühes organismis mõlemat *nir* tüüpi geeni ei esine, kuid on leitud üksikuid erandeid. Siiski neil puhkudel vajab nende mõlema geeni võimalik funktsionaalsus veel uurimist. *nosZI* klaadi omavad organismid, kelle genoomis esineb lisaks ka pigem geen *nirS* kui *nirK*, mängivad vähem rolli N₂O tekkel (Graf *et al.* 2014). Kooslustes, kus esineb vähem *nosZ* geeni, suureneb N₂O emissioon mullas, kuid see oleneb suuresti mullatüübist ning pinnase mikroobikooslusest (Philippot *et al.* 2011). Mikroorganismide liike on üha raskem seostada ainult ühe või teise lämmastikuringe protsessiga, sest paljud on suutelised läbi viima erinevaid protsesse olenevalt keskkonnatingimustest (Jones *et al.* 2013; Graf *et al.* 2014; Hallin *et al.* 2018).

2. Metoodika

2.1. Prooviala kirjeldus

2.1.1. Eesti uurimisala

Välitööd viidi läbi Pärnu maakonnas Lääneranna vallas Pivarootsi külas Läänemerest mõjutatud riimveelisel rannikul (N 58.535864, E 23.606722, soolsusega 5‰; joonis 2). Ala iseloomustab kõrkjatest kivine laugrannik, kus puhas liivarand puudus.



Joonis 2. Uurimisala Eestis (N 58.535864, E 23.606722). Siniste ringidega on tähistatud katsealade asukohad. Aluskaart: Maa-ameti ortofoto, 2020. Kaardi tegemisel on kasutatud programmi MapInfo ver.19.

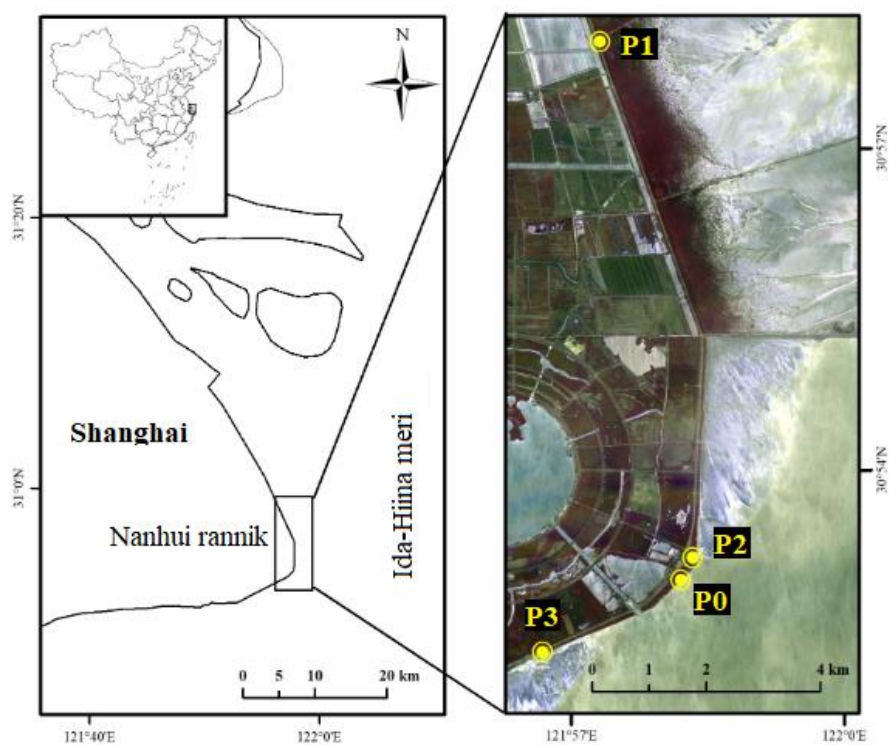
Välitöid tehti intensiivsel taimekasvuperioodil juuni-september 2019. aastal, mil õhutemperatuur jäi vahemiku 16-24 °C. Ala oli avatud tormituulte, kus proovivõtu päevadel täheldati veetaseme kõikumisi (0-30 cm). Uurimisala liigitati taimeliikide järgi kolmeks katsealaks: (1) lage ala, kus puudus püsiv taimestik (joonis 3a), (2) hariliku pillirooga (*Phragmites australis*) (joonis 3b) ja (3) kare-kaislaga (*Schoenoplectus tabernaemontani*) taimestatud alad (joonis 3c). Katsealadel tehti mõõtmisi kolmes korduses.



Joonis 3. Eesti uurimisala kolm katseala. Pildil a) lage ala, b) hariliku pillirooga (*Phragmites australis*) ning c) kare kaislaga (*Schoenoplectus tabernaemontani*) taimestatud alad.

2.1.2. Hiina uurimisala

Uurimisala oli Shanghais asuv Nanhui rannik (N 30.83333333, E 121.83333333), mis on aastakümnete jooksul olnud tugevasti mõjutatud inimtegevusest. 2002. aastal rajati rannikualale meresein, mille eesmärgiks oli püüda vähendada settete ärakannet ning pakkuda kaitset merevee taseme tõusu korral.



Joonis 4. Uurimisala Hiinas (N 30.83333333, E 121.83333333; kohandatud ja modifitseeritud Yang *et al.* 2020 järgi). Kollaste tähtedega on tähistatud Hiina katsealad: P0 – lage mudane ala, P1 – soohein *Spartina alterniflora* ja kõrkjas *Scirpus mariqueter*'iga taimestunud ala, P2 – vanem *S. alterniflora*, P3 – noor *S. alterniflora*.

Rannikualal domineerib Kaug-Ida mussoonkliima, kus keskmine õhutemperatuur on 15,9 °C ning aastane sademete hulk on 1222 mm. Ala iseloomustavad mõõdukad ja ebaregulaarsed poolepäevaste tsüklitega looded. Taimekooslustest domineerib Põhja-Ameerikast pärinev invasiivne taimeliik soohein *S. alterniflora*. Katseala liigitati taimekooslusi arvestades järgnevalt neljaks katsealaks: (1) lage mudane ala, (2) sooheina *Spartina alterniflora* ja kõrkja *Scirpus mariqueter*'iga taimestunud ala, kus domineeris *S.alterniflora*, (3) vanema *S. alterniflora* ning (4) noore *S. alterniflora*'ga taimestunud alad. Välitöid tehti üks kord kuus märtsist 2017. aastast kuni jaanuarini 2018. aastal, mille käigus mõõdeti erinevaid vee- ning keskkonnaparameetreid. Detailsem kirjeldus uurimisala, proovide kogumise ja määratud keskkonnaparameetrite kohta on saadaval Yang *et al.* 2020.

2.2. Gaasiemissioonide mõõtmine

Eesti uurimisalal teostati gaasiemissioonide (N₂O ja CH₄) mõõtmisi aktiivsel taimekasvuperioodil 2019. aasta juunist septembrini. Gaasiproovide mõõtmisi tehti kaks korda kuus, *ca* iga kahe nädala tagant. Kuna osadel mõõtmispäevadel olid alad liiga sügava vee all tormide ja kõrge veetaseme tõttu, siis saadi teha mõõtmisi seitsmel korral. Gaasivoogude mõõtmiseks kasutati suletud staatilise kambri meetodit, kus igal proovivõtupäeval koguti proovid kõikidelt katsealadelt *in situ*. Proovide kogumiseks kasutati valgeid läbipaistmatuid polüvinüülkloriidist (PVC-) kambreid (Ø 50 cm, kõrgus 40 cm ja ruumala 65 l), mis olid asetatud mõne cm sügavusel olevatele plastikrõngastele (joonis 2). Kambrid asetati maasse tasakaalustatult ning takistamaks õhuvahetust atmosfääriga täideti rõngaste vaheseinad veega. Proovid koguti ühe tunni jooksul 20 minutilise intervalliga (0., 20., 40. ja 60. minuti proov) spetsiaalselt eelvakumeeritud 100 ml (0,3 mbar) klaaspudelitesse. Terve uurimisala peale mõõdeti kokku gaasiemissioonide kontsentratsioone kolmelt vaatlusalalt ning igalt kolmes korduses. N₂O ja CH₄ sisaldus määrati elektron- ja leekionisatsiooni detektorit sisaldava gaas-kromatograafia (Shimadzu 2014-GC) Tartu Ülikooli geograafia osakonna aineringete uurimislaboris. Gaaside algkontsentratsioon fikseeriti nullprooviga ning lõpptulemus arvutati lineaarse seose muutuse põhjal, võttes arvesse kambri pindala ja mahtu.

Hiinas tehti gaasimõõtmisi varahommikuse mõõna ajal üks kord kuus märtsist 2017 kuni jaanuarini 2018. Gaasiemissioonide mõõtmiseks kasutati gaaskromatograafil (GC 2014, Shimadzu, Jaapan) põhinevat meetodit, kus vooge mõõdeti läbipaistvate polümentüülmetakrülaadi (PMMA) kambritega (Ø 28 cm, kõrgusega 80 cm), mis asetati õhukindlalt pinnases olevatele rõngastele. Proove koguti 100 ml süstaldega eelvakumeeritud

proovikottidesse. Mõõteperioodi kestvuseks oli 30 minutit, kus proove koguti iga 10 minuti tagant. Detailsem kirjeldus on saadaval Yang *et al.* 2020.

Registreeritud gaasiemissioonide kontsentratsioone väljendatakse ühikus mikroruutmeeter tunni ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$) kohta. Järgnevalt käsitletakse töös mõõtmisperioodi vältel registreeritud keskmisi gaasiemissioonide väärtusi (tähistatud CH_4 periood, N_2O periood) ning vahetult enne setteproovide võtmist mõõdetud gaasiemissioonide tulemusi (tähistatud kui CH_4 , N_2O).

2.3. Vee-, sette- ja taimeproovide kogumine ja analüüs

Eestis toimunud välitööde käigus mõõdeti veetase (cm) vaatluskaevudest (mulgustatud PVC torud (\varnothing 5 cm) kaetuna vett läbilaskva kangaga) ja mullatemperatuur ($^{\circ}\text{C}$, 5 cm sügavuselt) (Comet Systems Ltd., Rožnov pod Radhoštem, Tšehhi). Lisaks mõõdeti igal proovivõtu korral portatiivse seadmega YSI Professional Plus järgmisi parameetreid vaatluskaevude veest: temperatuur ($^{\circ}\text{C}$), pH, elektrijuhtivus ($\mu\text{S/cm}$), redokspotentsiaal ja lahustunud hapniku sisaldus (mg/l).

Eestis toimunud välitööde käigus koguti pinnaseproovid kõikidelt katsealadelt labidaga keemilisteks ja mikrobioloogilisteks analüüsideks 0-10 cm sügavuselt pärast gaasiemissioonide mõõtmist viimasel proovivõtupäeval septembris. Pinnaseproovid säilitati eraldi taassuletavates kilekottides kuni keemiliste analüüsideni külmkapis ($+4^{\circ}\text{C}$) või kuni DNA eraldamiseni sügavkülmas (-20°C). Eesti pinnaseproovide keemilise analüüsi käigus määrati proovidest pH, orgaanilise aine (%), üldlämmastiku (%), nitraatlämmastiku (NO_3^-), ammoniumi (NH_4^+), fosfori (P), kaaliumi (K), kaltsiumi (Ca) ja magneesiumi (Mg) sisaldus Eesti Maaülikooli Taimebiokeemia laboris vastavalt standardmeetoditele (APHA, 1989).

Nii Eesti kui ka Hiina pinnaseproovidest määrati laboris üldsüsiniku (TC) ja üldorgaanilise süsiniku (TOC) sisaldus kasutades aparatuuri Vario TOC (Solids Module; 950°C , Elementar GmbH, Saksamaa) vastavalt standardile ISO 10694. Lisaks määrati mõlema uurimisala pinnaseproovidest laboris lahustunud üldsüsiniku (DC) ja lahustunud üldorgaanilise süsiniku (DOC) sisaldus vastavalt standardile EVS-EN 1484 ning lahustunud üldlämmastik (DN) vastavalt standardile EVS-EN 12260 kasutades aparatuuri Vario TOC (TNb detektoriga; 850°C , Elementar GmbH, Saksamaa). Hiina pinnaseproovid koguti 2017. aasta novembris ning vee- (vee soolsust, elektrijuhtivust, NO_3^- , NO_2 , NH_4^+), pinnase- (TC, TN, TOC) ja taimeproovide kogumise ning analüüsi kohta on täpsem kirjeldus saadaval Yang *et al.* 2020.

Eestis toimunud välitööde käigus määrati taimede füüsikalisi parameetreid, kus mõõdeti igal proovivõtu päeval taimede keskmine kõrgus (cm) ning hinnati kasvavate taimede tihedus. Taimne biomass koguti pärast gaasiemissioonide mõõtmist viimasel proovivõtupäeval septembris. Maapealsed taimeproovid koguti hariliku pillirooga ja kare kaislaga katseala 0.20 m² suurstelt lappidelt, lõigates kääridega võimalikult maapinna lähedalt. Maa-alune biomass koguti labidaga lappide juhuslikest punktidest, mulla pindmisest 20 cm sügavusest kihist. Igast punktist võeti 3 juureproovi, mis säilitati kuni töötlemiseni koos mullaga kilekottidesse pakendatud külmpapis (+4 °C). Taimejuurtest eemaldati muld, kiviklibu ning muu bioloogiline materjal kraaniveega. Enne keemilisi analüüse taimejuured kuivatati ning peenestati kannmikseriga.

Eestis kogutud taimede maa-pealse ja -aluse biomassi hindamiseks kaaluti ära korjatud biomass ning seejärel mõõdeti kuivatatud absoluutkuiva väärtus. Lisaks määrati laboris juurte ja taimede lämmastiku (N%) ning fosfori (P%) sisaldus Eesti Maaülikooli Taimebiokeemia laboris vastavalt standardmeetoditele (APHA,1989).

2.4. DNA eraldamine

Eesti ja Hiina setteproovidest eraldati DNA kasutades PowerSoil® DNA Isolation Kit-i (Qiagen, USA) ja lähtudes tootja poolt kinnitatud juhistest. Erinevalt protokollist homogeniseeriti proove 20 sekundit 5000 pööret minutis homogenisaatoril Precellys 24 (Bertin Technologies, Prantsusmaa). Lõppetapis DNA saagise koguse suurendamiseks muudeti väljapesemisetappi järgnevalt: 1) filtrile pandi 40µl C6 lahust ning tsentrifuugiti toatemperatuuril 30 sekundit 10000 x g juures; 2) seejärel korrati tegevust selle sama väljapestud C6 lahusega; 3) viimasena lisati filtrile veel 60 µl C6 lahust ning tsentrifuugiti toatemperatuuril 30 sekundit 10000 x g juures. DNA kontsentratsiooni mõõtmiseks ja kvaliteedi hindamiseks kasutati spektrofotomeetrit Infinite 200 M (Tecan AG, Austria). Eraldatud DNA säilitati –20 °C järgnevateks analüüsideks.

2.5. Geenikoopiate arvukuse määramine setteproovidest qPCR meetodil

Eesti ja Hiina pinnaseproovidest hinnati bakterite ja arhede hulka ning metaani- ja lämmastikuringe protsesside geneetilist potentsiaali kvantitatiivse polümeraas ahelreaktsiooni (*quantitative Polymerase Chain Reaction*, qPCR) abil. qPCR-ks kasutati termotsüklerit Rotor-Gene Q (Qiagen, USA). Metaaniringe protsesside geneetiline potentsiaal määrati järgmiste funktsionaalsete geenide abil: metanogeenid (*mcrA*) ja metanotroofid (*pmoA*). Lämmastikuringe protsesside geneetiline potentsiaal määrati

järgmiste funktsionaalsete geenide abil: denitrifikatsioon (*nirS*, *nirK*, *nosZ* klaad I ja *nosZ* klaad II), nitrifikatsioon (bakterite ja arhede *amoA*), COMAMMOX (COMAMMOX-i spetsiifiline 16S RNA geen), DNRA (*nrfA*), lämmastiku fikseerimine (*nifH*), ANAMMOX (ANAMMOX-i spetsiifiline 16s rRNA geen) ja n-damo (n-damo spetsiifiline 16S RNA). Proovide analüüsimiseks kasutatud praimereid, qPCR-i programmide ja reaktsioonisegude koostised on näidatud tabelis 1.

Reaktsioonisegu koguseks oli 10 µl, mis sisaldas 1 µl eraldatud DNA-d, päri- ja vastassuunalist praimerit (vt kontsentratsioone tabelist 1), 5 µl Maxima SYBR Green Master Mix reagenti (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) ning ülejäänud koguses destilleeritud vett. Kõigil qPCR-i mõõtmistel oli iga proov esindatud kolmes korduses ning igale mõõtmisele lisati negatiivsed kontrollproovid. Esmase tulemuste kvaliteedikontroll tehti tarkvaraga RotorGene Series Software v. 2.0.2. Programmiga LinRegPCR v.2020.01 (Ruijter *et al.* 2009) võeti arvesse efektiivsused ning jaotati proovid kaheks amplikoniks uurimisalade alusel. Kaliiberkõveraid kasutades arvutati geenikoopiate arvud vastava geeni koopiate arvuna grammi kuivaine kohta (koopiat/gKA kohta). Funktsionaalsete geenikoopiate arvude osakaal leiti normaliseerimisel bakterite ja arhede 16S RNA geenikoopiate arvukustest. Detailsem kirjeldus rakendatud qPCR-i meetodist ja geenikoopiate arvude arvutamisest on saadaval Espenberg *et al.* 2018.

Tabel 1. Ülevaade töös kasutatud qPCR-i primeritest ja nende karakteristikutest ning programmidest.

Märklaudgeen	Praimer	Viited	Amplikoni pikkus (bp)	Praimeri kontsentratsioon (μM)	qPCR programm
Bakterite 16S rRNA	Bact517F	Liu <i>et al.</i> 2007	530	0,6	95°C 10 min; 35 tsüklit: 95°C 30 s; 60°C 45 s; 72°C 45s
	Bact1028R	Dethlefsen <i>et al.</i> 2008			
Arhede 16S rRNA	Arc519F	Espenberg <i>et al.</i> 2016	393	0,6	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s; 56°C 30 s; 72°C 30s
	Arch910R				
<i>nirS</i>	nirSCd3af	Kandeler <i>et al.</i> 2006	431	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s; 55°C 30 s; 72°C 30s, 80°C 30 s ^a
	nirSR3cd				
<i>nirK</i>	nirK876	Hallin & Lindgren, 1999	165	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s; 58°C 30 s; 72°C 30s, 80°C 30 s ^a
	nirK1040				
<i>nosZI</i>	nosZ2F	Henry <i>et al.</i> 2006	267	0,6	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s, 60°C 30 s, 72°C 30 s, 80°C 30 s ^a
	nosZ2R				
<i>nosZII</i>	nosZIIF	Jones <i>et al.</i> 2013	~700	0,6	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 30 s, 54°C 45 s, 72°C 45 s, 80°C 45 s ^a
	nosZIIR				
<i>nifH</i>	Ueda19F	Ueda <i>et al.</i> 1995	390	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 30 s, 53°C 45 s, 72°C 45 s
	Ueda407R				
<i>nrfA</i> (DNRA)	6F	Takeuchi, 2006	222	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s, 55°C 30 s, 72°C 30 s
	6R				
ANAMMOX 16S rRNA	A438F	Humbert <i>et al.</i> 2012	248	0,6	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 15 s, 52°C 30 s, 72°C 30 s
	A684R				
Bakterite <i>amoA</i>	amoA-1F	Rotthauwe <i>et al.</i> 1997	491	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 30 s, 57°C 45 s, 72°C 45 s
	amoA-2R				
Arhede <i>amoA</i>	CrenamoA 23F	Tourna <i>et al.</i> 2008	~600	0,8	95°C 10 min; 45 tsüklit: 95°C 30 s, 55°C 45 s, 72°C 45 s
	CrenamoA 616R				
COMAMMOX 16S rRNA	comamoA AF	Wang <i>et al.</i> 2018	436	0,8	95°C 10 min; 40 tsüklit: 95°C 15 s, 55°C 30 s, 72°C 30 s
	comamoA SR				
N-damo 16S rRNA	pq2F	Ettwig <i>et al.</i> 2009	292	0,8	95 °C 10 min, 40 tsüklit: 95 °C 15 s, 60°C 30 s, 72 °C 30 s, 80 °C 30 s ^a
	pq2R				
<i>mcrA</i>	METH-F	Espenberg <i>et al.</i> 2016	135	0,8	95 °C 10 min, 55 tsüklit: 95 °C 15 s, 51 °C 30 s, 72 °C 30 s
	mcrAqR				
<i>pmoA</i>	A189F	Costello & Lidstrom, 1999	510	0,6	95 °C 10 min, 35 tsüklit: 95 °C 15 s, 57 °C 30 s, 72 °C 30 s

^a - Fluorestsents signaali mõõtmine

2.6. Andmeanalüüs ja autori osalus

Erinevate katsealade erinevuste visualiseerimiseks kasutati peakomponentanalüüsi (*Principal component analysis*, PCA) geeniparameetrite ja gaasiemissioonide põhjal. Füüsikalise-keemiliste parameetrite, geeniparameetrite ja gaasiemissioonide erinevusi hinnati erinevate katsealade vahel ühefaktorilise dispersioonanalüüsi (*one-way ANOVA*) abil. Seoste olulisust hinnati geeniparameetrite ja füüsikalise-keemiliste parameetrite ning gaaside kontsentratsioonide vahel Spearman'i korrelatsioonikoefitsiendi abil. Jooniste tegemiseks ja andmeanalüüsiks kasutati statistikaprogramme „R“ ja „Statistica v.7.1“.

Magistritöö autor osales Eesti katsealade valimises, vee-, sette-, taime- ja gaasiproovide kogumisel ja mõõtmisel. Lisaks eraldas autor Eesti ja Hiina setteproovidest DNA, määras qPCR meetodi abil geenikoopiate arvukused ning arvutas geeniparameetrite väärtused. Autor tegi andmetöötluse ja -analüüsi.

3. Tulemused

3.1. Vee, mulla ja taimede füüsikalised-keemilised parameetrid

Eestis mõõdetud vee, mulla ja taimede füüsikalised-keemilised parameetrid varieerusid katsealade lõikes (tabel 2 ja 3). Mõõtmisperioodil täheldati veetaseme muutusi, mis jäid vahemiku -29 kuni $+30$ cm. Lagedal alal varieerus veetase -22 kuni $+4$ cm, pillirooga alal -28 kuni $+5$ cm ning kaislaga alal 0 kuni 30 cm. Kõige suuremad veetaseme muutused olid juulis. Vaatluskaevudest mõõdetud veetemperatuur varieerus kõikidel aladel sarnaselt vahemikus $9,3$ kuni $17,8$ kraadi. Vee pH oli keskmiselt vahemikus $6,4$ kuni $7,2$ kõigil aladel, kuid suurimad väärtused mõõdeti kaislaga alal. Kogu mõõtmisperioodi vältel oli lahustunud hapniku sisaldus vees lagedal $2,0 \pm 0,8$ mg/l, pillirooga $1,3 \pm 0,4$ mg/l ning kaislaga alal $5,7 \pm 5,1$ mg/l. Proovivõtu kordadel varieerus elektrijuhtivus lagedal alal vahemikus $11587,3 \pm 2362,5$ uS/cm, pillirooga alal $9744,0 \pm 1162,6$ uS/cm ning kaislaga alal $9587,3 \pm 1633,99$ uS/cm. Kogu mõõtmisperioodi vältel oli redokspotentsiaali väärtus vees lagedal alal $-179,9 \pm 62,6$, pillirooga alal $-237,0 \pm 41,0$ mV ja kaislaga alal $-65,0 \pm 132,0$ mV. Hiina veeparameetrite mõõtmiste tulemused on näidatud Yang *et al.* 2020. Eestis jäi mullatemperatuur vahemikku $8,8$ kuni $26,6$ °C ning lagedal alal varieerus mullatemperatuur keskmiselt $18,5 \pm 5,1$ °C, pillirooga alal $16,2 \pm 3,5$ °C ja kaislaga alal $19,2 \pm 5,5$ °C. Hiinas mõõdetud mulla temperatuur oli võrreldes Eestiga suurem, kuid ei varieerunud oluliselt rohkem, mil lagedal alal mõõdetud temperatuur jäi vahemikku $18,9 \pm 8,6$ °C, taimedega *Spartina* ja *Scirpus* kaetud alal $20,4 \pm 8,8$ °C, vanade taimedega *Spartina* $19,8 \pm 8,9$ °C ja noorte taimedega *Spartina* kaetud alal $21,3 \pm 8,2$ °C.

Eesti aladel olid ligi neli korda suuremad TC väärtused settes võrreldes Hiina aladega (tabel 2). Hiina taimkattega katsealade setted ei erinenud üksteisest statistiliselt oluliselt süsiniku ja lämmastiku parameetrite väärtuste poolest. *Spartina* ja *Scirpuse* katseala erines ainult DN-i poolest vanema *Spartina*'ga alast (Lisa 1). Üldiselt leidis kõige rohkem DN-i *Spartina* ja *Scirpuse* katsealal ning DC-d noorema *Spartina*'ga alalt võrreldes teiste katsealadega. Hiina lageda mudase ala setted olid erinevate C ja N parameetrite poolest sarnased vanema *Spartina* ala setetega. Uurimisalade setted erinesid üksteisest kõige enam statistiliselt oluliselt TC ja TOC väärtuste poolest. Viimati mainitud parameetrid erinesid ka pillirooga ja kaislaga taimestunud alade setete vahel, aga statistiliselt olulisi erinevusi Eesti lageda ala ja pillirooga ning kaislaga alade setete vahel ei leitud erinevate C ja N parameetrite puhul.

Tabel 2. Setete erinevate süsiniku ja lämmastiku parameetrite keskväärtused ja standardhälbed (n=3) Eesti ja Hiina rannikualadel. Lühendid: DC – lahustunud üldsüsinik (mgC/kg), DN – lahustunud üldlämmastik (mgN/kg), DOC – lahustunud üldorgaaniline süsinik (mgC/kg), TC – üldsüsinik (% C), TOC – üldorgaaniline süsinik (% C).

	Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Lage mudane ala (Hiina)
DN (mgC/kg)	3,3 ± 1,0	9,0 ± 1,7	9,3 ± 6,3	16,7 ± 2,5	9,7 ± 2,8	5,1 ± 5,1	3,8 ± 0,4
DC (mgC/kg)	95,0 ± 52,0	184,5 ± 40,5	157,0 ± 58,0	215,1 ± 10,9	228,0 ± 41,6	159,9 ± 159,9	101,1 ± 16,6
DOC (mgC/kg)	44,4 ± 33,8	75,4 ± 14,2	61,3 ± 23,8	78,0 ± 6,3	108,2 ± 43,7	47,4 ± 47,4	30,5 ± 3,7
TC (% C)	6,6 ± 1,6	9,7 ± 1,9	7,6 ± 0,4	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,5 ± 1,5	1,2 ± 0,1
TOC (% C)	0,9 ± 1,5	4,7 ± 1,5	3,0 ± 0,9	1,5 ± 0,1	<1	<1	<1

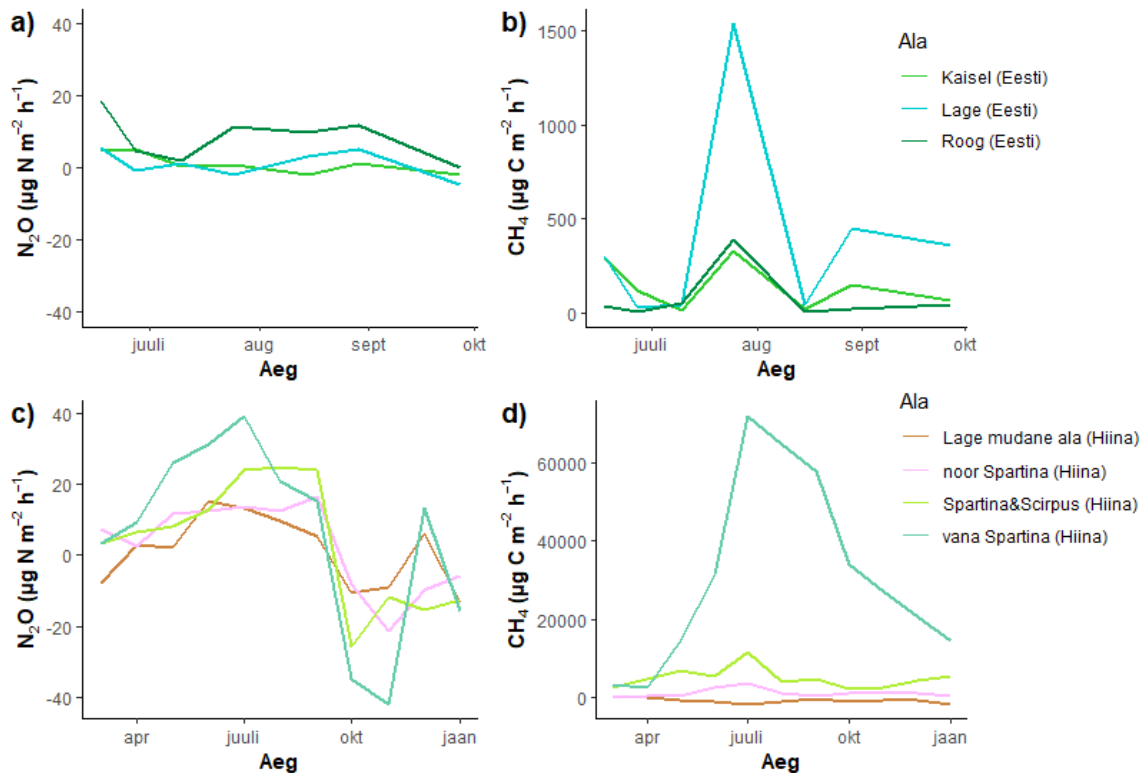
Proovivõtu päevadel mõõdetud katselappide taimede keskmine kõrgus oli pillirooga alal 135,8 ± 7,0 cm ning kare-kaislaga alal 67,7 ± 10,1 cm. Taimede keskmine tihedus varieerus keskmiselt pillirooga 177,6 ± 8,1 ning kare-kaislaga alal 122,3 ± 90,9 taime 0,2 m² kohta. Pinnase pH varieerus katsealadel keskmiselt vahemikus 6,8 kuni 7,4, mil madalamad väärtused mõõdeti hariliku pillirooga alal (tabel 3). Setete NH₄, P, K, Ca ja Mg kontsentratsioonid varieerusid vastavalt vahemikus 2,1–10,5 mg/kg, 20,9–67,0 mg/kg, 150,4–411,1 mg/kg, 1785,9–2023,7 mg/kg ja 242,3–846,3 mg/kg. Statistiliselt erinesid (p<0,05) kõik katsealad kaaliumi ja kaltsiumi kontsentratsioonide poolest. Orgaanilise aine sisaldus settes varieerus keskmiselt 2,6–10,4% alade lõikes ja suurimad väärtused olid pillirooga alal. Setteproovide lämmastiku osakaal varieerus kõigil aladel sarnaselt vahemikus 0,2 kuni 0,5% ning need erinesid üksteisest oluliselt alade vahel. Taimkattega alade maapealne biomass varieerus keskmiselt vahemikus 0,1 kuni 0,7 kg/m² ning maa-alune vahemikus 2,6 kuni 4,6 kg/m². Hariliku pillirooga alal mõõdeti võrreldes kare-kaislaga proovialal suuremad fosfori ja lämmastiku sisaldused juurtes ja taime rohelistes osades. Juurtes leiduva P protsentuaalse sisalduse poolest sarnanesid üksteisega pillirooga ja kaislaga alad. Hiinas määratud taimede ja setete parameetrid on kirjeldatud Yang *et al.* 2020.

Tabel 3. Setteid ja taimi iseloomustavate parameetrite keskvaartused ja standardhälbed (n=3) Eesti katsealadel. Tähed (a,b,c) ülaindeksitena tähistavad statistiliselt olulisi ($p < 0,05$) erinevusi parameetrite väärtustes katsealade vahel ühefaktorialse dispersioonanalüüsiga (ANOVA).

	Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)
pH	7,38 ± 0,19 ^a	6,82 ± 0,05 ^b	7,18 ± 0,08 ^{ab}
Orgaaniline aine (%)	2,59 ± 1,07 ^a	10,40 ± 2,45 ^a	5,16 ± 1,33 ^b
N (%)	0,15 ± 0,06 ^a	0,52 ± 0,09 ^b	0,26 ± 0,04 ^c
NH ₄ (mg/kg)	2,12 ± 0,56 ^a	10,46 ± 4,77 ^b	6,56 ± 3,69 ^a
P (mg/kg)	20,88 ± 11,24 ^a	67,01 ± 9,54 ^b	48,50 ± 18,96 ^a
K (mg/kg)	150,42 ± 36,16 ^a	411,08 ± 148,48 ^b	244,95 ± 69,11 ^c
Ca (mg/kg)	1794,20 ± 80,64 ^a	2023,69 ± 77,46 ^b	1785,89 ± 153,42 ^c
Maapealne biomass (kg/m ²)	0,14 ± 0,04 ^a	0,66 ± 0,02 ^b	
Maa-alune biomass (kg/m ²)	2,60 ± 1,20 ^a	4,61 ± 0,71 ^b	
Juurte N (%)	0,73 ± 0,05 ^a	1,36 ± 0,15 ^b	
Juurte P (%)	0,08 ± 0,01 ^a	0,16 ± 0,02 ^a	
Taimede N (%)	0,52 ± 0,09 ^a	0,69 ± 0,09 ^b	
Taimede P (%)	0,04 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,02 ^b	

3.2. Metaani ja naerugaasi emissioonid

Metaani- ja naerugaasi emissioonid Eesti ja Hiina katsealadelt on näidatud joonisel 5. Eestis varieerusid CH₄ emissioonid katsealade lõikes vahemikus 3,1 kuni 1538,7 µgC/(m² h). Suurimad emissioonide väärtused mõõdeti juulikuus ning väikseimad juunis ja augustis. Kõige rohkem emiteerus CH₄ lagedalt alalt. Erinevate taimeliikidega kaetud alasid omavahel võrreldes on täheldav küllatki sarnane muster, kuid siiski koguseliselt emiteerus rohkem CH₄ kare-kaislaga taimestatud alalt. CH₄ emissioonid Hiina rannikualal varieerusid vahemikus -1741 kuni 72170 µgC/(m² h) ja neist kõige rohkem emiteerus CH₄ vanema *Spartina*'ga alalt. Suuremaid CH₄ emissioone täheldati taimkattega katsealade lõikes juulikuus ja madalamaid märtsis. Hiina katsealade võrdluses emiteerus CH₄ kõige vähem lagedalt alalt (varieerumine vahemikus -1741,3 kuni 188,7 µgC/(m² h)), millele järgnes taimekoosluselt noor *Spartina* (varieerumine vahemikus 159,3 kuni 369,5 µgC/(m² h)).



Joonis 5. Metaani (CH₄) ja naerugaasi (N₂O) emissioonide dünaamika uuritud rannikualadel. Eesti katsealadel tulemusi kajastavad joonised a) ja b), Hiina tulemusi c) ja d).

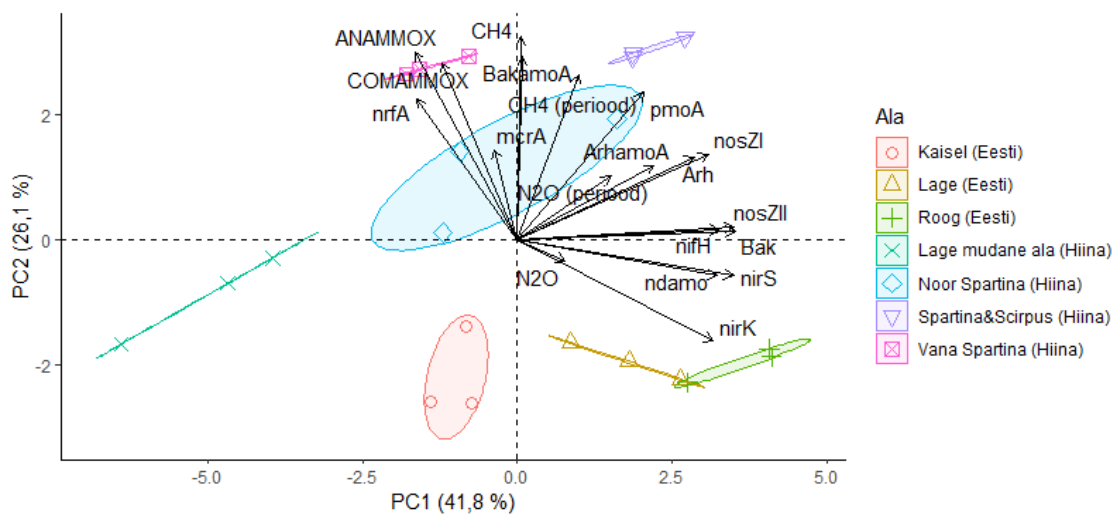
Hiina uurimisalal täheldati N₂O emissioonide kontsentratsioonides selgelt eristuvat ajalist mustrit ja emissioonid varieerusid katsealade lõikes vahemikus -42 kuni 39 µgN/(m² h). Suurimaid N₂O emissioonide väärtusi mõõdeti soojematel suvekuudel juuni-september ja madalamaid oktoobrist kuni novembrini. Koguseliselt emiteerus kõige rohkem N₂O-d mõõtmisperioodil vana *Spartina*'ga alalt (66,3 µgN/(m² h)). Teised Hiina ranniku taimkattega alad emiteerisid koguseliselt sarnaselt N₂O-d vahemikus 2,8 ± 12,3 µgN/(m² h) (noor *Spartina*) ning 3,6 ± 17,7 µgN/(m² h) (*Spartina* ja *Scirpus mariqueter*). Eesti uurimisalal oli näha püsiv N₂O emissioonimuster kõikide katsealade lõikes varieerudes sarnaselt vahemikus kare-kaislaga -2 kuni 5,3 µgN/(m² h), pillirooga 0,2 kuni 18,3 µgN/(m² h) ja lagedal alal -0,8 kuni 5,6 µgN/(m² h). Suurimad N₂O heitkoguste väärtused mõõdeti juunis kogu katsealade lõikes. Kõige rohkem emiteerus N₂O-d pillirooga alalt (58,2 µgN/(m² h)) ja kõige vähem emiteerus N₂O-d mõõtmisperioodi vältel koguseliselt lagedalt rannikualalt (8 µgN/(m² h)).

3.3. Mikroobikoosluste parameetrid

Uurimisaladel mõõdetud geenikoopiate arvukused ning nende osakaalud prokarüootide kooslusest on toodud Lisa tabelis 2 ja 3. Bakterite 16S rRNA geenikoopiate arvukused varieerusid katsealade lõikes keskmiselt vahemikus $1,9 \times 10^9$ – $3,6 \times 10^{10}$ koopiat/gKA kohta. Arhede 16S rRNA väärtused jäid vahemiku $3,9 \times 10^8$ – $2,1 \times 10^9$ koopiat/gKA. Baktereid oli kõige rohkem katsealade lõikes Hiina rannikul vana *Spartina*'ga kaetud alal ja kõige vähem Eesti rannikul kare-kaislaga kaetud alal. Statistiliselt oluliselt erines bakterite arvukuselt teiste katsealadega lage mudane ala (Lisa tabel 4). Arhesid oli arvukamalt noore *Spartina*'ga kaetud alal ning lagedal Eesti rannikul, kuigi statistiliselt olulist erinevust teiste aladega ei tuvastatud. Madalamad arhede geenikoopiate arvukused olid pillirooga kaetud alal. Näidati ka statistiliselt oluline seos arhede arvukuse ja N₂O vahel (joonis 9). Peakomponentanalüüsiga visualiseeriti erinevate katselappide grupeerumised geeniparameetrite alusel (joonised 6 ja 7).

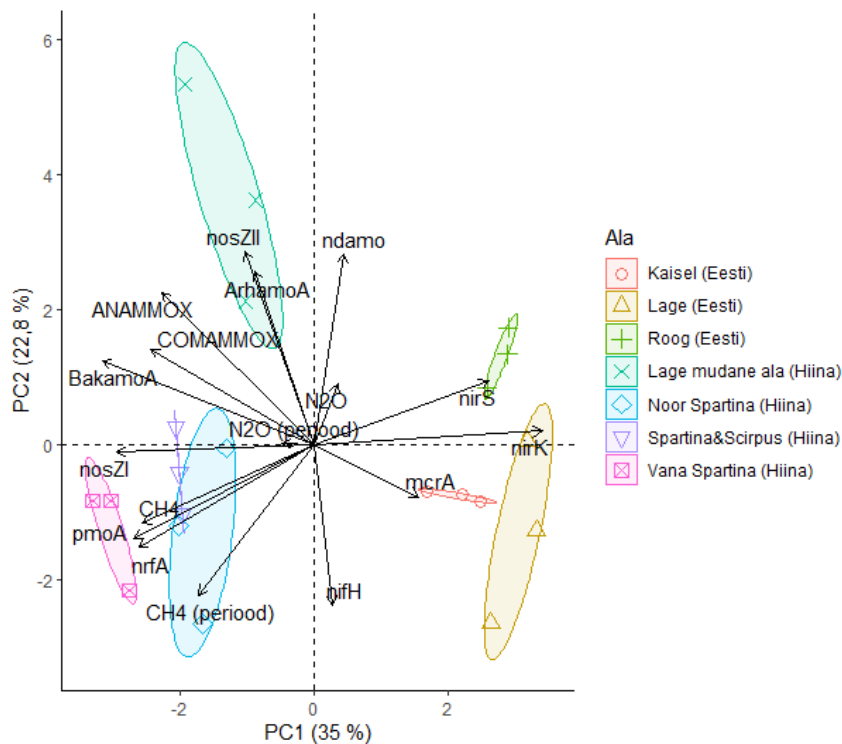
3.3.1. Metaaniringe

Metaaniringe markergeenide (*pmoA*, *mcrA* ja n-damo spetsiifiline 16S rRNA) geenikoopiate arvukused (joonis 6, lisa tabelid 2 ja 4) ja osakaalud (joonis 7, lisa tabelid 3 ja 4) olid jaotunud erinevalt katsealadel. Suurimad *mcrA* geenikoopiate väärtused leiti noore *Spartina*'ga kaetud alal. Eesti katsealadel ning Hiina lagedalt mudasel alal jäid *mcrA* geeni koopiate väärtused allpool määramispiiri. Suurimad *pmoA* geenikoopiate väärtused esinesid noore *Spartina* ning *Spartina* ja *Scripus mariqueter*'iga alal. Kõige madalamad väärtused olid Eesti rannikul kaislaga kaetud ja lagedal mudasel alal. N-damo spetsiifilise 16S rRNA geenikoopiate arvukused olid suuremad pillirooga alal, mil madalamad Hiina ranniku mudasel alal.



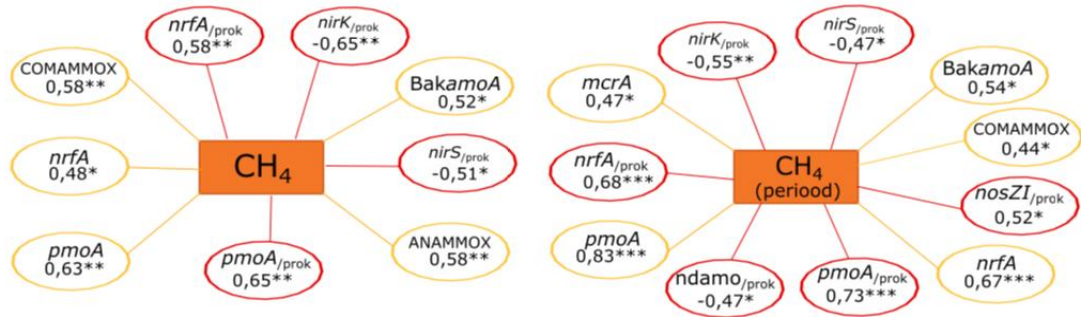
Joonis 6. Katselappide grupeerumine geenikoopiate arvukuste alusel peakomponentanalüüsi abil. Mõõtmisperioodi vältel registreeritud keskmised gaasiemissioonid on tähistatud joonisel CH₄ (periood) ja N₂O (periood) ja vahetult enne setteproovide võtmist määratud gaasiemissioonid on tähistatud CH₄ ja N₂O. Lühendid: BakamoA – bakterite *amoA*, ArhamoA – arhede *amoA*, ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA, ndamo – n-damo spetsiifiline 16S rRNA.

Geenikoopiate osakaalud prokarüootidest ning nende seoseid metaaniemissioonidega on näidatud joonisel 7. Suurim oli *mcrA* geeni osakaal Eesti kare-kaislaga ning lagedal alal. *pmoA* geeni osakaal oli suurim Hiina taimkattega kooslustes, kus *pmoA* seostus ka suuremate metaankoguste lendumisega. Madalamad *pmoA* geeni osakaalu väärtused tuvastati Eesti pillirooga rannikualalt. N-damo spetsiifilist 16S rRNA geeni leidis rohkem Hiina ranniku lagedast mudajates katsealadest, mil madalamad geeni osakaalu väärtused tuvastati noore *Spartina*'ga kaetud alal.



Joonis 7. Katselappide grupeerumine geenikoopiate osakaalu (osa prokarüootide üldkogusest) alusel peakomponentanalüüsi abil. Mõõtmisperioodi vältel registreeritud keskmised gaasiemissioonid on tähistatud joonisel CH₄ (periood) ja N₂O (periood) ja vahetult enne setteproovide võtmist määratud gaasiemissioonid on tähistatud CH₄ ja N₂O. Lühendid: BakamoA – bakterite *amoA*, ArhamoA – arhede *amoA*, ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA, ndamo – n-damo spetsiifiline 16S rRNA.

Statistiliselt olulised seosed CH₄ emissioonide ning geenikoopiate arvukuste ja nende osakaalust prokarüootidest on näidatud joonisel 8. Vahetult enne pinnaseproovide kogumist registreeritud CH₄ emissioone mõjutas statistiliselt oluliselt *pmoA* geeniparameetrid. Kogu mõõtmisperioodi keskmise CH₄ emissiooniga korreleerusid kõik metaaniringega seotud markergeenid – *mcrA*, *pmoA* ja n-damo spetsiifiline 16S rRNA. Neist olid metanogeenid ja metanotroofid positiivselt seotud mõõtmisperioodi keskmise CH₄ emissiooniga ja n-damo protsess negatiivselt. Lisaks olid erinevate CH₄ emissiooni väärtustega statistiliselt oluliselt positiivselt või negatiivselt seotud ka mitmed lämmastikuringe protsesside geenid (nitrifikatsioon, denitrifikatsioon, ANAMMOX, COMAMMOX ja DNRA).



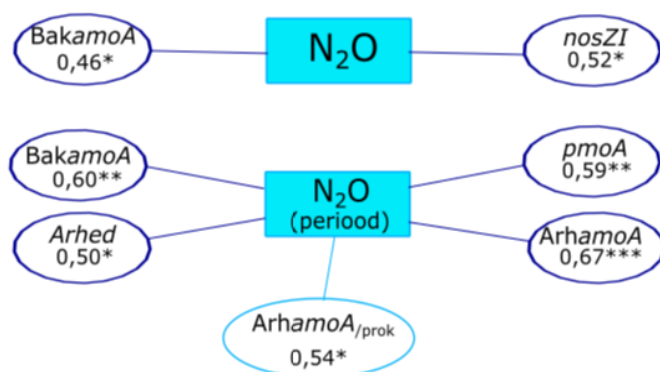
Joonis 8. Statistiliselt olulised (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$) Spearmani korrelatsioonikoefitsendid metaani (CH_4) gaasiemissioonide ja geenikoopiate arvukuste ning osakaalude vahel. Kogu mõõtmisperioodi vältel registreeritud keskmised gaasiemissioonid on tähistatud joonisel CH_4 (periood) ja N_2O (periood) ja vahetult enne setteproovide võtmist määratud gaasiemissioonid on tähistatud CH_4 ja N_2O . Lühendid: /prok – geenikoopiate osakaalu prokariootidest, BakamoA – bakterite *amoA*, ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA, ndamo – n-damo spetsiifiline 16S rRNA.

3.3.2. Lämmastikuringe

Lämmastikuringe markergeenide geenikoopiate arvukused (joonis 6, lisa tabelid 2 ja 4) ja osakaalud (joonis 7, lisa tabelid 3 ja 4) olid ka jaotunud suhteliselt erinevalt katsealadel. Denitrifikatsiooni protsesside markergeene (*nirK*, *nirS*, *nosZI*, *nosZII*) leidis oluliselt rohkem katsealadel noor *Spartina*, *Spartina* ja *Scirpus* ning pilliroog ja lage. Seevastu denitrifikatsiooni lõppetappi läbiviivaid *nosZII* geene leidis osakaalult kõige rohkem Hiina lagedal mudasel alal ja kõige vähem Eesti lagedalt alalt (joonis 7). Nitrifikatsiooni protsessiga (*amoA*) seotud geenikoopiaid leidis kõige rohkem taimkattega noore *Spartina*'ga alal, kuigi arhede *amoA* geeni leidis hoopis osakaalult rohkem lagedalt mudaselt Hiina alalt. Vana *Spartina* eristus teistes suuremate ANAMMOX-i ja COMAMMOX-i protsessi spetsiifilise 16S rRNA ning DNRA spetsiifilise *nrfA* geenikoopiate arvukuse poolest, kuigi koosluses osakaalult domineeris neist *nrfA* geen. Lämmastiku fikseerimise markergeeni *nifH* oli kõige vähem Hiina lagedal mudasel alal.

Statistiliselt oluliselt mõjutasid mõõtmisperioodi vältel N_2O emissioone nii bakterite kui ka arhede *amoA* geenikoopiaid (joonis 9). Lisaks leiti statistiliselt oluline seos ka *pmoA* geenikoopiate ja perioodi N_2O emissiooni vahel. Vahetult enne setteproovide kogumist

registreeritud N₂O emissioone mõjutas oluliselt bakterite *amoA* ning *nosZI* geenikoopiate arvukused.



Joonis 9. Statistiliselt olulised (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$) Spearmani korrelatsioonikoefitsendid naerugaasi (N₂O) gaasiemissioonide ja geenikoopiate arvukuste ning osakaalude vahel. Kogu mõõtmisperioodi vältel registreeritud keskmised gaasiemissioonid on tähistatud joonisel CH₄ (periood) ja N₂O (periood) ja vahetult enne setteproovide võtmist määratud gaasiemissioonid on tähistatud CH₄ ja N₂O. Lühendid: /prok – geenikoopiate osakaalu prokarüootidest, BakamoA – bakterite *amoA*, ArhamoA – arhede *amoA*.

3.3.3. Geeniparameetrite omavahelised suhted

Statistiliselt olulised geeniparameetrite omavahelised seosed on toodud Lisa tabelis 5. Bakterite ja arhede 16S rRNA geenid olid omavahel seotud positiivselt. Samuti korreleerusid üksteisega positiivselt denitrifikatsiooni läbiviivad *nirK*, *nirS*, *nosZI* ja *nosZII* geeniparameetrid, kuigi *nosZI* geeni domineerimine koosluses pärssis oluliselt *nirK* ja *nirS* geenide arvukusi koosluses. Erinevad *amoA* geenid ei olnud üksteisega statistiliselt oluliselt seotud. *nrfA* geen oli positiivselt korreleerunud bakterite *amoA* ning COMAMMOX-i spetsiifilise 16S rRNA geeniga. *nifH* geeniarvukused olid positiivses seoses *nosZI* ja arhede *amoA*-ga, kuid nende suur osakaal koosluses võib hoopis võimendada vastupidist seost. ANAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA geen ning *nirK* ja *nirS* geenikoopiad on omavahel negatiivselt seotud. COMAMMOX-i protsessi mõjutab negatiivselt *nirK* geenide suurenemine koosluses. N-damo spetsiifiline 16S rRNA geen oli positiivselt seotud kõikide uuritud bakterite ja arhede 16S rRNA ning arhede *amoA* geenidega ning denitrifikatsiooni ja lämmastiku fikseerimisega seotud geeniparameetritega. *pmoA* geen oli negatiivselt seotud *nirS* ja *nirK* geenidega. Kooslustes mõjutab n-damo spetsiifilist 16S rRNA geeni negatiivselt

nrfA geenide suurem osakaal. *mcrA* geen oli seotud vaid *nosZI*-ga ning nende vahel tuvastati positiivne korrelatsioon. Lisaks tuvastati *nosZ*-ga positiivne seos ka teiste metaaniringe geeniparameetritega.

3.3.4. Geeniparameetrite seosed füüsikalis-keemiliste näitajatega

Uurimisel ilmnes erinevate geeniparameetrite ja füüsikalis-keemiliste faktorite vahel mitmeid statistiliselt oluliseid seoseid (Lisa tabelid 6 ja 7). Bakterite 16S rRNA geenikoopiate arvukus oli tugevasti positiivselt seotud erinevate setteparameetritega (TC, TOC, DN, DC, DOC). Arhede 16S rRNA geenikoopiate arvukusi mõjutas erinevalt bakteritest vaid DN ja DC ning settes TOC. Lisaks mõjutas Hiina rannikuala katsealasid bakterite ja arhede geenikoopiate arvukusi settes TN hulk ning negatiivselt TN/TC suhe. Bakterite ja arhede geenikoopiate arv väheneb sette pH suurenedes. Bakterite arvukus on negatiivselt mõjutatud vee soolsusest, kuigi arhedel selle parameetriga olulist seost ei leitud. Arhede geenikoopiate arvukusi pinnases mõjutavad positiivselt NH_4^+ kontsentratsioonid ning orgaanilise aine ja lämmastiku hulk ning erinevate toitainete nagu Ca ja Mg kogus pinnases. Erinevalt arhedest pärsib bakterite arvukust oluliselt NO_3^- kontsentratsiooni suurenemine pinnases. Statistiliselt olulised seosed leiti erinevalt arhedest P, K ning Mg kontsentratsioonidega.

Denitrifikatsiooni protsessi läbiviivaid geenikoopiate (*nirS*, *nirK*, *nosZI*, *nosZII*) arvukusi mõjutas oluliselt negatiivselt sette pH ning TN/TC suhe. Sette pH mõjutab koosluses oluliselt rohkem *nosZI* geene, kuid geenikoopiate osakaalu kooslustes arvesse võttes *nosZII* geene. NO_3^- kontsentratsioonide suurenedes vähenevad oluliselt *nirK* ja *nirS* geenikoopiate arvukused keskkonnas, kuigi *nosZI* geenide arvukust mõjutab suurenemine koosluses positiivselt. *nosZI* geenide arvukusi koosluses pärsib erinevate ka taimedele oluliste toitainete suurenemine (P, K, Mg) ning lisaks samuti orgaanilise aine ja lämmastiku osakaalu suurenemine pinnases.

Nitrifikatsiooni markergeeni *amoA* mõjutab oluliselt veetaseme tõus ning TN/TC suhte kasv. Veetaseme tõus vähendab oluliselt arhede *amoA* geenide arvu koosluses, kuid baktereid see märkimisväärselt ei mõjuta. Kogu mõõtmisperioodi arvesse võttes mõjutab oluliselt bakterite *amoA* geenikoopiate arvukust maapealne ja maa-alune biomass ning sealsete N ja P hulk, kus arhede geenikoopiate arvukuses olulisi seoseid ei leitud. ANAMMOX spetsiifilist 16S rRNA geenikoopiate arvukust mõjutas oluliselt negatiivselt settes TC ja TOC sisaldus. NO_3^- kontsentratsioonide ning mulla temperatuuri tõus mõjutas positiivselt

ANAMMOX-i ja COMAMMOX-i protsesse. COMAMMOX-l tuvastati oluline seos NO_2^- -ga. Mulla temperatuurist oli tugevasti mõjutatud ka DNRA spetsiifiline geen *nrfA*. DNRA protsessi mõjutab negatiivselt vee soolsus. Taime parameetrite ning vee soolsuse suurenemine vähendab oluliselt *nifH* geenide arvu kooslustes.

Metanogeenide *mcrA* geenikoopiate arvukus ning nende osakaal prokarüootides on negatiivselt seotud erinevate taime parameetritega. Samuti pärsib geenikoopiate arvukust vee soolsuse kasv. Metanotroofide *pmoA* geenikoopiate arvukust mõjutab kogu mõõtmisperioodi vältel oluliselt DN ja DC kogus vees ning mulla temperatuur. *pmoA* gene kooslustes vähendab oluliselt suurenenud toitainete hulk pinnases (P, K, Mg, N, orgaaniline aine), kus n-damoga spetsiifilise 16S rRNA geeniga leiti vastupidine seos. Metanogeenide, metanotroofide ja n-damo protsessi potentsiaalset toimumist pärsib TN/TC suhte kasv. N-damo spetsiifilist 16S rRNA geenide osakaal koosluses vähendab oluliselt mulla temperatuuri tõus, pikemas ajalõikes vee soolsus, pH ning NO_3^- hulk settes.

4. Arutelu

Riimveelised on tavaliselt mere- ja jõevee segunemisalad (näiteks lehtersuudmed ehk estuaarid) või maailmamere osad, mis on ookeanidest eraldatud kitsaste väinadega, näiteks Läänemerega (Roff, 2013). Nende vete rannikualad on enamasti inimtegevusest palju mõjutatud nii erinevate rannakaitse ehitiste poolt kui ka jõgede kaudu tulevast reostuskoormusest, mis pärineb näiteks põllumajandusest (Haslett, 2016). Erinevad süsiniku- ja lämmastikuringe hulka kuuluvad mikrobioloogilised protsessid aitavad vähendada üleliigse süsiniku ja lämmastiku kontsentratsioone rannikualadel, kus muuhulgas mängivad olulist rolli ka taimed (Pratolongo, 2013). Käesolevas magistritöös uuriti erinevaid riimveelisi rannikualasid (Eestis ja Hiinas) ning hinnati sealsete taimeliikide potentsiaali mõjutada mikrobioloogilist metaani- ja lämmastikuringet ning nende mõju gaasiemissioonidele. Mitmed uuringud on täheldanud, et invasiivsed liigid võivad gaasiemissioone soodustada kui ka nende mõju leevendada (Zhang *et al.* 2013; Yang *et al.* 2020), kuid see, kuidas need mikrobioloogilisi protsesse mõjutavad on suuresti ebaselge.

Uurimisalade mikroorganismide kooslustes oli baktereid enam kui arhesid. Katsealade võrdluses näidati metanogeneesi suurim geneetiline potentsiaal vana *Spartina*'ga kaetult alalt, kus oli ka metaani emissioon kolm korda kõrgem võrreldes teiste Hiina katsealadega. Võimalikeks põhjusteks võib pidada sobiliku substraadi olemasolu ja vanade taimede suutmatust piisavalt risosfääri hapnikku viia, et saaks toimuda metaani oksüdatsioon (Jørgensen *et al.* 2012; Xu *et al.* 2018). Samuti ei ole välistatud mõlema teguri koosmõju. Kuigi rohkem metaani emiteerus vanema *Spartina*'ga alalt, siis metanogeenide arvukustes ei olnud noore *Spartina* ja vanema *Spartina* alade vahel erinevusi. Selline seos on leitud ka teistes uuringutes (Cheng *et al.* 2007; Yang *et al.* 2020), kus nooremad ja kasvueas taimed suudavad leevendada kahjulikku kasvuhooonogaasi heitkoguseid.

Kare-kaislaga kaetud alal oli madalam geneetiline potentsiaal metaani tootmiseks. Seda võis mõjutada rannikuvee soolsus, mis omakorda pärssis mikroorganismide aktiivsust (Tong *et al.* 2017). Käesolevas magistritöös ei leitud biomassi ja metaani tootmise vahel positiivset seost, viidates hoopis taimede ning mikroorganismide omavahelisele konkurentsile. Töö tulemus erineb teistest uuringutest, kus on leitud biomassi ja metaani tootmise vahel positiivne seos (Cheng *et al.* 2007). Siiski leitud seosed kinnitavad, et taimeliigid mängivad olulist rolli metaani transpordil ja tootmisel (Cheng *et al.* 2007; Bridgham *et al.* 2013).

Metaani tarbijate mikroorganismide arvukused olid positiivselt seotud metaani emissiooniga, mis viitab sellele, et metaani tootmise kasvades suurenes ka metanotroofide arvukus. Sealjuures võis metanogeenide aktiivsus ületada metanotroofide oma. Selline seos on näidatud ka riisipõldudel, kus suuremad metaani emissioonide kontsentratsioonid suurendasid ühtlasi *pmoA* geeni omavate mikroorganismide arvukusi (Xu *et al.* 2020). Seevastu erinevatest märgalades on täheldatud, et lämmastikurikastest rannikusetetes võivad metanotroofid eelistada tarbida aga atmosfääri leiduvat metaani kui pinnases toodetud metaani (He *et al.* 2019b).

Pillirooga alal oli n-damo protsessi läbi viivate organismide koguarvukus kõige suurem, kuid koosluses näidati nende suurimat osakaalu lagedalt mudaselt alalt. Rannikualade uurimisaladelt leiti oluline negatiivne seos n-damo ning metaani emissioonide vahel, viidates sellele, et n-damo protsess vähendas sealseid metaanikoguseid. N-damo protsessi on leitud ka mitmetes teistes looduslikes keskkondades, nagu näiteks magevee järvedes, jõgedes, teistest märgalades (Hu *et al.* 2014; Li-Dong *et al.* 2014; Shen *et al.* 2014), kuid seda protsessi on vähe uuritud.

Suurimat lämmastiku fikseerimise potentsiaali näidati noore *Spartina*'ga alal, kus *nifH* geeni omavaid mikroorganisme mõjutas oluliselt maa-alune ja maapealne biomass. Mida kiirekasvulisem oli taim, seda rohkem lämmastikku ta rannikumulda sidus, viidates sellele, et lämmastikuühendeid kasvukohas nappis. Nitrifikatsiooni suurim geneetiline potentsiaal leiti lagedal mudasel alal. Kõikidel uuritud aladel domineeris arhede *amoA* poolt läbiviidud nitrifikatsioon, mis näitas, et rannikualade keskkonnaparametrid olid sobilikumad arhede *amoA*-le kui nitrifitseerijatest bakteritele.

COMAMMOX-i protsess oli eelistatum *Spartina* ja *Scirpuse* alal. Samuti oli suurem protsessi geneetiline potentsiaal kare-kaislaga alal. COMAMMOX-i läbi viivate mikroorganismide aktiivsust soodustasid erinevad keskkonnaparametrid, nagu sette soolsus, TN ja mulla temperatuuri tõus. Võrreldes teiste ökosüsteemidega (Daims *et al.* 2015; Pjevac *et al.* 2017) on COMAMMOX-i protsessi uuritud rannikusetetes vähe. Samuti on piiratud teadmised, millised keskkonnaparametrid mõjutavad täpsemalt protsessi läbiviivaid mikroorganisme (Yu *et al.* 2018), mistõttu on oluline seda teadmust suurendada.

ANAMMOX-i suurim geneetiline potentsiaal oli *Spartina*, *Spartina* ja *Scirpuse* ning lagedal mudasel alal. Sellest võib järeldada, et üleliigne lämmastik viidi ringlusest välja soodustatud rada pidi, kus vähendati võimaliku kahjuliku kasvuhoonegaasi N₂O teket. Kare-kaislaga

ning pillirooga alal näidati väikest ANAMMOX-i protsessi geneetilist potentsiaali, viidates sellele, et seal elutsevad bakterid vajavad stabiilsemaid anaeroobseid tingimusi ning ammoniumi kontsentratsioone (Kuenen, 2008).

Denitrifikatsiooni protsessi suurim geneetiline potentsiaal oli erinevatel taimkattega kaetud (*Spartina*, *Spartina* ja *Scirpus*, pilliroog) aladel ning Eesti lagedal alal. Statistiliselt oluliselt erinesid katsealad omavahel süsiniku kontsentratsioonide poolest, kus suurem hulk pinnases võis oluliselt soodustada denitrifikatsiooni (Wrage-Mönnig *et al.* 2018). Pillirooga alal tuvastati *nir* tüüpi denitrifitseerijate suur osakaal, millest võib järeldada, et N₂O suuremad emissioonikogused eraldusid mittetäieliku denitrifikatsiooni protsessi tagajärjel. Uurimisalade taimeliike võrreldes emiteerus rohkem naerugaasi suurema biomassiga *S. alterniflora*'ga kaetud alalt kui pilliroolt, mida on leitud ka teistest samu taimeliike võrdlevatest uurimistöödest (Cheng *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2013). Nendes uuringutes on näidatud, et nitritifitseerivate ja denitrifitseerivate mikroorganismide aktiivsust tõstavad suurema biomassiga taimed, kes rikastavad mulda mikroorganismide vajalike substraatidega (C ja N ühenditega). Siiski taimede puhkeperioodil võis tähelda vastupidist seost, kus setete mikroobide ning taimede vahel esineb konkurents vähenenud toitainete pärast pinnases (Yu *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2013; Wrage-Mönnig *et al.* 2018). Esinenud seost kinnitavad ka antud ka antud magistr töö tulemused.

Katsealadel ei täheldatud *nir* tüüpi denitrifitseerijatel omavahelist konkurentsi, viidates sellele, et rannikualade keskkonnatingimused olid soodsad mõlemat geeni omavatele mikroorganismidele. Rannikusetetes oli *nir* geeni omavaid mikroobe rohkem kui *nosZ* geeni omavaid mikroorganisme, mis näitab, et denitrifikatsiooni protsess võis mitte täielikult lõpuni minna. Sellest tulenevalt võib eelnimetatud protsessi pidada potentsiaalseks N₂O allikaks uurimisaladel. Erinevad teadustööd on näidanud, et *nirS* geeni omavatel mikroorganismidel on pigem ka *nosZ* geen ning seega vähendavad need mikroobid enam naerugaasi emissioone (Graf *et al.* 2014). Olulist rolli N₂O redutseerimisel õhulämmastikuks näidati uurimisalade lõikes vaid *nosZ* I-klaadi omavatel mikroorganismidel, kus *nirS* tüüpi denitrifitseerijatega statistilist olulist seost ei leitud. Uurimisaladel leidis ülekaalukalt aga *nirK* tüüpi denitrifitseerijaid, mida võib seletada suuremate N₂O emissioonidega. *nosZ* II-klaad tüüpi denitrifitseerijad olid arvukamad võrreldes I-klaad tüüpi denitrifitseerijatega, kuigi teistes uuringutes on näidatud, et rannikusetetes domineerib enamasti I-klaad tüüpi mikroorganismid (Jones *et al.* 2013; Dini-Andreote *et al.* 2016). Samuti võis olulist rolli mängida asjaolu, et *nosZ* II-klaad on hiljaaegu avastatud (Hallin *et al.* 2018) ning võimalik

mitmekesisus erinevates keskkondades on veel puudulik. Keemilise analüüsi tulemused näitasid, et *nosZ* klaade mõjutasid erinevad keskkonnaparameetrid, mis annab alust arvata, et *nosZ* I ja II klaadi geeni omavad mikroorganismid eelistavad erinevaid keskkondi. Selliseid seoseid on kinnitanud ka mitmed teised uuringud (Jones *et al.* 2013; Dini-Andreote *et al.* 2016).

DNRA protsessi suurim geneetiline potentsiaal oli *Spartina*, *Spartina* ja *Scirpus* ning lagedal mudasel alal. Sellist seost on näidatud ka teistes riimveelistes suudmeala setetes, kus soolsuse hulk ning temperatuuri kasv vähendas oluliselt denitrifikatsiooni protsessi ning suurendas *nrfA* geeni omavate mikroorganismide aktiivsust (Giblin *et al.* 2010). Sellist tendentsi on leitud ka mitmetes troopilistes estuaarides (Dong *et al.* 2009). Madalam protsessi geneetiline potentsiaal tuvastati pillirooga alalt, viidates sellele, et lämmastik redutseeriti tagasi atmosfääri peamiselt denitrifikatsiooni protsessi tagajärjel. DNRA protsessi ning denitrifikatsiooni mikroorganismide omavahelist sama substraadi NO_3^- pärast konkurentsi magistritöös ei tuvastatud. Seevastu täheldati olulist konkurentsi substraadi pärast ANAMMOX-i ja COMAMMOX-i läbiviivate mikroorganismidel, kelle aktiivsus settes suurenes statistiliselt oluliselt kontsentratsioonide kasvuga.

Magistritöös selgus, et invasiivne taimeliik *Spartina alterniflora* võib ära hoida heitkoguste lendumist atmosfääri, kuid Eesti rannikualadele omane harilik pilliroog oluliselt soodustada N_2O emissioone. Sealhulgas ei tohiks alahinnata taimekoosluse mõju kasvuhoonegaasi emissioonide ning kliimamuutuste mõjude leevendamiseks. Taimede kärpimine kasvuperioodil võib oluliselt metaaniringe protsesse pärssida, kuid lämmastikuringe protsesside tagajärjel N_2O tootmist soodustada (Cheng *et al.* 2007), mistõttu on oluline teadvustada taimede rolli aineringetes ning rannikualade koosluste taastamises ja hoolduses.

Töö tulemused annavad olulist infot riimveeliste rannikualades toimuvate mikrobioloogiliste protsesside kohta ning, kuidas erinevad keskkonnaparameetrid ning taimeliigid võivad mõjutada sealseid mikroobikooslusi. Mikroorganismide muutused pinnases ei ole nõnda kiired kui gaasiemissioonide varieeruvused mõõtmiskordadel. Pikemaajalised ja laiapõhjalisemad mõõtmised oleks tarvilikud teha nii neil aladel kui ka teistel riimveest mõjutatud rannikualadel, sest rohkem andmestikku kujundab põhjalikuma tervikpildi. Tervikliku üldpildi omamine erinevatest rannikualadest toimuvates mikrobioloogilistes aineringetes annab aluse paremaks rannikukaitse ning tehnoloogiliste meetmete vajalikkusele.

Kokkuvõte

Rannikualad on mitmekesised ökosüsteemid, mis kujunevad mitmete tegurite koosmõjul. Oma mitmekesisuse ning varieeruvusega pakuvad nad mitmeid elutähtsaid ökosüsteemi teenuseid. Tänapäeva üha intensiivistuv inimtegevus ning kliimamuutustega kaasnevad häiringud on suurendanud mõjusid rannikualadele. Erinevad taimed mõjutavad rannikumulla mikroobikooslusi, mõjutades sealseid mikrobioloogilisi metaani- ja lämmastikuringet. Mikrobioloogiliste aineringe häiringute tagajärjel võib aga keskkonda emiteerida kahjulikke kasvuhoonegaase, nagu metaani CH₄ ning dilämmastikoksiidi N₂O.

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli uurida erinevaid riimveelisi rannikualasid Lääne-Eestis ja Ida-Hiinas ning seal kasvavate taimeliikide mõju mikrobioloogilisele metaani- ja lämmastikuringele. Erinevate metaani- ja lämmastikuringe protsesside toimumise potentsiaali määrati protsessile spetsiifiliste markergeenidega. Metaaniringes osalevaid mikroorganisme tuvastati järgmiseid gene kvantifitseerides: metaani tootvaid metanogeenid (*mcrA*) ning metaani tarbijaid metanotroofid (*pmoA*). Lämmastikuringes uuriti järgnevaid protsesse: lämmastiku fikseerimine (*nifH*), nitrifikatsioon (bakterite ja arhede *amoA*), denitrifikatsioon (*nirS*, *nirK*, *nosZI*, *nosZII*), dissimilatoorne nitraadi redutseerimine ammooniumiks (*nrfA*), anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon (ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA geen) ning täielik ammooniumi oksüdeerimine (COMAMMOX spetsiifiline 16S rRNA geen). Lisaks uuriti lämmastiku- ja süsinikuringet ühendavat nitritist sõltuvat anaeroobset metaani oksüdeerimist (n-damo spetsiifiline 16S rRNA geen). Neist nelja protsessi vaheetappides – nitrifikatsioon (k.a COMAMMOX), denitrifikatsioon, DNRA ja nitrifitseerijate denitrifikatsioon, käigus võib eralduda keskkonda kahjulikku kasvuhoonegaasi N₂O-d. Keskkonnategurite mõju rannikukoosluste mikroorganismidele hinnati metaani ja naerugaasi emissioonide kontsentratsioone mõõtes kambermeetodil ning nende olulisi seoseid geeni- ning keskkonnaparameetrite vahel erinevate statistiliste meetoditega (Spearmani korrelatsioonikoefitsent, ANOVA).

Antud magistritöö tulemustest järeldus, et taimed mängivad olulist rolli kasvukeskkonna kujundamises ning seeläbi kahjulike kasvuhoonegaaside heitkoguste emiteerimises. Erinevad keskkonnatingimused määrasid uurimisalade koosluse struktuuri. Keskkonnatingimused soodustasid COMAMMOX-i protsessi läbiviivate mikroorganismide aktiivsust *Spartina* ja *Scirpuse* ning kare-kaislaga katsealal, kus mikroorganismide kohastumuste eelistuste kohta rannikusetetes teatakse vähe. ANAMMOX-i suurim

geneetiline potentsiaal Hiina katsealadel näitas, et üleliigne lämmastik redutseeriti nii, et minimaalselt eraldus kahjulikku dilämmastikoksiidi. Hiina uurimisala keskkonnatingimused soodustasid nitrifikatsiooni toimumist, seevastu Eestis emiteerus kahjulik N₂O-d peamiselt mittetäieliku denitrifikatsiooni tulemina. Uurimisalad erinesid üksteisest peamiselt üldsüsiniku protsentuaalsuse ja anaeroobsete tingimuste poolest, mis pakkus soodsat elukeskkonda just *nirK* geeni omavatele mikroorganismidele.

Suurimad emissioonide kontsentratsioonid näidati vanema *Spartina alterniflora* ga kaetud alal, kus metaani eraldus võrreldes Eesti alaga märkimisväärselt ligi neli korda rohkem. Eestis täheldati suuremaid metaanikoguseid lagedalt alalt, kus dilämmastikoksiidi emiteerus rohkem hariliku pillirooga (*Phragmites australis*) katsealalt. Metaani tarbivate mikroorganismide aktiivsus oli seotud metaani suuremate emissioonidega. Dilämmastikoksiidi korral täheldati oluline seos taimeliigi vanuse ning biomassiga, kus nooremad taimed leevendasid kasvuhoonegaasi emiteerumist atmosfääri. Seevastu taimede puhkeperioodil tuvastati tihe konkurents protsesside läbiviimiseks vajalike substraatide vahel mikroorganismidega, mille tõttu vähenesid kasvuhoonegaasi kogused. Lämmastiku- ja süsinikuringet ühendava n-damo suurimat geneetilist potentsiaal leiti pillirooga ja lagedalt mudaselt alalt, kus eelnimetatud protsess leevendas metaanikoguste paiskamist atmosfääri.

Parema kaitse tagamiseks on oluline mõista rannikualades toimuvaid protsesse ning nende seoseid erinevate keskkonnaparameetritega. Taimede potentsiaali vahendada emissioonide vooge ning risosfääris toimuv suhe väärib tähelepanu, sest see võib muuta meie arusaama, kuidas taimed reageerivad lämmastikuühendite kasvule, soolsusele, merevee tõusu või muudele kliimamuutusest intensiivistuvatele teguritele. Uued teadmised ning varasemate teadmiste kinnitused aitavad mõista, kuidas toimub keerukas ranniku ökosüsteem mikroorganismide vaatevinklist ning kuidas seda on võimalik mõjutada taimedega.

Impact of different plant species on the microbial methane and nitrogen cycle and CH₄ and N₂O emissions on coasts affected by brackish water

Kristin Pille

Summary

Coastal areas are diverse ecosystems, which are formed with a combination of several factors. With their diversity and variability, they offer several ecosystem services. Nowadays increasing human activity and the disturbances caused by climate change, have made coastal areas increasingly vulnerable. Different plant species affect coastal microbial methane and nitrogen cycles by affecting soil microorganism's communities. As a result of microbiological disturbances, harmful greenhouse gases, e.g. methane CH₄ and nitrous oxide N₂O, can be emitted to the environment.

The aim of this master thesis was to study brackish waters in West-Estonia and East-China and the impact of different plant species on the microbial methane and nitrogen cycle. To examine the methane and nitrogen cycling potential, process-specific marker genes were used. Microorganisms involved in the methane cycle were identified by quantifying the following genes: methane-producing methanogens (*mcrA*) and methane-consuming methanotrophs (*pmoA*). The following processes were studied in the nitrogen cycle: nitrogen fixation (*nifH*), nitrification (bacterial and archaeal *amoA*), denitrification (*nirS*, *nirK*, *nosZI*, *nosZII*), dissimilatory nitrate reduction to ammonium (*nrfA*), anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX specific 16S rRNA gene) and complete ammonium oxidation (COMAMMOX specific 16S rRNA gene). In addition, nitrite-dependent anaerobic oxidation of methane (n-damo specific 16S rRNA gene), connecting the nitrogen and carbon cycles, was studied. In the intermediate stages of the four processes – nitrification (incl. COMAMMOX), denitrification, DNRA, and denitrification of nitrifying bacteria, may release harmful greenhouse gas N₂O to the environment. The impact of environmental factors on the microbial coastal communities was assessed by methane and nitrous oxide gas emission concentrations and their important relationships between gene and environmental parameters by statistical methods (Spearman correlation coefficient, one-way ANOVA).

The results of this master thesis concluded that plants play an important role in shaping the growing environment and thus in emitting harmful greenhouse gas emissions. Different environmental conditions determined the structure of microbial communities in the study areas. The environmental conditions favored the COMAMMOX process in *Spartina* and

Scirpus and *Schoenoplectus tabernaemontani* research areas, where little is known about the preference of microorganism adaptations in coastal sediments. The greatest genetic potential of ANAMMOX in the Chinese research areas showed that excess nitrogen was reduced to minimize the release of harmful nitrous oxide. Nitrification by environmental parameters was favored in research areas in China. The research areas differed from each other mainly in terms of total carbon percentages and anaerobic conditions, which offered a favorable living environment to *nirK* gene.

The highest emission concentrations were shown in the study area covered by older *Spartina alterniflora*, where methane emission differed four times. In Estonia, higher amounts of methane were observed in the open area, where more nitrous oxide was emitted from the *Phragmites australis* study area. The activity of methane-consuming microorganisms was associated with higher methane emissions. In contrast, during the dormancy of plants, intense competition due to substrates was identified between plants and the microorganisms, which reduced greenhouse gas emissions. The greatest genetic potential of the n-damo, which combines the nitrogen and carbon cycles, was found in *Phragmites australis* and open muddy areas, where the aforementioned process mitigated the release of methane into the atmosphere.

To ensure better protection, it is important to understand the processes taking place in coastal areas and their links to different environmental parameters. The relationship between rhizosphere and plant's potential to mediate emissions flow is worth noting because it can change our understanding of how plants respond to the growth of nitrogen compounds, salinity, sea-level rise or other factors intensifying climate change. New knowledge and verification of previous results will help to understand how complex coastal ecosystems work from a microbial point of view and how it can be affected by plants. In the case of nitrous oxide, a significant correlation was observed with the age of the plant species and biomass were younger plants mitigated greenhouse gas emissions into the atmosphere.

Tänuavaldused

Sooviksin südamest tänada oma juhendajaid, Mikk Espenberg ning Ülo Mander, kannatlikkuse, heade nõuannete ning igakülgse abi eest töö valmimisel. Lisaks välitöödel abikäe osutanud Martin Maddisoni ja Thomas Schindlerit ning täiendavate laboritööde keemilise analüüside selgituse eest Ivika Ostonen-Märtinit ja Mae Uri. Samuti magistritöös kasutatud artikli „Invasive *Spartina alterniflora* can mitigate N₂O emission in coastal salt marshes“ autoreid kogutud andmete jagamise eest.

Käesolevat magistritöö on rahaliselt toetatud uurimisprojekti PRG352 "Kasvuhoonegaaside vood märgalades lokaalsest globaalseni – kliima soojenemise ja maakasutuse mõju (1.01.2019–31.12.2023; juht prof. Ülo Mander) vahenditest.

Kasutatud kirjandus

- Allen, D. E., Dalal, R. C., Rennenberg, H., Meyer, R. L., Reeves, S., & Schmidt, S. (2007). Spatial and temporal variation of nitrous oxide and methane flux between subtropical mangrove sediments and the atmosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, *39*, 622–631.
- Aronson, E. L., Allison, S. D., & Helliker, B. R. (2013). Environmental impacts on the diversity of methane-cycling microbes and their resultant function. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 225.
- Baggs, E., & Philippot, L. (2010). Microbial terrestrial pathways to nitrous oxide. In *Nitrous Oxide and Climate Change* (pp. 4–35).
- Bange, H., Freing, A., Kock, A., & Löscher, C. (2010). *Marine Pathways to Nitrous Oxide*.
- Bange, H W, Bartell, U. H., Rapsomanikis, S., & Andreae, M. O. (1994). Methane in the Baltic and North Seas and a reassessment of the marine emissions of methane. *Global Biogeochemical Cycle*, *8*, 465–480.
- Bange, Hermann W. (2006). Nitrous oxide and methane in European coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *70*, 361–374.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C., & Silliman, B. R. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs*, *81*, 169–193.
- Borges, A. V., Champenois, W., Gypens, N., Delille, B., & Harlay, J. (2016). Massive marine methane emissions from near-shore shallow coastal areas. *Scientific Reports*, *6*.
- Bridgham, S. D., Cadillo-Quiroz, H., Keller, J. K., & Zhuang, Q. (2013). Methane emissions from wetlands: Biogeochemical, microbial, and modeling perspectives from local to global scales. *Global Change Biology*, *19*, 1325–1346.
- Bruns, A. (2014). The environmental impacts of megacities on the coast. In *Megacities and the Coast* (pp. 46–93). Routledge.
- Burke, L., Kura, Y., Kassem, K., Revenga, C., Spalding, M., & Mcallister, D. (2001). *Pilot analysis of global ecosystems: coastal ecosystems*. World Resources Institute.
- Cheng, X., Peng, R., Chen, J., Luo, Y., Zhang, Q., An, S., ... Li, B. (2007). CH₄ and N₂O emissions from *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis* in experimental

- mesocosms. *Chemosphere*, 68, 420–427.
- Chowdhury, T. R., & Dick, R. P. (2013). Ecology of aerobic methanotrophs in controlling methane fluxes from wetlands. *Applied Soil Ecology*, 65, 8–22.
- Conrad, R. (2009). The global methane cycle: Recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, 1, 285–292.
- Costello, A. M., & Lidstrom, M. E. (1999). Molecular characterization of functional and phylogenetic genes from natural populations of methanotrophs in lake sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 5066–5074.
- Craig-Smith, S.J., Tapper, R., Font, X. (2006). *The coastal and marine environment. In Tourism and global environmental change.*
- Daims, H., Lebedeva, E. V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., ... Wagner, M. (2015). Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, 528, 504–509.
- Denman, K. L., Brasseur USA, G., Ramachandran, S., Leite da Silva Dias, P., Wofsy, S. C., Brasseur, G., ... Averyt, K. (2007). Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. In *Climate Change 2007*. Cambridge University Press.
- Dethlefsen, L., Huse, S. M., Sogin, M. L., & Relman, D. A. (2008). Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genetics*, 4.
- Dini-Andreote, F., Brossi, M. J. de L., van Elsas, J. D., & Salles, J. F. (2016). Reconstructing the genetic potential of the microbially-mediated nitrogen cycle in a salt marsh ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- Dong, L. F., Smith, C. J., Papaspyrou, S., Stott, A., Osborn, A. M., & Nedwell, D. B. (2009). Changes in benthic denitrification, nitrate ammonification, and anammox process rates and nitrate and nitrite reductase gene abundances along an estuarine nutrient gradient (the colne estuary, United Kingdom). *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 3171–3179.
- Dugan, J. E., Airoidi, L., Chapman, M. G., Walker, S. J., & Schlacher, T. (2012). Estuarine and coastal structures: Environmental effects, a focus on shore and nearshore structures. *Treatise on Estuarine and Coastal Science*, 8, 17–41.

- Espenberg, M. (2017). *Impact of management on peatland microbiome and greenhouse gas emissions*. University of Tartu.
- Espenberg, M., Truu, M., Mander, Ü., Kasak, K., Nõlvak, H., Ligi, T., ... Truu, J. (2018). Differences in microbial community structure and nitrogen cycling in natural and drained tropical peatland soils. *Scientific Reports*, 8, 1–12.
- Espenberg, M., Truu, M., Truu, J., Maddison, M., Nõlvak, H., Rvi, J., ... Mander, Ü. (2016). Impact of reed canary grass cultivation and mineral fertilisation on the microbial abundance and genetic potential for methane production in residual peat of an abandoned peat extraction area. *PLoS ONE*.
- Ettwig, K. F., Butler, M. K., Le Paslier, D., Pelletier, E., Mangenot, S., Kuypers, M. M. M., ... Strous, M. (2010). Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*, 464, 543–548.
- Ettwig, K. F., Van Alen, T., Van De Pas-Schoonen, K. T., Jetten, M. S. M., & Strous, M. (2009). Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 3656–3662.
- Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D.W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D.C., Myhre, G., Nganga, J., Prinn, R., Raga, G., Schulz, M., & Van Dorland, R. Miller, H. L. (2007). Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. In *Climate change*.
- Ganzert, L., Jurgens, G., Münster, U., & Wagner, D. (2007). Methanogenic communities in permafrost-affected soils of the Laptev Sea coast, Siberian Arctic, characterized by 16S rRNA gene fingerprints. *FEMS Microbiology Ecology*, 59, 476–488.
- Giblin, A. E., Weston, N. B., Banta, G. T., Tucker, J., & Hopkinson, C. S. (2010). The effects of salinity on nitrogen losses from an oligohaline estuarine sediment. *Estuaries and Coasts*, 33, 1054–1068.
- Graf, D. R. H., Jones, C. M., & Hallin, S. (2014). Intergenomic comparisons highlight modularity of the denitrification pathway and underpin the importance of community structure for N₂O emissions. *PLoS ONE*, 9.
- Hallin, S., & Lindgren, E. (1999). PCR Detection of genes encoding nitrite reductase in denitrifying bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1652–1657.

- Hallin, S., Philippot, L., Löffler, F. E., Sanford, R. A., & Jones, C. M. (2018). Genomics and ecology of novel N₂O-reducing microorganisms. *Trends in Microbiology*, *26*, 43–55.
- Hanson, R. S., & Hanson, T. E. (1996). Methanotrophic Bacteria. *Microbiological Reviews*, *60*, 439–471.
- Harhangi, H. R., Le Roy, M., van Alen, T., Hu, B. Ian, Groen, J., Kartal, B., ... Op den Camp, H. J. M. (2012). Hydrazine synthase, a unique phylomarker with which to study the presence and biodiversity of anammox bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*, 752–758.
- Haroon, M. F., Hu, S., Shi, Y., Imelfort, M., Keller, J., Hugenholtz, P., ... Tyson, G. W. (2013). Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature*, *500*, 567–570.
- Haslett, S. K. (2016). River-dominated coastal systems. In *Coastal systems* (pp. 107–130). University of Wales Press.
- He, Y., Guan, W., Xue, D., Liu, L., Peng, C., Liao, B., ... Chen, H. (2019a). Comparison of methane emissions among invasive and native mangrove species in Dongzhaigang, Hainan Island. *Science of the Total Environment*, *697*, 133945.
- He, Z., Wang, J., Hu, J., Yu, H., Jetten, M. S. M., Liu, H., ... Hu, B. (2019b). Regulation of coastal methane sinks by a structured gradient of microbial methane oxidizers. *Environmental Pollution*, *244*, 228–237.
- Henry, S., Bru, D., Stres, B., Hallet, S., & Philippot, L. (2006). Quantitative detection of the *nosZ* gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, *narG*, *nirK*, and *nosZ* genes in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*, 5181–5189.
- Holmes, A. J., Costello, A., Lidstrom, M. E., & Murrell, J. C. (1995). Evidence that particulate methane monooxygenase and ammonia monooxygenase may be evolutionarily related. *FEMS Microbiology Letters*, *132*, 203–208.
- Howarth, R. W. (2008). Coastal nitrogen pollution: A review of sources and trends globally and regionally. *Harmful Algae*, *8*, 14–20.
- Hu, B. -l., Shen, L. -d., Lian, X., Zhu, Q., Liu, S., Huang, Q., ... He, Y. -f. (2014). Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial

- methane sink in wetlands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*, 4495–4500.
- Humbert, S., Zopfi, J., & Tarnawski, S. E. (2012). Abundance of anammox bacteria in different wetland soils. *Environmental Microbiology Reports*, *4*, 484–490.
- In 't Zandt, M. H., de Jong, A. E., Slomp, C. P., & Jetten, M. S. (2018). The hunt for the most-wanted chemolithoautotrophic spookmicrobes. *FEMS Microbiology Ecology*, *94*.
- Jones, C. M., Rh Graf, D., Bru, D., Philippot, L., & Hallin, S. (2013). The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink. *The ISME Journal*, *7*, 417–426.
- Jones, C. M., Spor, A., Brennan, F. P., Breuil, M. C., Bru, D., Lemanceau, P., ... Philippot, L. (2014). Recently identified microbial guild mediates soil N₂O sink capacity. *Nature Climate Change*, *4*, 801–805.
- Jørgensen, C. J., Struwe, S., & Elberling, B. (2012). Temporal trends in N₂O flux dynamics in a Danish wetland - effects of plant-mediated gas transport of N₂O and O₂ following changes in water level and soil mineral-N availability. *Global Change Biology*, *18*, 210–222.
- Juottonen, H., Galand, P. E., & Yrjälä, K. (2006). Detection of methanogenic archaea in peat: comparison of PCR primers targeting the *mcrA* gene. *Research in Microbiology*, *157*, 914–921.
- Jurasinski, G., Ahmad, S., Anadon-Rosell, A., Berendt, J., Beyer, F., Bill, R., ... Wrage-Mönnig, N. (2020). From understanding to sustainable use of peatlands: The WETSCAPES approach. *Soil Systems*, *4*, 14.
- Kallistova, A. Y., Merkel, A. Y., Tarnovetskii, I. Y., & Pimenov, N. V. (2017). Methane formation and oxidation by prokaryotes. *Microbiology (Russian Federation)*, *86*, 671–691.
- Kalyuzhnaya, M. G., Gomez, O. A., & Murrell, J. C. (2019). The methane-oxidizing bacteria (Methanotrophs). In *Taxonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes* (pp. 1–34).
- Kandeler, E., Deiglmayr, K., Tscherko, D., Bru, D., & Philippot, L. (2006). Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions

- of a glacier foreland. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 5957–5962.
- Könneke, M., Bernhard, A. E., De La Torre, J. R., Walker, C. B., Waterbury, J. B., & Stahl, D. A. (2005). Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 437, 543–546.
- Krüger, M., Frenzel, P., Kemnitz, D., & Conrad, R. (2005). Activity, structure and dynamics of the methanogenic archaeal community in a flooded Italian rice field. *FEMS Microbiology Ecology*, 51, 323–331.
- Kuenen J. G. (2008). Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature Reviews Microbiology*, 320–326.
- Lapointe, B. E., Herren, L. W., Debortoli, D. D., & Vogel, M. A. (2015). Evidence of sewage-driven eutrophication and harmful algal blooms in Florida's Indian River Lagoon. *Harmful Algae*, 43, 82–102.
- Le Mer, J., & Roger, P. (2001). Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *European Journal of Soil Biology*, 37, 25–50.
- Li-Dong, S., Qun, Z., Shuai, L., Ping, D., Jiang-Ning, Z., Dong-Qing, C., ... Bao-Lan, H. (2014). Molecular evidence for nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in the Jiaojiang Estuary of the East Sea (China). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 5029–5038.
- Lin, C.-W., Kao, Y.-C., Chou, M.-C., Wu, H.-H., Ho, C.-W., & Lin, H.-J. (2020). Methane emissions from subtropical and tropical mangrove ecosystems in Taiwan. *Forests*, 11, 470.
- Liu, Z., Lozupone, C., Hamady, M., Bushman, F. D., & Knight, R. (2007). Short pyrosequencing reads suffice for accurate microbial community analysis. *Nucleic Acids Research*, 35.
- Lueders, T., Chin, K.-J., Conrad, R., & Friedrich, M. (2001). Molecular analyses of methyl-coenzyme M reductase a-subunit (*mcrA*) genes in rice field soil and enrichment cultures reveal the methanogenic phenotype of a novel archaeal lineage. *Environmental Microbiology*, 3, 194–204.
- Martin, R. M., Wigand, C., Elmstrom, E., Lloret, J., & Valiela, I. (2018). Long-term nutrient addition increases respiration and nitrous oxide emissions in a New England salt marsh.

- Ecology and Evolution*, 8, 4958–4966.
- Montzka, S. A., Dlugokencky, E. J., & Butler, J. H. (2011). Non-CO₂ greenhouse gases and climate change. *Nature*, 476.
- Moseman-Valtierra, S., Gonzalez, R., Kroeger, K. D., Tang, J., Chao, W. C., Crusius, J., ... Shelton, J. (2011). Short-term nitrogen additions can shift a coastal wetland from a sink to a source of N₂O. *Atmospheric Environment*, 45, 4390–4397.
- Mulder, A., Graaf, A. A., Robertson, L. A., & Kuenen, J. G. (1995). Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology*, 16, 177–184.
- Murray, R. H., Erler, D. V., & Eyre, B. D. (2015). Nitrous oxide fluxes in estuarine environments: Response to global change. *Global Change Biology*, 21, 3219–3245.
- National research council. (1994). Priorities for Coastal Ecosystem Science. In *Priorities for Coastal Ecosystem Science*.
- Paerl, H. W., Dennis, R. L., & Whitall, D. R. (2002). *Atmospheric deposition of nitrogen: Implications for nutrient over-enrichment of coastal waters*. 25(4b), 677–693.
- Philippot, L., Andert, J., Jones, C. M., Bru, D., & Hallin, S. (2011). Importance of denitrifiers lacking the genes encoding the nitrous oxide reductase for N₂O emissions from soil. *Global Change Biology*, 17, 1497–1504.
- Pjevac, P., Schauburger, C., Poghosyan, L., Herbold, C. W., van Kessel, M. A. H. J., Daebeler, A., ... Daims, H. (2017). *AmoA*-Targeted Polymerase Chain Reaction Primers for the Specific Detection and Quantification of Comammox Nitrospira in the Environment. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1508.
- Pratolongo, P. D. (2013). The ecology of coastal wetlands. In *Marine Ecology in a Changing World* (pp. 140–164).
- Putkinen, A., Larmola, T., Tuomivirta, T., Siljanen, H. M. P., Bodrossy, L., Tuittila, E. S., & Fritze, H. (2012). Water dispersal of methanotrophic bacteria maintains functional methane oxidation in *Sphagnum* mosses. *Frontiers in Microbiology*, 3.
- Quick, A. M., Reeder, W. J., Farrell, T. B., Tonina, D., Feris, K. P., & Benner, S. G. (2019). Nitrous oxide from streams and rivers: A review of primary biogeochemical pathways

- and environmental variables. *Earth-Science Reviews*, 191, 224–262.
- Raghoebarsing, A. A., Pol, A., Van De Pas-Schoonen, K. T., Smolders, A. J. P., Ettwig, K. F., Rijpstra, W. I. C., ... Strous, M. (2006). A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature*, 440, 918–921.
- Ravishankara, A. R., Daniel, J. S., & Portmann, R. W. (2009). Nitrous oxide (N₂O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science*, 326, 123–125.
- Reading, M. J., Tait, D. R., Maher, D. T., Jeffrey, L. C., Looman, A., Holloway, C., ... Santos, I. R. (2020). Land use drives nitrous oxide dynamics in estuaries on regional and global scales. *Limnology and Oceanography*, 1–18.
- Reddy, K. ., & Delaune, R. D. (2008). *Biogeochemistry of Wetlands: Science and Applications*. Florida: CRC Press, Boca Raton.
- Roff, J. (2013). The Marine Environment: Physico-chemical characteristics structures and processes-enduring and recurrent factors. In *Marine Conservation Ecology* (pp. 43–65). Routledge.
- Rotthauwe, J.-H., Witzel, K.-P., & Liesack, W. (1997). The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4704–4712.
- Schimel, J. P. (1995). Plant transport and methane production as controls on methane flux from arctic wet meadow tundra. *Biogeochemistry*, 28, 183–200.
- Schindler, T., Mander, Ü., Machacova, K., Espenberg, M., Krasnov, D., Escuer-Gatius, J., ... Soosaar, K. (2020). Short-term flooding increases CH₄ and N₂O emissions from trees in a riparian forest soil-stem continuum. *Scientific Reports*, 10, 3204.
- Seitzinger, S. P., Kroeze, C., & Styles, R. V. (2000). Global distribution of N₂O emissions from aquatic systems: Natural emissions and anthropogenic effects. *Chemosphere - Global Change Science*, 2, 267–279.
- Semrau, J. D., Dispirito, A. A., & Yoon, S. (2010). Methanotrophs and copper. *FEMS Microbiology Reviews*, 34, 496–531.

- Shen, L. dong, Wu, H. sheng, & Gao, Z. qiu. (2014). Distribution and environmental significance of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria in natural ecosystems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*, 133–142.
- Song, H., Liu, X., Yu, W., & Wang, L. (2018). Seasonal and spatial variation of nitrogen oxide fluxes from human-disturbance coastal wetland in the Yellow River Estuary. *Wetlands*, *38*, 945–955.
- Stams, A. J. M., & Plugge, C. M. (2010). The Microbiology of Methanogenesis. In *Methane and climate change* (pp. 22–34). Routledge.
- Stocker, T. (2013). *Climate change 2013: the physical science basis: Working Group I contribution to the Fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- Ström, L., Mastepanov, M., & Christensen, T. R. (2005). Species-specific effects of vascular plants on carbon turnover and methane emissions from wetlands. *Biogeochemistry*, *75*, 65–82.
- Takeuchi, J. (2006). Habitat segregation of a functional gene encoding nitrate ammonification in estuarine sediments. *Geomicrobiology Journal*, *23*, 75–87.
- Tejada, M., Garcia, C., Gonzalez, J. L., & Hernandez, M. T. (2006). Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: Influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *38*, 1413–1421.
- Tiedje, J. M. (1988). Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *Biology of Anaerobic Microorganisms*, *717*, 179–244.
- Toimil, A., Losada, I. J., Nicholls, R. J., Dalrymple, R. A., & Stive, M. J. F. (2020). Addressing the challenges of climate change risks and adaptation in coastal areas: A review. *Coastal Engineering*, *156*.
- Tong, C., Cadillo-Quiroz, H., Zeng, Z. H., She, C. X., Yang, P., & Huang, J. F. (2017). Changes of community structure and abundance of methanogens in soils along a freshwater–brackish water gradient in subtropical estuarine marshes. *Geoderma*, *299*, 101–110.
- Tourna, M., Freitag, T. E., Nicol, G. W., & Prosser, J. I. (2008). Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms.

- Environmental Microbiology*, 10, 1357–1364.
- Ueda, T., Suga, Y., Yahiro, N., & Matsuguchi, T. (1995). Remarkable N₂-fixing bacterial diversity detected in rice roots by molecular evolutionary analysis of *nifH* gene sequences. *Journal of Bacteriology*, 177, 2020–50091.
- Van Kessel, M. A. H. J., Speth, D. R., Albertsen, M., Nielsen, P. H., Op Den Camp, H. J. M., Kartal, B., ... Lücker, S. (2015). Complete nitrification by a single microorganism. *Nature*, 528, 555–559.
- Vikas, M., & Dwarakish, G. S. (2015). Coastal Pollution: A review. *Aquatic Procedia*, 4, 381–388.
- Vilmin, L., Mogollón, J. M., Beusen, A. H. W., & Bouwman, A. F. (2018). Forms and subannual variability of nitrogen and phosphorus loading to global river networks over the 20th century. *Global and Planetary Change*, 163, 67–85.
- Vörösmarty, C. J., Leveque, C., Revenga, C., Bos, R., Caudill, C., Chilton, J., ... Reidy, C. A. (2005). Fresh Water. In *Ecosystems and human well-being: Current state and trends* (pp. 795–825). Washington: DC: Island Press.
- Wagner, D., Kobabe, S., Pfeiffer, E. M., & Hubberten, H. W. (2003). Microbial controls on methane fluxes from a polygonal tundra of the Lena Delta, Siberia. *Permafrost and Periglacial Processes*, 14, 173–185.
- Wang, M., Huang, G., Zhao, Z., Dang, C., Liu, W., & Zheng, M. (2018). Newly designed primer pair revealed dominant and diverse comammox *amoA* gene in full-scale wastewater treatment plants. *Bioresource Technology*, 270, 580–587.
- Welsh, A., Chee-Sanford, J. C., Connor, L. M., Löffler, F. E., & Sanford, R. A. (2014). Refined *NrfA* phylogeny improves PCR-based *nrfA* gene detection. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 2110–2119.
- Whalen, S. C. (2005). Biogeochemistry of methane exchange between natural wetlands and the atmosphere. *Environmental Engineering Science*, 22.
- Wrage-Mönnig, N., Horn, M. A., Well, R., Müller, C., Velthof, G., & Oenema, O. (2018). The role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide revisited. *Soil Biology and Biochemistry*, 123, A3–A16.

- Wrage, N., Velthof, G. L., Van Beusichem, M. L., & Oenema, O. (2001). Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biology and Biochemistry*, *33*, 1723–1732.
- Xu, S., Lu, W., Muhammad, F. M., Liu, Y., Guo, H., Meng, R., & Wang, H. (2018). New molecular method to detect denitrifying anaerobic methane oxidation bacteria from different environmental niches. *Journal of Environmental Sciences*, *65*, 367–374.
- Xu, Xiangyu, Zhang, M., Xiong, Y., Yuan, J., Shaaban, M., Zhou, W., & Hu, R. (2020). The influence of soil temperature, methanogens and methanotrophs on methane emissions from cold waterlogged paddy fields. *Journal of Environmental Management*, *264*, 110421.
- Xu, Xinwanghao, Fu, G., Zou, X., Ge, C., & Zhao, Y. (2017). Diurnal variations of carbon dioxide, methane, and nitrous oxide fluxes from invasive *Spartina alterniflora* dominated coastal wetland in northern Jiangsu Province. *Acta Oceanologica Sinica*, *36*, 105–113.
- Yang, B., Li, X., Lin, S., Xie, Z., Yuan, Y., Espenberg, M., ... Mander, Ü. (2020). Invasive *Spartina alterniflora* can mitigate N₂O emission in coastal salt marshes. *Ecological Engineering*, *147*, 105758.
- Yu, C., Hou, L., Zheng, Y., Liu, M., Yin, G., Gao, J., ... Han, P. (2018). Evidence for complete nitrification in enrichment culture of tidal sediments and diversity analysis of clade a comammox *Nitrospira* in natural environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*, 9363–9377.
- Yu, Z., Li, Y., Deng, H., Wang, D., Chen, Z., & Xu, S. (2012). Effect of *Scirpus mariqueter* on nitrous oxide emissions from a subtropical monsoon estuarine wetland. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, *117*.
- Zehr, J. P., Jenkins, B. D., Short, S. M., & Steward, G. F. (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environmental Microbiology*, *5*(7), 539–554.
- Zhang, B., Tian, H., Lu, C., Chen, G., Pan, S., Anderson, C., & Poulter, B. (2017). Methane emissions from global wetlands: An assessment of the uncertainty associated with various wetland extent data sets. *Atmospheric Environment*, *165*, 310–321.

- Zhang, Y., Wang, L., Xie, X., Huang, L., & Wu, Y. (2013). Effects of invasion of *Spartina alterniflora* and exogenous N deposition on N₂O emissions in a coastal salt marsh. *Ecological Engineering*, 58, 77–83.
- Zhu, G., Zhou, L., Wang, Y., Wang, S., Guo, J., Long, X. E., ... Yin, C. (2015). Biogeographical distribution of denitrifying anaerobic methane oxidizing bacteria in Chinese wetland ecosystems. *Environmental Microbiology Reports*, 7, 128–138.
- Zumft, W. G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, 533–616.

Lisad

Lisa 1. Statistiliselt olulised ($p < 0,05$) erinevused setete süsiniku ja lämmastiku parameetrite vahel Eesti ja Hiina rannikualadel ühefaktorilise dispersioonanalüüsiga ($n=21$).

Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Lage mudane ala (Hiina)
Kaisel (Eesti)	TC, TOC		DN, DC, TC	DN, DC, TC	TC	TC
	Roog (Eesti)		TC, TOC	TC, TOC	TC, TOC	TC, TOC
		Lage (Eesti)	TC	TC, TOC	TC, TOC	TC, TOC
			<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)		DN	DN, DC
				Noor <i>Spartina</i> (Hiina)		DC, DOC
					Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	
						Lage mudane ala (Hiina)

Lühendid: DC – lahustunud üldsüsinik (mgC/kg), DN – lahustunud üldlämmastik (mgN/kg), DOC – lahustunud üldorgaaniline süsinik (mgC/kg), TC – üldsüsinik (% C), TOC – üldorgaaniline süsinik (% C).

Lisa 2. Eesti ja Hiina katsealade geeni koopiate arvukuste (arv grammi kuivaine kohta (koopiat/gKA)) keskväärtused (n=3) ja standardhälbed.

Tunnus	Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Lage mudane ala (Hiina)
Bakterite 16S rRNA	$1,10 \times 10^{10} \pm 2,65 \times 10^9$	$3,62 \times 10^{10} \pm 1,08 \times 10^{10}$	$2,89 \times 10^{10} \pm 9,86 \times 10^9$	$3,20 \times 10^{10} \pm 4,66 \times 10^9$	$1,41 \times 10^{10} \pm 6,80 \times 10^9$	$7,21 \times 10^9 \pm 1,84 \times 10^9$	$1,92 \times 10^9 \pm 1,29 \times 10^9$
Arhede 16S rRNA	$3,88 \times 10^8 \pm 1,21 \times 10^8$	$1,86 \times 10^9 \pm 6,28 \times 10^8$	$9,86 \times 10^8 \pm 6,71 \times 10^8$	$2,10 \times 10^9 \pm 5,24 \times 10^8$	$9,97 \times 10^8 \pm 8,67 \times 10^8$	$7,97 \times 10^8 \pm 2,65 \times 10^8$	$4,46 \times 10^8 \pm 2,89 \times 10^8$
<i>nirK</i>	$1,08 \times 10^9 \pm 1,75 \times 10^8$	$4,65 \times 10^9 \pm 1,06 \times 10^9$	$2,71 \times 10^9 \pm 7,19 \times 10^8$	$6,45 \times 10^8 \pm 6,87 \times 10^7$	$3,11 \times 10^8 \pm 1,29 \times 10^8$	$1,49 \times 10^8 \pm 1,10 \times 10^7$	$5,46 \times 10^7 \pm 2,42 \times 10^7$
<i>nirS</i>	$1,62 \times 10^8 \pm 3,77 \times 10^7$	$4,59 \times 10^8 \pm 8,89 \times 10^7$	$3,61 \times 10^8 \pm 4,42 \times 10^7$	$2,87 \times 10^8 \pm 1,10 \times 10^8$	$1,16 \times 10^8 \pm 7,28 \times 10^7$	$5,87 \times 10^7 \pm 3,79 \times 10^6$	$1,90 \times 10^7 \pm 7,47 \times 10^6$
<i>nosZI</i>	$1,80 \times 10^7 \pm 3,43 \times 10^6$	$3,90 \times 10^7 \pm 8,79 \times 10^6$	$3,94 \times 10^7 \pm 1,09 \times 10^7$	$1,09 \times 10^8 \pm 3,43 \times 10^7$	$4,88 \times 10^7 \pm 1,51 \times 10^7$	$2,06 \times 10^7 \pm 4,14 \times 10^6$	$4,86 \times 10^6 \pm 2,04 \times 10^6$
<i>nosZII</i>	$8,49 \times 10^7 \pm 1,27 \times 10^7$	$3,38 \times 10^8 \pm 8,26 \times 10^7$	$1,95 \times 10^8 \pm 7,08 \times 10^7$	$2,24 \times 10^8 \pm 3,28 \times 10^7$	$1,59 \times 10^8 \pm 1,49 \times 10^8$	$8,43 \times 10^7 \pm 3,95 \times 10^6$	$3,65 \times 10^7 \pm 1,50 \times 10^7$
Bakterite <i>amoA</i>	$1,14 \times 10^5 \pm 4,01 \times 10^4$	$2,74 \times 10^5 \pm 1,36 \times 10^5$	$2,18 \times 10^4 \pm 1,30 \times 10^4$	$4,14 \times 10^6 \pm 2,84 \times 10^6$	$1,72 \times 10^6 \pm 8,93 \times 10^5$	$6,60 \times 10^5 \pm 8,03 \times 10^4$	$3,05 \times 10^5 \pm 9,01 \times 10^4$
Arhede <i>amoA</i>	$1,55 \times 10^5 \pm 1,81 \times 10^5$	$1,78 \times 10^7 \pm 1,53 \times 10^6$	$2,51 \times 10^6 \pm 1,63 \times 10^6$	$7,42 \times 10^6 \pm 1,27 \times 10^6$	$1,89 \times 10^6 \pm 1,65 \times 10^6$	$2,23 \times 10^6 \pm 2,44 \times 10^5$	$9,67 \times 10^5 \pm 4,05 \times 10^5$
ANAMMOX	0	0	0	$2,28 \times 10^4 \pm 2,29 \times 10^3$	$1,14 \times 10^4 \pm 8,08 \times 10^3$	$2,08 \times 10^4 \pm 6,58 \times 10^3$	$1,93 \times 10^4 \pm 6,57 \times 10^3$
COMAMMOX	$3,96 \times 10^4 \pm 6,87 \times 10^4$	0	0	$3,44 \times 10^5 \pm 1,85 \times 10^5$	$4,25 \times 10^4 \pm 5,73 \times 10^4$	$2,24 \times 10^4 \pm 9,92 \times 10^3$	$1,87 \times 10^4 \pm 9,06 \times 10^3$
<i>nrfA</i>	$1,40 \times 10^4 \pm 2,76 \times 10^3$	0	$3,26 \times 10^4 \pm 5,65 \times 10^4$	$8,59 \times 10^4 \pm 1,63 \times 10^4$	$1,07 \times 10^5 \pm 7,21 \times 10^4$	$4,14 \times 10^4 \pm 1,63 \times 10^4$	$3,21 \times 10^3 \pm 1,30 \times 10^3$
<i>nifH</i>	$9,29 \times 10^8 \pm 1,62 \times 10^8$	$2,20 \times 10^9 \pm 7,15 \times 10^8$	$3,45 \times 10^9 \pm 1,73 \times 10^9$	$2,46 \times 10^9 \pm 1,88 \times 10^8$	$1,90 \times 10^9 \pm 7,39 \times 10^8$	$6,09 \times 10^8 \pm 4,22 \times 10^8$	$8,22 \times 10^7 \pm 3,07 \times 10^7$
n-damo spetsiifiline 16S rRNA	$1,85 \times 10^5 \pm 5,74 \times 10^4$	$1,48 \times 10^6 \pm 7,04 \times 10^5$	$5,77 \times 10^5 \pm 1,75 \times 10^5$	$7,88 \times 10^5 \pm 4,30 \times 10^5$	$2,34 \times 10^5 \pm 1,56 \times 10^5$	$1,21 \times 10^5 \pm 4,75 \times 10^4$	$1,06 \times 10^5 \pm 7,61 \times 10^4$
<i>mcrA</i>	0	0	$2,78 \times 10^7 \pm 6,19 \times 10^6$	$1,65 \times 10^5 \pm 9,47 \times 10^4$	$5,25 \times 10^4 \pm 2,91 \times 10^4$	$3,84 \times 10^4 \pm 1,35 \times 10^4$	$2,62 \times 10^4 \pm 1,41 \times 10^4$
<i>pmoA</i>	$5,18 \times 10^5 \pm 2,30 \times 10^4$	$6,91 \times 10^5 \pm 1,53 \times 10^5$	$6,55 \times 10^5 \pm 1,76 \times 10^5$	$3,23 \times 10^6 \pm 6,95 \times 10^5$	$2,35 \times 10^6 \pm 1,03 \times 10^6$	$2,47 \times 10^6 \pm 1,14 \times 10^6$	$1,41 \times 10^5 \pm 1,13 \times 10^5$

Lühendid: ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA.

Lisa 3. Eesti ja Hiina katsealade keskväärtused (n=3) ja standardhälbed geenikoopiate osakaaludest prokarüootidest (%).

Tunnus	Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Lage mudane ala (Hiina)
<i>nirK</i>	$9,66 \times 10^{-2} \pm 1,24 \times 10^{-2}$	$1,24 \times 10^{-1} \pm 1,00 \times 10^{-2}$	$9,32 \times 10^{-2} \pm 1,23 \times 10^{-2}$	$1,90 \times 10^{-2} \pm 1,73 \times 10^{-3}$	$2,11 \times 10^{-2} \pm 1,75 \times 10^{-3}$	$1,95 \times 10^{-2} \pm 4,79 \times 10^{-3}$	$2,67 \times 10^{-2} \pm 9,49 \times 10^{-3}$
<i>nirS</i>	$1,42 \times 10^{-2} \pm 1,22 \times 10^{-3}$	$1,24 \times 10^{-2} \pm 2,00 \times 10^{-3}$	$1,31 \times 10^{-2} \pm 5,00 \times 10^{-3}$	$8,29 \times 10^{-3} \pm 2,09 \times 10^{-3}$	$7,42 \times 10^{-3} \pm 1,76 \times 10^{-3}$	$7,58 \times 10^{-3} \pm 1,48 \times 10^{-3}$	$9,30 \times 10^{-3} \pm 2,99 \times 10^{-3}$
<i>nosZI</i>	$1,63 \times 10^{-3} \pm 3,66 \times 10^{-4}$	$1,05 \times 10^{-3} \pm 1,23 \times 10^{-4}$	$1,36 \times 10^{-3} \pm 2,80 \times 10^{-4}$	$3,14 \times 10^{-3} \pm 4,98 \times 10^{-4}$	$3,42 \times 10^{-3} \pm 5,65 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^{-3} \pm 9,03 \times 10^{-4}$	$2,43 \times 10^{-3} \pm 9,93 \times 10^{-4}$
<i>nosZII</i>	$7,58 \times 10^{-3} \pm 7,87 \times 10^{-4}$	$9,04 \times 10^{-3} \pm 1,20 \times 10^{-3}$	$7,22 \times 10^{-3} \pm 3,81 \times 10^{-3}$	$6,60 \times 10^{-3} \pm 5,16 \times 10^{-4}$	$9,25 \times 10^{-3} \pm 4,81 \times 10^{-3}$	$1,09 \times 10^{-2} \pm 2,08 \times 10^{-3}$	$1,84 \times 10^{-2} \pm 8,00 \times 10^{-3}$
Bakterite <i>amoA</i>	$1,05 \times 10^{-5} \pm 4,95 \times 10^{-6}$	$6,94 \times 10^{-6} \pm 1,95 \times 10^{-6}$	$6,77 \times 10^{-7} \pm 2,44 \times 10^{-7}$	$1,16 \times 10^{-4} \pm 6,16 \times 10^{-5}$	$1,18 \times 10^{-4} \pm 5,82 \times 10^{-5}$	$8,45 \times 10^{-5} \pm 1,33 \times 10^{-5}$	$1,59 \times 10^{-4} \pm 7,36 \times 10^{-5}$
Arhede <i>amoA</i>	$1,19 \times 10^{-5} \pm 1,27 \times 10^{-5}$	$5,12 \times 10^{-4} \pm 2,28 \times 10^{-4}$	$1,05 \times 10^{-4} \pm 1,01 \times 10^{-4}$	$2,17 \times 10^{-4} \pm 1,34 \times 10^{-5}$	$1,15 \times 10^{-4} \pm 7,29 \times 10^{-5}$	$2,86 \times 10^{-4} \pm 3,91 \times 10^{-5}$	$4,81 \times 10^{-4} \pm 1,94 \times 10^{-4}$
ANAMMOX	0	0	0	$6,78 \times 10^{-7} \pm 1,09 \times 10^{-7}$	$7,46 \times 10^{-7} \pm 4,57 \times 10^{-7}$	$2,75 \times 10^{-6} \pm 1,21 \times 10^{-6}$	$1,19 \times 10^{-5} \pm 1,08 \times 10^{-5}$
COMAMMOX	$2,90 \times 10^{-6} \pm 5,02 \times 10^{-6}$	0	0	$1,03 \times 10^{-5} \pm 6,34 \times 10^{-6}$	$2,14 \times 10^{-6} \pm 2,26 \times 10^{-6}$	$3,04 \times 10^{-6} \pm 1,84 \times 10^{-6}$	$9,16 \times 10^{-6} \pm 3,63 \times 10^{-6}$
<i>nrfA</i>	$1,24 \times 10^{-6} \pm 1,31 \times 10^{-7}$	0	$9,45 \times 10^{-7} \pm 1,64 \times 10^{-6}$	$2,52 \times 10^{-6} \pm 3,55 \times 10^{-7}$	$9,22 \times 10^{-6} \pm 7,42 \times 10^{-6}$	$5,08 \times 10^{-6} \pm 8,27 \times 10^{-7}$	$1,58 \times 10^{-6} \pm 5,61 \times 10^{-7}$
<i>nifH</i>	$8,26 \times 10^{-2} \pm 6,21 \times 10^{-3}$	$5,73 \times 10^{-2} \pm 2,65 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-1} \pm 2,54 \times 10^{-2}$	$7,38 \times 10^{-2} \pm 1,61 \times 10^{-2}$	$1,30 \times 10^{-1} \pm 1,33 \times 10^{-2}$	$7,08 \times 10^{-2} \pm 2,98 \times 10^{-2}$	$4,31 \times 10^{-2} \pm 2,33 \times 10^{-2}$
n-damo spetsiifiline 16S rRNA	$1,76 \times 10^{-5} \pm 8,43 \times 10^{-6}$	$3,84 \times 10^{-5} \pm 1,14 \times 10^{-5}$	$2,09 \times 10^{-5} \pm 8,65 \times 10^{-6}$	$2,24 \times 10^{-5} \pm 9,21 \times 10^{-6}$	$1,50 \times 10^{-5} \pm 6,35 \times 10^{-6}$	$1,52 \times 10^{-5} \pm 5,51 \times 10^{-6}$	$5,81 \times 10^{-5} \pm 3,88 \times 10^{-5}$
<i>mcrA</i>	0	0	$9,64 \times 10^{-4} \pm 1,54 \times 10^{-4}$	$4,71 \times 10^{-6} \pm 2,14 \times 10^{-6}$	$4,42 \times 10^{-6} \pm 3,24 \times 10^{-6}$	$5,09 \times 10^{-6} \pm 2,56 \times 10^{-6}$	$1,43 \times 10^{-5} \pm 8,19 \times 10^{-6}$
<i>pmoA</i>	$4,79 \times 10^{-5} \pm 1,50 \times 10^{-5}$	$1,97 \times 10^{-5} \pm 8,76 \times 10^{-6}$	$2,54 \times 10^{-5} \pm 1,61 \times 10^{-5}$	$9,77 \times 10^{-5} \pm 3,15 \times 10^{-5}$	$1,62 \times 10^{-4} \pm 5,94 \times 10^{-5}$	$3,08 \times 10^{-4} \pm 1,34 \times 10^{-4}$	$5,60 \times 10^{-5} \pm 4,72 \times 10^{-5}$

Lühendid: ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA.

Lisa 4. Statistiliselt olulised ($p < 0,05$) erinevused geeniparameetrite väärtustes katsealade vahel ühefaktorilise dispersioonanalüüsiga (ANOVA) ($n=21$). Sinised kastid tähistavad erinevusi katsealade geeni koopiade arvukustes ning kollased kastid tähistavad erinevusi katsealade geenikoopiade osakaaludes prokarüootidest.

Kaisel (Eesti)	Roog (Eesti)	Lage (Eesti)	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Lage mudane ala (Hiina)
Kaisel (Eesti)	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZII</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>nrfA</i> , <i>ndamo</i>	<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>mcrA</i>	Arh, <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>ANAMMOX</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>ANAMMOX</i>	<i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>mcrA</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>nifH</i> , <i>mcrA</i>
<i>ArhamoA</i>	Roog (Eesti)	<i>BakamoA</i> , <i>mcrA</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>mcrA</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nrfA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i>	<i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nrfA</i> , <i>BakamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>ndamo</i> , <i>ANAMMOX</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZII</i> , <i>nrfA</i> , <i>nifH</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i> , <i>ndamo</i> , <i>mcrA</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>nosZII</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i> , <i>nrfA</i> , <i>ndamo</i> , <i>mcrA</i> , <i>pmoA</i>
<i>mcrA</i>	<i>ArhamoA</i> , <i>mcrA</i>	Lage (Eesti)	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i> , <i>nrfA</i> , <i>mcrA</i>	<i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>nrfA</i> , <i>mcrA</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i> , <i>nifH</i> , <i>ndamo</i> , <i>mcrA</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>nosZII</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>ndamo</i> , <i>COMAMMOX</i> , <i>mcrA</i> , <i>pmoA</i>
<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>COMAMMOX</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>COMAMMOX</i>	<i>Spartina</i> ja <i>Scirpus</i> (Hiina)	<i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>mcrA</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>ndamo</i> , <i>mcrA</i>	Bak, Arh, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>nosZII</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>ndamo</i> , <i>mcrA</i> , <i>pmoA</i>
<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>nrfA</i> , <i>nifH</i> , <i>pmoA</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nrfA</i> , <i>mcrA</i> , <i>pmoA</i>		Noor <i>Spartina</i> (Hiina)	<i>nosZI</i> , <i>nifH</i>	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>pmoA</i>
<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>pmoA</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZI</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nrfA</i> , <i>pmoA</i>	<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>pmoA</i>	<i>pmoA</i>	<i>nifH</i>	Vana <i>Spartina</i> (Hiina)	Bak, <i>nirK</i> , <i>nirS</i> , <i>nosZI</i> , <i>nifH</i> , <i>pmoA</i>
<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>mcrA</i>	<i>nirK</i> , <i>BakamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i>	<i>nirK</i> , <i>nosZII</i> , <i>BakamoA</i> , <i>nifH</i> , <i>ArhamoA</i> , <i>mcrA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>COMAMMOX</i>	<i>nosZII</i> , <i>ANAMMOX</i>	<i>ArhamoA</i> , <i>ANAMMOX</i> , <i>nifH</i>	<i>pmoA</i>	Lage mudane ala (Hiina)

Lühendid: Bak – bakterite 16S rRNA, Arh – arhede 16S rRNA, *BakamoA* – bakterite *amoA*, *ArhamoA* – arhede *amoA*, *ANAMMOX* – *ANAMMOX* spetsiifiline 16S rRNA, *COMAMMOX* – *COMAMMOX*-i spetsiifiline 16S rRNA, *ndamo* – *n-damo* spetsiifiline 16S rRNA.

Lisa 5. Statistiliselt olulised (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$) Spearmani korrelatsioonikoefitsendid uurimisalade geenikoopiate arvukuste ning osakaalude vahel (n=21). Sinised kastid tähistavad seoseid katsealade geeni koopiate arvukustes ning kollased kastid tähistavad seoseid katsealade geenikoopiate osakaaludes prokarüootidest.

Tunnus	Bak 16S rRNA	Arh 16S rRNA	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZI</i>	<i>nosZII</i>	Bak <i>amoA</i>	Arh <i>amoA</i>	ANAM MOX	COMA MMOX	<i>nrfA</i>	<i>nifH</i>	n-damo	<i>mcrA</i>	<i>pmoA</i>
Bakterite 16S rRNA	1,00	0,7***	0,84***	0,96***	0,81***	0,91***		0,64**				0,89***	0,89***		
Arhede 16S rRNA		1,00		0,69***	0,74***	0,83***		0,88***				0,64**	0,64**		0,53*
<i>nirK</i>			1,00	0,91***	0,46*	0,76***			-0,75***	-0,49*		0,67***	0,78***		
<i>nirS</i>			0,81***	1,00	0,70***	0,93***		0,68***	-0,47*			0,80***	0,91***		
<i>nosZI</i>			-0,65**	-0,48*	1,00	0,76***	0,46*	0,61**				0,86***	0,72***	0,45*	0,65**
<i>nosZII</i>						1,00		0,78***				0,82***	0,82***		
Bakterite <i>amoA</i>			-0,65**	-0,46*	0,74***	0,44*	1,00		0,71***	0,73***	0,60**				0,69***
Arhede <i>amoA</i>						0,60**		1,00				0,51*	0,69***		0,44*
ANAMMOX			-0,68***	-0,59**	0,61**	0,60**	0,85***	0,45*	1,00	0,72***					
COMAMMOX			-0,63**		0,47*		0,78***		0,68***	1,00	0,49*				0,44*
<i>nrfA</i>			-0,69***	-0,68***	0,74***		0,51*		0,53*		1,00				0,52*
<i>nifH</i>						-0,48*		-0,71***				1,00	0,75***		
n-damo spetsiifiline 16S rRNA				0,45*				0,50*			-0,47*		1,00		
<i>mcrA</i>														1,00	
<i>pmoA</i>			-0,68***	-0,65**	0,68***		0,46*		0,53*		0,73***				1,00

Lühendid: Bak – bakterite 16S rRNA, Arh – arhede 16S rRNA, Bak*amoA* – bakterite *amoA*, Arh*amoA* – arhede *amoA*, ANAMMOX – ANAMMOX spetsiifiline 16S rRNA, COMAMMOX – COMAMMOX-i spetsiifiline 16S rRNA, ndamo – n-damo spetsiifiline 16S rRNA.

Lisa 6. Statistiliselt olulised (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$) Spearmani korrelatsioonikoefitsendid uurimisalade geenikoopiate arvude ning vee, mulla ja taimede füüsikalise-keemiliste parameetrite vahel.

Tunnus	Bakterite 16S rRNA	Arhede 16S rRNA	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZI</i>	<i>nosZII</i>	<i>Bak amoA</i>	<i>Arh amoA</i>	ANAM MOX	CO MAM MOX	<i>nrfA</i>	<i>nifH</i>	n-damo	<i>mcrA</i>	<i>pmoA</i>
DN (mgN/kg) (n=21)	0,70***	0,63**		0,60**	0,86***	0,64**	0,48*	0,60**				0,77***	0,63**		0,56**
DC (mgC/kg) (n=21)	0,50*	0,44*			0,71***		0,57**				0,59**	0,57**			0,60**
DOC (mgC/kg) (n=21)	0,57**				0,66**	0,46*					0,49*	0,61**			
TC (%C) (n=21)	0,81***		0,97***	0,85***		0,71***			-0,73***			0,62**	0,69***		
TOC (%C) (n=21)	0,81***	0,49*	0,83***	0,84***		0,72***		0,60**	-0,53*			0,62**	0,74***		
Sette pH (n=9)	-0,87**	-0,78*	-0,90***	-0,83**	-0,70*	-0,87**		-0,82**					-0,88**		
NO ₃ ⁻ (mg/kg) (n=21)	-0,53*		-0,84***	-0,65**		-0,47*	0,62**		0,77***	0,53*			-0,48*		
NH ₄ ⁺ (mg/kg) (n=21)		0,46*						0,55**	0,45*						
P (mg/kg) (n=9)	0,80**		0,78*	0,70*		0,77*		0,75*					0,72*		
K (mg/kg) (n=9)	0,78*		0,73*	0,68*		0,75*		0,70*					0,68*		
Ca (mg/kg) (n=9)		0,77*	0,67*	0,67*		0,72*	0,80**								
Mg (mg/kg) (n=9)	0,85**	0,77*	0,88**	0,82**		0,87**		0,87**					0,85**		
Org.aine (%) (n=9)	0,85**	0,77*	0,88**	0,82**		0,87**		0,87**					0,85**		
N (%) (n=9)	0,85**	0,77*	0,88**	0,82**		0,87**		0,87**					0,85**		
Maapealne biomass (kg/m ²) (n=9)							0,97***							-0,82**	
Maa-alune biomass (kg/m ²) (n=9)							0,92***							-0,82**	
Juured N (%) (n=9)							0,90***							-0,82**	
Juured P (%) (n=9)							0,86**							-0,82**	
Vee soolsus (‰) (n=12)	-0,78**		-0,78**	-0,69*	-0,78**		-0,76**				-0,60*	-0,71**	-0,73**	-0,60*	
Sette soolsus (‰) (n=12)								0,71**		0,60*					
TN (g/kg) (n=12)	0,78**	0,67*	0,78**	0,82**	0,78**	0,69*	0,73**	0,84***		0,69*		0,65*	0,67*	0,71**	0,76**
TC/TN (n=12)	-0,78**	-0,67*	-0,78**	-0,82**	-0,78**	-0,69*	-0,73**	-0,84***		-0,69*		-0,65*	-0,67*	-0,71**	-0,76**
Veetase (cm) (n=21)		-0,44*					-0,49*	-0,68***							
Mulla temperatuur 5 cm sügavusel (°C) (n=21)			-0,53*				0,76***		0,58**	0,65**	0,83**	*			0,64**

Lühendid: DC – lahustunud üldsüsinik (mgC/kg), DN – lahustunud üldlämmastik (mgN/kg), DOC – lahustunud üldorgaaniline süsinik (mgC/kg), TC – üldsüsinik (% C), TOC – üldorgaaniline süsinik (% C), NO₃⁻ (mg/kg) – nitraatlämmastik, NH₄⁺ (mg/kg) – ammonium, P – fosfor, K – kaalium, Mg – magneesium, org.aine (%) – orgaaniline aine, N (%) – lämmastik.

Lisa 7. Statistiliselt olulised (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$) Spearmani korrelatsioonikoefitsendid uurimisalade geenikoopiate osakaalude ning vee, mulla ja taimede füüsikalise-keemiliste parameetrite vahel.

Tunnus	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZI</i>	<i>nosZII</i>	Bakterite <i>amoA</i>	Arhede <i>amoA</i>	ANAM MOX	COMAM MOX	<i>nrfA</i>	<i>nifH</i>	n-damo	<i>mcrA</i>	<i>pmoA</i>
DN (mgN/kg) (n=21)				-0,46*									
DC (mgC/kg) (n=21)		-0,54*		-0,47*					0,43*				
DOC (mgC/kg) (n=21)				-0,55**									
TC (%C) (n=21)	0,67***	0,56**	-0,67***	-0,55*	-0,77***		-0,94***	-0,56**	-0,58**				-0,64**
TOC (%C) (n=21)	0,53*		-0,68***		-0,65**		-0,71***		-0,57**				-0,68***
Sette pH (n=9)			0,83**			-0,75*							0,75*
NO ₃ (mg/kg) (n=21)	-0,71***	-0,62**	0,71***		0,87***		0,87***	0,66**	0,51*				0,47*
NH ₄ (mg/kg) (n=21)						0,52*							
P (mg/kg) (n=9)			-0,92***			0,70*							-0,75*
K (mg/kg) (n=9)			-0,87**										-0,70*
Mg (mg/kg) (n=9)			-0,88**			0,82**							-0,73*
Org.aine (%) (n=9)			-0,88**			0,82**							-0,73*
N (%) (n=9)			-0,88**			0,82**							-0,73*
Maapealne biomass (kg/m ²) (n=9)										-0,83**		-0,82**	
Maa-alune biomass (kg/m ²) (n=9)										-0,88**		-0,82**	
Juured N (%) (n=9)										-0,81**		-0,82**	
Juured P (%) (n=9)	0,68*									-0,85**		-0,82**	
Vee soolsus (‰) (n=12)						0,58*	0,71**						
NO ₂ ⁻ (umol/L) (n=12)								0,65*					-0,78**
TN (g/kg) (n=12)				-0,71**			-0,65*						
TC/TN (n=12)				0,71**			0,65*						
Veetase (cm) (n=21)						-0,79***							
Mulla temperatuur 5 cm sügavusel (°C) (n=21)	-0,75***	-0,61**	0,85***		0,59**				0,77***		-0,48*		0,80***

Lühendid: DC – lahustunud üldsüsinik (mgC/kg), DN – lahustunud üldlämmastik (mgN/kg), DOC – lahustunud üldorgaaniline süsinik (mgC/kg), TC – üldsüsinik (% C), TOC – üldorgaaniline süsinik (% C), NO₃ (mg/kg) – nitraatlämmastik, NH₄ (mg/kg) – ammoonium, P – fosfor, K – kaalium, Mg – magneesium, org.aine(%) – orgaaniline aine, N (%) – lämmastik, NO₃⁻ – nitraatlämmastik, NO₂⁻ – nitritlämmastik.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kristin Pille,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Erinevate taimeliikide mõju mikrobioloogilisele metaani- ja lämmastikuringele ning CH₄ ja N₂O emissioonidele riimveest mõjutatud rannikul“,

mille juhendajad on Mikk Espenberg ja Ülo Mander,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Kristin Pille

01.06.2020