



**VILNIAUS UNIVERSITETAS
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS**

TEODORA PLEPYTĖ

Mikrobiologijos studijų programa

Magistro baigiamasis darbas

GRYBŲ SPORŲ TAKSONOMINĖ ĮVAIROVĖ AŽUOLYNUOSE

Darbo vadovas:
dr. Vaidotas Lygis

Vilnius, 2024

TURINYS

SANTRUMPOS	4
ĮVADAS	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA	7
1.1. Paprastojo ažuolo paplitimas Lietuvoje ir Europoje, rūšies biologinė ir ekologinė reikšmė	7
1.2. Mikologiniai tyrimai pasaulyje ir Lietuvoje.....	10
1.3. Grybų taksonominė klasifikacija.....	12
1.4. Grybų funkcinės ir trofinės grupės, jų vaidmuo miško ekosistemose.....	15
1.5. Klimato (meteorologinių sąlygų) poveikis miško ekosistemų funkcionavimui ir biologinei įvairovei.....	20
1.6. Grybų bendrijų tyrimai ažuolynuose.....	22
1.7. Lietuvos Raudonosios knygos grybų rūšys, susijusios su ažuolu	23
1.8. Invaziniai grybai, jų grėsmė vietinei grybų įvairovei ir ažuolynų ekosistemų sveikatai ...	32
1.9. Grybų sporos ir jų tyrimo metodai	34
1.10. Miško ekosistemose sutinkamų grybų sporų įvairovės tyrimai pasaulyje	36
2. TYRINĖTŲ VIETŲVIŲ APRAŠYMAS	39
3. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODAI	42
3.1. Pavyzdžių surinkimas.....	42
3.2. Molekuliniai tyrimai.....	43
3.2.1. Mėginių paruošimas, genominės DNR išskyrimas	43
3.2.2. DNR gausinimas PGR metodu.....	44
3.3. Bioinformatinė analizė	45
3.4. Grybų taksonų identifikavimas ir priskyrimas trofinėms grupėms.....	45
3.5. Statistinė duomenų analizė.....	47
4. REZULTATAI	49
4.1. Grybų taksonominė įvairovė ir santykinis gausumas tirtuose medynuose	49

4.2. Grybų bendrijų skirtumai tirtuose medynuose	65
4.3. Grybų taksonominės įvairovės ir santykinio sporų gausumo dinamika laiko gradiente ir priklausomybė nuo meteorologinių sąlygų	68
4.4. Grybų taksonų pasiskirstymas pagal trofines grupes tirtuose medynuose	79
4.5. Lietuvos Raudonosios knygos, invazinių bei Europos Sąjungoje (ES) karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių paplitimo dažnis.....	81
5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	82
IŠVADOS	90
SANTRAUKA.....	92
SUMMARY.....	94
PADĖKA	96
LITERATŪRA	97
PRIEDAI	108

SANTRUMPOS

bp – bazių pora

CTAB – heksadeciltrimetilamonio bromidas

DNR – deoksiribonukleorūgštis

EPPO – Europos ir Viduržemio jūros šalių augalų apsaugos organizacija (angl. *European and Mediterranean Plant Protection Organization*)

ES – Europos sąjunga

H - Shannon'o rūšių (taksonų) įvairovės duotoje organizmų bendrijoje indeksas

ITS – vidinis transkribuotas tarpiklis

J - Pielou rūšių (taksonų) išsidėstymo tolygumo duotoje organizmų bendrijoje indeksas

NGS – naujos kartos sekoskaita (angl. *Next-Generation Sequencing*)

NMDS – nemetrinė daugiamatė duomenų analizė

OTV – operatyvinis taksonominis vienetas

PGR – polimerazės grandininė reakcija

rDNR – ribosominė deoksiribonukleorūgštis

RK – Raudonoji knyga

SIn - kiekybinis Sorensen'o organizmų bendrijų porų tarpusavio panašumo indeksas

SIq - kokybinis Sorensen'o organizmų bendrijų porų tarpusavio panašumo indeksas

ĮVADAS

Ažuolynai – tiek Lietuvai, tiek Europai svarbios miškų ekosistemos. Siekiant svarbias ekosistemas išsaugoti būtina jose pažinti ir įvertinti bioįvairovę. Yra žinoma, jog paprastasis ažuolas (*Quercus robur* L.) gyvena apie 500-600 metų, kartais ir ilgiau (Navasaitis ir kt., 2003; Eaton *et al.*, 2016), tad per ilgą gyvavimo periodą įvairiose antžeminėse bei požeminėse ažuolo dalyse susiformuoja palankios sąlygos įvairioms organizmų buveinėms, kurių gausa kartu su medžių amžiumi didėja (Marčiulynas *et al.*, 2024).

Išskirtinai tik su paprastuoju ažuolu bei jam artimai giminingu bekočiu ažuolu (*Q. petraea* L.) obligatiniais ryšiais yra siejama apie 330 įvairių organizmų rūšių, tarp kurių 57 grybų rūšys (Mitchell *et al.*, 2019). Į Lietuvos Raudonąją knygą įtraukta 117 grybų rūšių (Rašomavičius, 2021), todėl svarbu stebėti retųjų/nykstančių rūšių populiacijų būklę. Be to, vietinėms ekosistemoms grasina invazinės, karantininės mikroorganizmų (įskaitant grybus) rūšys, tad būtina stebėti ir jų atsiradimą bei plitimą.

Lietuvos Valstybinių miškų tarnybos duomenimis, ažuolynai Lietuvoje šiuo metu užima apie 50 tūkst. hektarų plotą, o tai sudaro 2,3 % viso šalies miško žemės ploto. Deja, pastarųjų dešimtmečių neigiami aplinkos pokyčiai ir nuolatos didėjantis antropogeninis spaudimas neigiamai paveikė ažuolynų būklę. Dėl intensyvios miškininkystės, urbanizacijos ir klimato kaitos mažėja senųjų ažuolų skaičius, o su jais obligatiniais ryšiais susijusios rūšys taip pat patiria spaudimą. Dėl šių priežasčių yra svarbu ne tik tęsti ažuolų apsaugos ir atkūrimo programas, bet ir plėtoti mokslinius tyrimus, kurie padėtų geriau suprasti šių ekosistemų funkcionavimą ir padidintų jų atsparumą aplinkos pokyčiams.

Anksčiau grybų įvairovė ir jų bendrijos buvo tiriama tradiciniais, daug pastangų reikalaujantys metodais (grybų vaisiakūnių paieška, grybų išskyrimas į grynąsias kultūras, identifikavimas pagal morfologinius požymius, mikroskopavimas), ne visada per trumpą laiką leidusiais pasiekti norimų rezultatų ar išsamiai ištirti bendrijų kokybinę bei kiekybinę sudėtį. Grybų identifikavimui sukūrus ir pritaikius tokius metodus kaip naujos kartos DNR sekoskaita ir metagenomika, situacija iš esmės pasikeitė (Adnan *et al.*, 2022).

Teigiama, jog siekiant visapusiškai ištirti grybų įvairovę tam tikroje aplinkoje, mėginių rinkimas sporų gaudyklėmis turi ženklų pranašumą prieš grybų išskyrimą iš kolonizuotų substratų į mitybines terpes arba jų vaisiakūnių skaičiavimą, kadangi sporų gaudyklės leidžia tam tikru pasirinktu laiko momentu (arba laikotarpiu) įvertinti toje aplinkoje plintančių grybų rūšių įvairovę ir jų gausumą plačiausiu mastu (Aguayo *et al.*, 2018). Iš oro filtrų mėginių paimtų grybų sporų metagenominius tyrimus vieni pirmųjų atliko Fröhlich-Nowoisky ir kt. (2009) ir šis tyrimas parodė, kad grybų rūšių įvairovė ore yra daug didesnė, nei buvo manyta anksčiau, bei yra panaši į dirvožemio ar augalų mikrobiotą. Atlikus literatūros analizę grybų sporų įvairovės aplinkoje (daugiausia – ore)

tema pastebėta, jog tokio pobūdžio tyrimai pasaulyje dažniau atliekami koncentruojantis arba į konkrečias, jau žinomas, grybų rūšis (pvz., Dvorak *et al.*, 2016; Marčiulynas, Menkis, 2023), arba į įvairaus pobūdžio oro taršos keliamą pavojų žmogaus sveikatai (įskaitant užteršimą grybų sporomis) (pvz., Anees-Hill *et al.*, 2022), arba į bendro pobūdžio bioįvairovės tyrimus (pvz., Nicolaisen *et al.*, 2017, Banchi *et al.*, 2020). Tuo tarpu tyrimų miško ekosistemose, ypač skirtų atskleisti grybų sporų taksonominę įvairovę biologine įvairove turtinguose senuose medynuose (ypač – su tikslu atlikti retųjų, saugomų ar invazinių grybų rūšių monitoringą), vis dar labai trūksta. Todėl tokio pobūdžio tyrimas, tapęs magistro baigiamojo darbo tema, Lietuvoje atliktas pirmą kartą ir juo prisidėta prie vis svarbesniais tampaiančių bioįvairovės tyrimų.

Darbo tikslas – metagenominių tyrimų pagalba atskleisti ir palyginti grybų sporų taksonominę įvairovę trijuose Lietuvos paprastojo ąžuolo medynuose, taikant laiko gradientą.

Uždaviniai:

1. Pasyviomis sporų gaudyklėmis, taikant laiko gradientą, surinkti sporų pavyzdžius trijuose Lietuvos saugomose teritorijose augančiuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose.
2. Atlikti surinktų mėginių metagenominę analizę, pagal gautas ITS regiono DNR sekas atlikti grybų sporų taksonominį klasifikavimą.
3. Palyginti grybų sporų taksonominę įvairovę tarp trijų geografiškai nutolusių paprastojo ąžuolo medynų.
4. Nustatyti identifikuotų grybų taksonominių grupių sutinkamumo dėsningumus laiko gradientu (5 savaičių laikotarpyje: rugpjūčio-rugsėjo mėn., 5 sporų gaudymo periodai) ir besikeičiančių meteorologinių sąlygų įtakoje.
5. Įvertinti Lietuvos Raudonosios knygos, invazinių bei Europos Sąjungoje (ES) karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių paplitimo dažnį skirtinguose medynuose.

Tyrimas atliktas Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose, naudojant pasyvias sporų gaudykles, pavyzdžius renkant 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn., kas savaitę, 5 laiko momentais. Grybų sporų taksonominę įvairovę atskleista pasitelkus metagenominius tyrimus (pagal DNR ITS regiono sekas, naudojantis Genų Banko duomenų baze (GenBank; National Center for Biotechnology Information NCBI) ir BLASTn algoritmu (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

1. LITERATŪROS APŽVALGA

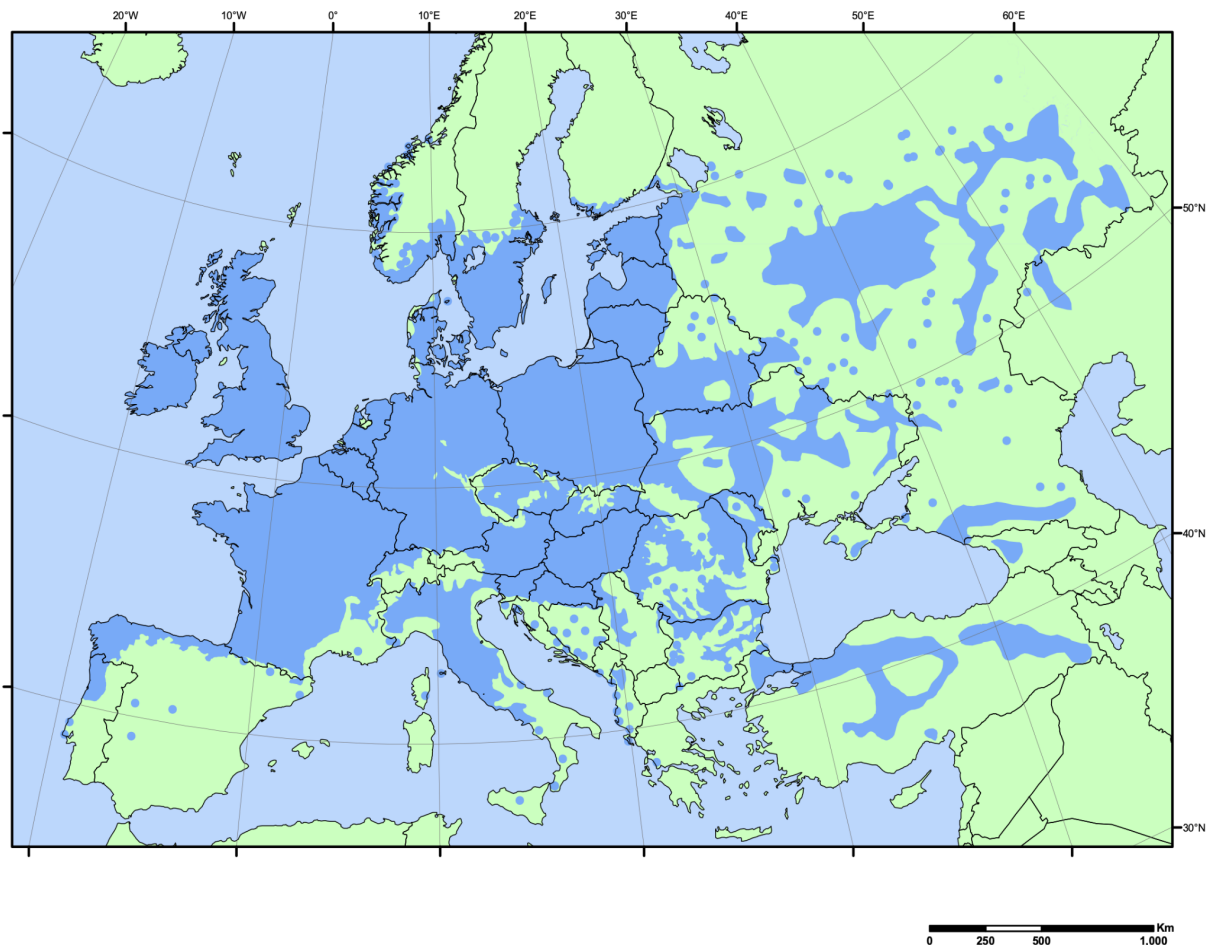
1.1. Paprastojo ąžuolo paplitimas Lietuvoje ir Europoje, rūšies biologinė ir ekologinė reikšmė

Ąžuolo (*Quercus*) gentį sudaro daugiau nei 500 rūšių, paplitusių įvairiose pasaulio dalyse (Valencia-A., 2020; Morales, 2021), tačiau Europoje labiausiai paplitusios dvi artimai giminingos rūšys – paprastasis ąžuolas (*Quercus robur* L.) ir bekotis ąžuolas (*Q. petraea* L.) (Eaton *et al.*, 2016), abi šios rūšys natūraliai auga ir Lietuvoje, nors bekotis ąžuolas, iš tiesų, sutinkamas labai retai (Navasaitis ir kt., 2003). Paprastasis ąžuolas (**1 pav.**) – rūšis, svarbi ekonominiu, ekologiniu bei socialiniu požiūriais, teikianti tiek vertingą medieną, tiek buveinę daugybei su ja susijusių organizmų rūšių ir formuojanti savitas miško ekosistemas (Leuschner *et al.*, 2017; Mölder *et al.*, 2019). Ąžuolas daugelyje Europos kultūrų buvo (ir tebėra iki šiol) laikomas šventu, o jo atvaizdai plačiai taikomi kaip daugumos šalių nacionalinis ar regioninis simbolis vėliavose bei valiutose (Eaton *et al.*, 2016).



1 pav. Paprastasis ąžuolas (autorės nuotr.)

Šiauriausi paprastojo ąžuolo natūralaus paplitimo arealo pakraščiai yra maždaug apie 60° šiaurės platumos ties pietiniu Suomijos pakraščiu, pietų Švedijoje kiek šiauriau Stokholmo, Norvegijos pietuose – palei jūros pakrantę. Pietvakarių arealas – šiaurės Iberijos pusiasalyje iki šiaurės Portugalijos. Rytuose arealas siekia Uralo upę, pietryčiuose – Kaspijos jūrą (Eaton *et al.*, 2016; Kesić *et al.*, 2021) (**2 pav.**). Tačiau, nors paprastieji ąžuolai aptinkami įvairiose Europos klimatinėse zonose – derlingos, pakankamai drėkinamos, vidutinių ar žemų altitudžių vietos yra optimaliausios šių medžių augimvietės (Schopmeyer, 1974).



2 pav. Paprastojo ąžuolo (*Quercus robur*) paplitimo arealas (pagal EUFORGEN, 2009)

Tikėtina, jog tyrėjų susidomėjimą ąžuolynais bei juose esančia bioįvairove lėmė vis spartesnis šių medžių nykimas, pradėtas fiksuoti nuo XVIII a. vidurio (Kesić *et al.*, 2021; Kowsari *et al.*, 2023). Nuo XIX a. pabaigos vien iš Švedijos kraštovaizdžio dėl įvairių priežasčių išnyko apie 80 % senųjų ąžuolų (Eliasson, Nilsson, 2002), panaši tendencija pasireiškė ir kitose Europos šalyse, todėl daugelyje šio žemyno vietų seni ąžuolai yra išlikę nedidelėse populiacijose arba tik kaip pavieniai individai (Pilskog *et al.*, 2016).

Lietuvos Valstybinių miškų tarnybos duomenimis 2021 m. Lietuvos miškingumas siekė 33,7 %. Ažuolynai (medynai, kuriuose dominuoja paprastasis ąžuolas) šiuo metu užima apie 50 tūkst. hektarų plotą, o tai sudaro apie 2,3 % viso šalies miško žemės ploto. Lietuvoje vidutinis ąžuolynų amžius šiuo metu siekia apie 70 metų. Šimto metų amžiaus ir vyresni medynai sudaro 26,7 % Lietuvos ąžuolynų ploto, tokie medynai dažniausiai sutinkami saugomose teritorijose. Visgi, reikia paminėti, kad ąžuolynų amžiaus struktūra šalyje nėra tolygi – apie trečdalį ploto sudaro iki 20 metų amžiaus medynai, tuo tarpu vidutinio – 20-60 m. amžiaus – medynai tesudaro apie 7 % ąžuolynų ploto (Valstybinė miškų tarnyba, 2022). Esant tokiai netolygiai amžiaus struktūrai neišvengiamai ateis laikas, kuomet brandžių (ne perbrendusių) ąžuolynų plotai ženkliai sumažės ir toks laikotarpis tęsis kelis dešimtmečius, kol subręš pastaraisiais metais įveisti jauni ąžuolynai.

Yra žinoma, jog paprastasis ąžuolas gyvena apie 500-600 metų, tačiau optimaliomis sąlygomis kai kurie individai gali išgyventi iki 1000 ir daugiau, siekti daugiau nei 40 m aukštį bei 3-4 m kamieno skersmens apimtį (Navasaitis ir kt., 2003; Eaton *et al.*, 2016). Vertingų grybų (ypač – retųjų rūšių) buveinių formavimosi atskaitos taškas paprastai žymimas ąžuolams pasiekus gamtinę brandą, t. y., apie 200 metų amžių (Menkis *et al.*, 2022). Pagal šiuo metu Lietuvoje galiojančias Miško kirtimų taisykles (2024), ūkiniuose miškuose (IVA miškų grupė) augantys ąžuolai kertami sulaukę 121 metų, apsauginiuose III grupės miškuose bei II miškų grupės miškuose, kai taikomas atrankinis kirtimo būdas – sulaukę 141 metų, t. y., gerokai anksčiau nei ant šių medžių ir juose ima intensyviai formuotis vertingos buveinės. Reikia paminėti, kad, pagal šiuo metu galiojančius teisės aktus, ąžuolynai gamtinės brandos amžiaus šalyje galėtų (bent teoriškai) sulaukti 10,6 tūkst. ha plote (tai sudaro apie 22 % visų šalies ąžuolynų ploto: specialios paskirties (II grupės) miškuose – 21 % ir rezervatiniuose (I grupės) miškuose – 1 %). Tuo tarpu ūkiniams miškams (IVA miškų grupei) priskirta daugiau kaip pusė (30,7 tūkst. ha arba 64 %) visų šalies ąžuolynų (Valstybinė miškų tarnyba, 2022), kuriuose, jei teisės aktai ateityje nebus keičiami, vertingų buveinių pasiūla išliks gana skurdi. Aukščiau minėti faktai kelia nuolatinį aplinkosaugininkų susirūpinimą, o siekiant išlaikyti ar net praturtinti su šiais medžiais ir jų formuojamomis ekosistemomis susijusią biologinę įvairovę, siūloma plėsti Lietuvos saugomas teritorijas (ypač – griežtos apsaugos gamtinius rezervatus), sudaryti sąlygas formuotis sengirėms (Aplinkosaugos koalicija, 2024).

Per ilgą gyvavimo periodą įvairiose stambių ąžuolų dalyse palaipsniui susiformuoja daug skirtingų, įvairiems organizmams tinkamų buveinių, kurių kartu su medžių amžiumi tik daugėja (Marčiulynas *et al.*, 2024). Mitchell ir kt. (2019) susistemino Jungtinėje Karalystėje atliktų įvairių tyrimų duomenis ir nustatė, kad ąžuolai (*Q. robur* ir/arba *Q. petraea*) suteikia prieglobstį daugiau kaip 2300 organizmų rūšių, tarp kurių, kaip gausiausia organizmų grupė, paminėti bestuburiai (1178), toliau seka kerpės (716), samanės (229), grybai (108), paukščiai (38) ir žinduoliai (31). Dumbliai,

bakterijos ir kiti mikroorganizmai nagrinėti nebuvo. Autorių teigimu, 326 organizmų rūšys (57 grybų, 257 bestuburių ir 12 kerpių rūšių) yra neatsiejamai susijusios (t. y., obligatinės) su ąžuolais (*Q. robur* ir/arba *Q. petraea*), o 229 rūšys (51 grybų, 104 bestuburių ir 74 kerpių rūšys) priskirtinos prie tampriai susijusių su ąžuolais. Visos šios 555 rūšys laikytinos stipriai priklausomomis nuo ąžuolynų ekosistemų ir atskirų medžių būklės. Tingstad ir kt. (2018) duomenimis, Fenoskandijos šalyse (Švedija, Norvegija, Suomija) 768 su ąžuolais susijusių rūšių (iš jų – 253 grybų rūšys) yra įtrauktos į šių šalių nacionalinius saugomų ir nykstančių rūšių sąrašus (Raudonąsias knygas). Apie 400 šių rūšių yra medienoje gyvenančios, ja mintančios, iš kurių priskaičiuojama apie 300 yra vabzdžių ir apie 50 grybų rūšių. Taigi, akivaizdu, kad daugybė organizmų rūšių, įskaitant grybus (nemaža dalis jų – nykstančios, saugotinos), yra glaudžiai susijusios su ąžuolu, ir daugelis iš jų būtų pasmerktos išnykti kritiškai sumažėjus joms tinkamų buveinių.

1.2. Mikologiniai tyrimai pasaulyje ir Lietuvoje

Pagal Kutorgą (2024), senovės graikų mokslininkai Aristotelis ir Teofrastas buvo pirmieji aprašę dažniausiai sutinkamas valgomųjų ir nuodingųjų grybų rūšis. Susidomėjimas botanika, o taip pat ir grybų pasauliu, išaugo Renesanso ir Švietimo epochų metu. Pavyzdžiui, svarų indėlių į mikologijos mokslą įnešė olandų mokslininkas C. Clusius, XVII a. pradžioje parašęs veikalą, kuriame pateikti daugiau nei šimto kepurėtųjų ir kempininių grybų rūšių aprašai bei iliustracijos. 1673 metais kitas olandų mokslininkas A. van Leeuwenhoek savo išrastu mikroskopu atrado mieliagrybius. 1729 metais mikologijos mokslo pradininkas A. Micheli (Italija) atskleidė sporų svarbą grybų dauginimosi procese, aprašė svarbiausių (dažniausiai sutinkamų) grybų grupių dauginimosi organus – papėdes su papėdsporėmis bei aukšlius su aukšliasporėmis, atliko grybų auginimo iš jų sporų eksperimentus ir išsamiai aprašė apie 900 įvairių grybų bei kerpių rūšių. 1735 m. žymus švedų mokslininkas Karlas Linėjus (C. von Linné) pasiūlė binarinę organizmų rūšių pavadinimų sistemą, pateikė 90-ies grybų rūšių bei devynių genčių aprašus, priskirdamas grybus augalų karalystės kriptogamų klasei. 1788 m. vokiečių botanikas J. Hedwig buvo pirmasis pavartojęs terminą „spora“ ir įvardijęs, kuo ji skiriasi nuo augalo sėklos. Vokietijos mikologas J. Schilling, atlikęs grybų auginimo eksperimentus, 1827 metais aprašė jų augimo ir vystymosi etapus. 1836 metais britų mokslininkas M. J. Berkeley mokslui apie grybus apibrėžti pateikė naują terminą „mikologija“. Iki XX a. pradžios svarbius tyrinėjimus grybų sistematikos, struktūros, vystymosi bei fiziologijos srityse atliko tokie mokslininkai kaip: K. H. Persoon (Nyderlandai), E. M. Fries (Švedija), P. A. Karsten (Suomija), A. de Bary ir L. Rabenhorst (Vokietija), L. R. Tulasne ir E. Boudier (Prancūzija), M. C. Cooke (Didžioji Britanija), G. Bresadola ir P. A. Saccardo (Italija). XX a. laikotarpiu, pritaikius įvairius tyrimų metodus, gauta vertingų žinių apie grybų citologiją, dauginimąsi, genetiką, fiziologiją, evoliuciją, filogeniją bei ryšius su kitais

organizmais. Na, o nuo XXI a. mokslininkai intensyviai tiria grybų sistematiką, ekologiją, geografinį paplitimą, bendrijas ir jų apsaugą (Kutorga, 2024).

Dar 1825-aisiais iškilus švedų mikologas Elias Magnus Fries (1794-1878 m.) darė prielaidą, kad grybai yra didžiausia augalų karalystės grupė, analogiška vabzdžiams gyvūnų karalystėje. Nepaisant to, kad grybai, iš tikrųjų, nepriklauso augalų karalystei (grybai ir į juos panašių organizmų grupės (pvz., *Oomycetes*) – heterotrofiniai eukariotai, neturintys chlorofilo), jis pasirodė iš esmės esąs teisingas (Hawksworth, Lücking, 2017). Vėlesniais dešimtmečiais, vis labiau rūpinantis biologinės įvairovės išsaugojimu apskritai ir 1992 m. pasirašius pasaulinę Biologinės įvairovės konvenciją (*Secretariat of the Convention on Biological Diversity*, 2011), reikėjo tikslesnių duomenų apie visų rūšių organizmų rūšių skaičių. Atlikus keletą išsamių grybų rūšių skaičiaus vertinimų, buvo nustatyta, kad šis skaičius gali svyruoti nuo 500 tūkst. iki beveik 10 mln. rūšių, nors dauguma mikologų linkę pritari skaičiui nuo 1,5 iki 5 mln. rūšių (Hawksworth, Lücking, 2017; Li *et al.*, 2021).

Nors grybų karalystė – viena iš pačių rūšimis turtingiausių ir seniausių gyvybės medžio šakų, kurios atstovai atlieka gyvybiškai svarbų vaidmenį vandens bei sausumos ekosistemose, iki šiol pasaulyje tėra aprašyta vos apie 150 tūkst. grybų rūšių (Gautam *et al.*, 2022). Dėka intensyvių tyrimų ir tobulėjančių molekulinę technologijų, šis sąrašas sparčiai pildosi, tačiau dėl labai plataus grybų buveinių spektro (nuo vandenynų, dirvožemio gelmių iki ore sklidančių sporų spiečių), sudėtingos taksonomijos bei grybų rūšis gebančių aprašyti specialistų – mikologų – trūkumo, akivaizdu, kad praeis ne vienas dešimtmetis (ar net šimtmetis!), kol bus priartėta prie visos šios organizmų grupės įvairovės atskleidimo (Hawksworth, Lücking, 2017).

Lietuvoje pirmieji įrašai apie grybus (dažniausia – aprašant herbariumo pavyzdžius) siekia XIX a. pirmąją pusę (ryškiausi to meto botanikai – J. E. Gilibert'as, S. B. Jundzilas, J. Jundzilas, J. A. Pabrėža), tačiau aktyvūs mikologiniai tyrimai prasidėjo tik apie 1930-uosius metus (išsamią apžvalgą apie mikologinių tyrimų istoriją šalyje 2004 m. pateikė prof. E. Kutorga) (Motiejūnaitė *et al.*, 2017). XX a. pradžioje grybų moksliniai tyrimai buvo grindžiami mikroskopija ir pavyzdžių kolekcionavimu. Reikšmingus to meto grybų tyrimo darbus atliko V. Vilkaitis, A. Minkevičius, K. Brundza, K. Prószyński, A. Michalskis ir J. Mowszowiczius. 1937-aisiais prof. A. Minkevičius išleido pirmąją mikologinę monografiją „Lietuvos rūdžių (*Uredinales*) floros metmenys“. XX a. antroje pusėje mikologijos tyrimai buvo atliekami Botanikos institute (dabar – Gamtos tyrimų centras), Vilniaus universitete, Vilniaus pedagoginiame institute (dabar – Vytauto Didžiojo universiteto Švietimo akademija) ir Lietuvos žemės ūkio universitete (dabar – Vytauto Didžiojo universiteto Žemės ūkio akademija). Studijos, skirtos grybų sistematikai, įvairovei ir paplitimui įvertinti, apėmė įvairius tiriamuosius objektus: makroskopinius papėdgrybius (tyrė J. Mazelaitis, V. K. Urbonas, A. Gričius, A. Matelis, R. Iršėnaitė), diskomicetus (tyrė E. Kutorga), pirenomicetus ir

lokuloaskomicetus (tyrė J. Rukšėnienė), milteniečius (tyrė B. Grigaliūnaitė), mikromicetus (tyrė A. Minkevičius, M. Ignatavičiūtė, V. Markevičius, A. Treigienė, S. Markovskaja), peronosporiečius (tyrė S. Stanevičienė), gleivainius (tyrė G. Adamonytė) ir lichenizuotus grybus (tyrė J. Motiejūnaitė). Taip pat, tirta valgomųjų grybų biologija ir biochemija (tyrė V. K. Urbonas, S. Karosienė, D. Stankevičienė, J. Kasparavičius), dirvožemio biodestrukciją sukeltantys ir žmogaus aplinkos mikromicetai (tyrė A. Lugauskas, R. Varnaitė, L. Kalėdienė, D. Pečiulytė, J. Repečkienė), mieliagrybiai (A. Paškevičius), augalų parazitiniai grybai (tyrė M. Strukčinskas, O. Špokauskienė, Z. Vinickas, A. Vasiliauskas, L. Žuklys). Didžiausios grybų kolekcijos yra sukauptos Gamtos tyrimų centro ir Vilniaus universiteto herbariumuose. Tyrimai apie grybų įvairovę, biologiją ir ekologiją apibendrinti net 15-os tomų leidinyje „Lietuvos grybai“, išleistame per 1991-2005 metus. Be to, nuo 1998-ųjų veikia Lietuvos mikologų draugija, o nuo 1959-ųjų reguliariai vyksta Baltijos šalių mikologų ir lichenologų simpoziumai, skatinantys šių mokslų plėtrą regionuose (Kutorga, 2024).

Taigi, mikologijos sritis iš nepakankamai įvertinto botanikos pogrupio palaipsniui išaugo į svarbią bei modernią biologijos mokslo šaką, kurios augimas reikšmingai prisidėjo prie mokslo, technologijų ir pramonės vystymosi, atskleidė didžiulę grybų reikšmę ne tik žmogui, bet, be išimties, visoms gamtinėms ekosistemoms (Hyde *et al.*, 2024).

1.3. Grybų taksonominė klasifikacija

Mokslininkai ilgai nesutarė, kurie organizmai turėtų būti laikomi grybais, kildavo nuolatinės diskusijos dėl grybų priskyrimo net stambiausioms taksonominėms grupėms, tačiau molekulinį metodų pritaikymas XX a. pabaigoje suteikė galimybę iš esmės pasistūmėti su šių klausimų sprendimu. Visgi, nepaisant galingų šiuolaikinių įrankių ir plataus masto tyrimų, daugybė grybų rūšių vis dar yra aptinkama ir aprašoma pirmą kartą (Blackwell, 2011; Scheffers *et al.*, 2012).

Molekuliniai taksonominiai grybų tyrimai įgavo pagreitį 1990-ųjų pradžioje (White *et al.*, 1990). Tuomet tyrimuose daugiausia remtasi ląstelės branduolio ribosomų genų klasterį sudarančių 18S (mažojo), 5.8S ir 28S (didžiojo) subvienetų analize (Aime *et al.*, 2006; Bruns *et al.*, 2006; Sugiyama *et al.*, 2006; White *et al.*, 2006; Hibbett *et al.*, 2007), tačiau Schoch ir kt. (2012) parodė vidinio transkribuoto tarpiklio (ITS) regiono, kaip universalaus grybų DNR koduojančio markerio, panaudojimo potencialą dėl šio regiono konservatyvumo ir rūšių skiriamosios gebos bei priskyrimo taksonominėms grupėms paprastumo (Schoch *et al.*, 2012). Grybų ribosominės DNR (rDNR) ITS – polimorfinis koduojantis regionas – tapo dažniausiai nuskaitomu (sekvenuojamu) rDNR grandinės regionu, leidžiančiu nustatyti grybų taksonomiją rūšių lygmeniu ir net jų viduje. Nors taksonų identifikavimas pagal rDNR ITS regiono, kaip universalaus barkodavimo žymens, sekas turi trūkumų, spėjama, kad ITS sekoskaita dar ilgai išliks pagrindiniu grybų identifikavimo įrankiu. Be

abejo, intensyviai ieškoma ir alternatyvių rDNR sekos regionų, leidžiančių išstbulinti grybų identifikavimą molekuliniiais metodais (Fajarningsih, 2016).

Molekulinė taksonomija iš dalies išsprendė daugelį grybų taksonomijos problemų, suteikdama galimybę tiksliau klasifikuoti grybus, nors kai kurie autoriai mano, kad kliovimasis identifikavimu vien rDNR sekų pagalba nėra pranašesnis už morfologinę taksonomiją, tad daugelyje tyrimų turėtų būti taikomi abu šie metodai (Wijayawardene *et al.*, 2021). Pagal Gautam ir kt. (2022), tiriant (identifikuojant) grybus klasikiniu būdu (pagal vaisiakūnių, kultūrų, dauginimosi organų morfologiją) gaunama daug informacijos, kurios nebūtų įmanoma sužinoti nuskaitant vien DNR grandinės sekas, be to, tai iki šiol laikoma patikimiausiu grybų identifikavimo metodu. Visgi, šiais laikais daugelis tyrėjų kliaujasi pasaulinėje Nacionalinio biotechnologijų informacijos centro (NCBI) Genų Banko (GenBank) pirminėje duomenų bazėje (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) viešai publikuotomis grybų rDNR sekomis, su kuriomis, naudojantis NCBI GenBank BLAST įrankiu (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>), lyginamos tyrimų metu gautos sekos. Šis metodas neišvengiamai yra vienintelis, kai dirbama su aplinkos mėginiais (metagenominiai tyrimai – kuomet tiriama iš aplinkos mėginių išskirta visuminė DNR), nekultivuojamais mikroorganizmais. Deja, Genų Banke yra publikuota išties nemažai netinkamai identifikuotų organizmų taksonų rDNR sekų, kas menkina identifikavimo rezultatų patikimumą. Be abejo, iškyla ir paties tyrėjo kompetencijos klausimas – kaip kruopščiai ir atsakingai yra atliekamas identifikavimas (Gautam *et al.*, 2022).

XX a. pabaigoje, remiantis grybų morfologijos bruožais ir dauginimosi būdais, buvo apibrėžti keturi pagrindiniai tikrieji grybų (*Fungi*) karalystės taksonominiai skyriai: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* ir *Basidiomycota* (Whittaker, 1969). Vėliau, molekulinė filogenija įrodė *Zygomycota* ir *Chytridiomycota* skyrių parafiliškumą (Tanabe *et al.*, 2005), o naujausi, šio amžiaus 2-3 dešimtmečiais atlikti taksonominiai tyrimai padėjo grybų karalystę suskirstyti į devynis pagrindinius skyrius: *Opisthosporidia*, *Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Zoopagomycota*, *Mucoromycota*, *Glomeromycota*, *Basidiomycota* ir *Ascomycota* (Naranjo-Ortiz, Gabaldón, 2019).

Ascomycota (aukšliagybiai, askomicetai) – didžiausias (rūšimis skaitlingiausias) taksonominis grybų skyrius, apimantis maždaug du trečdalius visų aprašytų rūšių (Lutzoni *et al.*, 2004; Schoch *et al.*, 2009). Dėl didžiulės šios grupės taksonominės įvairovės ir sąlyginai lengvų eksperimentinių manipuliacijų aukšliagybių skyriaus grybai tapo įvairiausių tyrimų objektu. Tam tikros rūšys (pvz., *Saccharomyces cerevisiae* (Desm.) Meyen, *Neurospora crassa* Shear & B.O. Dodge, *Emericella nidulans* (Thom & Raper) Subram. ar *Schizosaccharomyces pombe* Lindner) plačiai naudotos kaip modeliniai organizmai, paskatinę atradimus biologijos srityje (Naranjo-Ortiz, Gabaldón, 2019). Galima paminėti keletą svarbesnių aukšliagybių skyriaus klasių, pvz., ***Sordariomycetes*** klasėje

vyrauja augalų patogenai (su poveikiu ąžuolams siejamos rūšys – *Gibberella pulicaris* (Kunze) Sacc., *G. avenacea* (Fr.) Sacc., *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *F. culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc., *F. oxysporum* Schltdl., *Nectria haematococca* Berk. & Broome, *N. cinnabarina* (Tode) Fr., *Valsa leucostoma* (Pers.) Fr.). **Lecanoromycetes** klasė yra žinoma dėl didelės lichenizuotų (kerpes formuojančių) rūšių dalies; šioje grupėje nėra augalų patogenų. **Pezizomycetes** klasė, priešingai nei pirmos dvi, yra turtinga mikorizę formuojančių (mikorizinių) grybų rūšimis (su ąžuolais siejamos rūšys – *Choiromyces meandriformis* Vittad., *C. venosus* (Fr.) Th. Fr., *Leucangium carthusianum* (Tul. & C. Tul.) Paol., *Tuber borchii* Vittad., *T. excavatum* Vittad., *T. gibbosum* Harkn., *T. panniferum* Tul. & C. Tul., *T. rapaeodorum* Tulasne & C. Tulasne, *Wilcoxina mikolae* Chin S. Yang & H. E. Wilcox), tačiau šiai klasei priskirtas ir vienas žinomas augalų patogenas – pušų džiūtį sukeliantis pūstasis gniaužtenis (*Rhizina undulata* Fr.). **Eurotiomycetes** ir **Chaetothyriomycetes** klasės turtingos kosmopolitinių saprotrofų rūšių, tačiau šioms klasėms priskirta ir nemažai svarbių gyvūnų patogenų. Visa tai rodo aukšliagybių taksonominės įvairovės ir ekologinės adaptacijos platumą (Berbee, 2001; Moore, 2024).

Basidiomycota (papėdgrybiai, bazidiomicetai) – po aukšliagybių antras (pagal rūšių turtingumą) grybų taksonominis skyrius, apimantis daugiau nei 40 tūkst. aprašytų rūšių ir preliminariai skaičiuojama, kad šis skaičius iki 2030 m. augs dar 14 tūkst. (He *et al.*, 2022). Bazidiomicetai užima daugybę nišų aplinkoje, valgomieji turi didelę maistinę vertę, taip pat tampa vis svarbesni medicininio požiūriu, nors kai kurie iš kepurėtųjų, pvz., *Amanita* sp., yra mirtinai nuodingi, o kiti gali sukelti apsinuodijimą (Mattos-Shipley *et al.*, 2016). Dominuojančią papėdgrybių skyriaus klasę – **Agaricomycetes** (agarikomicetai) – sudaro daug mikorizę su įvairiausiai augalais formuojančių grybų rūšių, tačiau taip pat priskaičiuojama nemažai saprotrofinių bei fitopatogeninių (augalų ligas sukeliančių) rūšių. Medienos puvinį sukeliantys papėdgrybiai dažniausiai priskiriami obligatiniams saprotrofams, jie yra atsakingi už rudąjį ar baltąjį medienos puvinį. Paminėtinos šios agarikomicetų eilės: *Polyporales*, *Agaricales*, *Hymenochaetales*, *Cantharellales*, *Auriculariales* ir *Dacrymycetales*. Šie grybai ne tik skaido medieną, bet ir perdirba jos sudėtines dalis, grąžina maistines medžiagas į dirvožemį, taip palaikydami miškų ir kitų ekosistemų biologinę įvairovę ir produktyvumą (Zmitrovich *et al.*, 2023; Moore, 2024).

Kiti taksonominiai grybų skyriai – *Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Zoopagomycota*, *Opisthosporidia*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Glomeromycota* – sudaro kur kas mažesnę dalį, pagal aprašytų rūšių skaičių (Naranjo-Ortiz, Gabaldón, 2019). **Chytridiomycota** (chitridiomicetų) taksonominis grybų skyrius skirstomas į tris pagrindines klases: *Chytridiomycetes*, *Monoblepharidomycetes* ir *Hyaloraphidiomycetes* (Sekimoto *et al.*, 2011). Didžiausia (turtingiausia rūšimis) šio skyriaus grybų klasė – *Chytridiomycetes*, kurioje šiuo metu yra apie 1000 aprašytų rūšių.

Mucoromycota taksonominis grybų skyrius sudaro didžiausią ir geriausiai ištirtą zigomicetinių grybų grupę. Dauguma rūšių – saprotrofai, kai kurios rūšys yra augalų ir kitų grybų parazitai (Moore, 2024). **Zoopagomycota** taksonominis grybų skyrius apima tris pagrindines linijas: *Entomophthoromycotina*, *Kickxellomycotina* ir *Zoopagomycotina*. Šio skyriaus grybai gali suformuoti tikrą grybieną ir pasižymi įvairiomis ekologinėmis sąveikomis – nuo saprotrofų iki parazitų, gebančių parazituoti daugialąsčius gyvūnus, amebas, dumblius, nematodus ar kitus grybus (Moore, 2024). **Opisthosporida** taksonominį grybų skyrių sudaro trys pagrindinės linijos: *Aphelidea*, *Rozellidea* ir *Microsporidia*. Visos žinomos rūšys yra tarpląsteliniai parazitai arba daugelio eukariotų parazitoidai (Moore, 2024). **Neocallimastigomycota** taksonominis grybų skyrius apima nedidelę žiuželinų, obligatinių anaerobų, neparazitinių grybų grupę, kurią sudaro viena šeima su 18 šiuo metu pripažintų genčių. Šio skyriaus nariai buvo išskirti arba aptikti, beveik išimtinai, žolėdžių žinduolių ir iguanų žarnyne, kur jie skaido augalų organines medžiagas (Moore, 2024). **Blastocadiomycota** taksonominį grybų skyrių sudaro, palyginti, nedidelė zoosporinių grybų grupė, pasižyminti įvairiais morfologiniais ir ekologiniais bruožais. Tiriant aplinkos mėginius, buvo aptikta didelė *Blastocadiomycota* gausa tiek sūriame, tiek gėlame vandenyje, o kai kurie tyrimai rodo, kad jie gali būti paplitę aplinkoje, kurioje trūksta deguonies (Moore, 2024). Beveik visi žinomi **Glomerulomycota** skyriaus grybai gyvena kaip obligatiniai sausumos augalų simbiotai, sudarydami tam tikrą simbiozės tipą, vadinamą arbuskuline mikorize (kuomet grybo ląstelės įsiskverbia į augalo ląsteles jų nepažeisdamos) (Moore, 2024). Grybas padeda augalui gauti fosforo, azoto ir vandens mainais į fotosintezės būdu gaunamus metabolitus. Funkciškai panašios asociacijos egzistuoja tarp *Mucoromycota*, *Ascomycota* ir *Basidiomycota* skyrių atstovų, tačiau *Glomerulomycota* yra labiausiai paplitusi simbiotų grupė, susijusi su beveik trimis ketvirtadaliais sausumos augalų (Naranjo-Ortiz, Gabaldón, 2019).

1.4. Grybų funkcinės ir trofinės grupės, jų vaidmuo miško ekosistemose

Augalai dalijasi erdve su daugybe mikroorganizmų rūšių (Souza *et al.*, 2016). Gyvų augalų atveju, tai gali lemti iš pažiūros neutralią, abipusiai naudingą arba žalingą sąveiką. Geriausiai ištirtos yra tos augalų ir mikroorganizmų sąveikos, kuomet vienas „partneris“ kitam perduoda išteklius, pvz., maisto medžiagas. Šie trofiniai santykiai dažnai naudojami augalų ir mikroorganizmų sąveikai klasifikuoti (Spanu, Panstruga, 2017). Paprastai tariant, kai maistinių medžiagų mainų metu augalai išlieka gyvi, kalbame apie „biotrofinę sąveiką“, o mikroorganizmus vadiname „biotrofais“ (Spanu, Kämper, 2010). Paprastai taip būna simbiotinių santykių atveju, taip pat, kai kuriais parazitizmo atvejais. Taigi, biotrofija priešpriešinama „nekrotrofijai“, t. y., kai mikroorganizmai žudo augalų ląsteles ir audinius, kad galėtų misti liekanomis, o tai būdinga kai kuriems fitopatogenams (Shaw *et*

al., 2016). Be abejo, išskiriama nemažai tarpinių būsenų tarp biotrofijos ir nekrotrofijos, ir šiuos santykius vadiname hemibiotrofiniais (Vleeshouwers, Oliver, 2014). O kai mikroorganizmai gali tiesiog maitintis negyvų augalų liekanomis (patys nenužudo augalų), juos vadiname saprotrofaais (Lewis, 1973).

Grybai atlieka ypač svarbų vaidmenį perdirbdami organines medžiagas bei pernešdami jas per įvairius trofinius lygius (Boddy, 2016). Juos galima priskirti funkcinėms grupėms (gildijoms) pagal pagrindines išteklių klases, kurias jie naudoja (Nguyen *et al.*, 2016), o jų bendrijų sudėtį lemia daugybė stipriai sąveikaujančių abiotinių, biotinių ir erdvinių kintamųjų.

Simbiotrofai – tai su augalais-šeimininkais sąveikaujantys grybai mutualistai. *Mikoriziniai grybai* sudaro atskirą šios grupės pogrųpį, kuris specializuojasi sąveikauti su augalų šaknimis. Mikorizė – abipusiai naudinga augalų šaknų simbiozė su grybais. Grybo hifai apraizgo šaknis, dažnai į įsiskverbia į jų audinius (tarp ląstelių ar net į ląsteles), išskiriamomis rūgštimis ir fermentais skaido dirvožemio organinius junginius, kurie tampa prieinami augalams, didina augalų šaknų siurbiamąjį paviršių (padeda pasiekti vandenį ir jame ištirpusias mineralines druskas). Taip pat, iš grybų augalai gauna tirpių azoto ir fosforo junginių ir fiziologiškai aktyvių medžiagų (vitaminų, auksinų), o grybai iš augalų – angliavandenių, vitaminų. Kai kurie augalai auga tik tada, jeigu substrate yra atitinkamų grybų, ir atvirkščiai – kai kurios grybų rūšys yra su tam tikrais augalais susijusios obligatiniais ryšiais (pvz., baravykas lepšė (*Leccinum scabrum* (Bull.) Gray) auga tik po beržais, o tikrieji raudonviršiai (*Leccinum aurantiacum* (Bull.) Gray) – tik po drebulėmis) (Kutorga, 2024). Taigi, mikoriziniai grybai užtikrina miško ekosistemos sveikatą ir stabilumą. Skiriamos dvi pagrindinės mikorizės formos: ektomikorizė – kuomet grybai iš hifų sudaryta micelio mantija apgaubia aplinkinių augalų šaknis, ir endomikorizė – kuomet grybo hifai įsiskverbia į vidinius augalo šaknies audinius, tačiau išorinės mantijos neformuoja. Yra ir tarpinio tipo mikorizė – ektendomikorizė, kuriai būdingos abiejų pagrindinių tipų savybės (Marcot *et al.*, 2017). Ektomikorizę dažniausiai formuoja kepurėtieji grybai (dauguma jų - papėdgrybių skyriaus agarikiečių (*Agaricales*) eilės atstovai), tačiau taip pat nemažai ektomikorizę formuojančių rūšių priklauso aukšliagybių skyriui (*Helotiales*, *Hypocreales*, *Chaetothyriales* ir *Sordariales* eilių atstovai), yra keletas rūšių, priklausančių ir *Mucoromycota* skyriui (pvz., *Endogonales* eilės atstovai). Endomikorizę dažniausiai formuoja *Glomeromycota* skyriaus grybai. Ektendomikorizę formuoja kai kurių aukšliagybių skyriaus *Pezizales* eilės atstovai (pvz. *Wilcoxina* spp.) (Yu *et al.*, 2001).

Miško maistinių medžiagų apykaitos cikluose ypatingą vietą užima ektomikoriziniai ir saprotrofiniai grybai (Cairney, Meharg, 2002). Ektomikoriziniai grybai pasižymi ne tik mutualistiniu ryšiu su augalų šaknimis, tačiau taip pat gali veikti kaip organinės medžiagos skaidytojai (Lindahl,

Tunlid, 2015), o saprotrofiniai – dažniausiai yra atsakingi tik už hidrolitinį organinių medžiagų skaidymą (Hobbe *et al.*, 1999).

Kaip atskira simbiotrofinių mikroorganizmų grupė dažnai minimi *endofitai* (organizmai, gyvenantys augalo viduje). Simbiotrofiniai endofitai minta augalo-šeimininko gaminamomis maistinėmis medžiagomis, o patys taip pat yra naudingi augalui – padeda įsisavinti sunkiau skaidomus junginius, įveikti stresines aplinkos sąlygas. Augalai nuolat susiduria su neigiamu aplinkos poveikiu – šalčiu ar karščiu, drėgmės trūkumu ar pertekliumi, oro ir dirvožemio tarša, patogenų sukeliama ligomis. Endofitai geba tiesiogiai slopinti patogenų infekciją arba skatina augalo apsauginį atsaką ir taip padeda augalui kovoti su infekcinėmis ligomis. Bene didžiausią endofitinių grybų dalį sudaro aukšliagyviai (Stone *et al.*, 2004). Visgi čia reikia paminėti, kad daugybė skirtingoms funkcinėms grupėms (įskaitant patogenus) priskiriamų grybų rūšių yra aptinkama gyvų, sveikų augalų įvairiausiuose audiniuose (lapuose, ūgliuose, šakose, stiebuose, šaknyse ir kt.), kur jie jokio akivaizdžiai pastebimo poveikio nedaro, tad egzistuoja kaip endofitai. Šių grybų vaidmuo sąveikoje su augalu dar nėra iki galo atskleistas (Stone *et al.*, 2004).

Dar viena svarbi simbiotrofinių grybų grupė – *kerpės*. Kerpės (arba kitaip – lichenizuoti grybai) – nesisteminė grybų grupė, pasižyminti specifiniu simbiotiniu gyvenimo būdu. Didžiąją lichenizuotų grybų dalį sudaro aukšliagyviai (*Ascomycota*), likusią – papėdgryviai (*Basidiomycota*). Iš aukšliagybių, kerpės formuoja keletą taksonominių klasių atstovai – *Arthoniomycetes*, *Coniocybomycetes*, *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Lecanoromycetes*, *Lichinomycetes* ir *Sordariomycetes*. Iš papėdgrybių kerpės formuoja vienintelės – *Agaricomycetes* – klasės grybai. Kerpės auga ant medžių žievės, negyvos medienos, kitų augalų liekanų, akmenų, pastatų sienų, dirvožemyje, samanose, net ant kitų kerpių; tam tikruose biotopuose neretai užima didelius plotus ir sukuria savitas bendrijas. Kerpių gniužulą sudaro grybo hifai (mikobiontas) ir dumblių bei melsvabakterių ląstelės (fotobiontas). Kerpių rūšis nustatoma iš mikobionto rūšių (Motiejūnaitė, 2004).

Saprotrofiniai grybai, būdami gamtinių ekosistemų reguliatoriais, perdirba negyvą biomasę ir taip užbaigia azoto ir anglies ciklus (Adnan *et al.*, 2022), taip pat padeda fiziškai ir chemiškai skaidyti dirvožemio organines medžiagas ir taip keisti dirvožemio struktūrą (Marcot *et al.*, 2017). Negyva mediena yra svarbi miško ekosistemų sudedamoji dalis, daugelio organizmų, įskaitant grybus, buveinė bei maisto išteklių šaltinis (Harmom *et al.*, 1986). Didelė dalis negyvą medieną kolonizuojančių grybų priskiriami obligatiniams saprotrofams, jiems priklauso tiek rudąjį, tiek baltąjį puvinį sukeltantys grybai, dažniausiai tai papėdgrybių skyriaus *Polyporales*, *Agaricales*, *Hymenochaetales*, *Cantharellales*, *Auriculariales* ir *Dacrymycetales* taksonominių eilių atstovai. Yra žinoma, kad kai kurių medienoje tarpstančių papėdgrybių grybiene prasiskverbia į įvairius

dirvožemio sluoksnius, kartais suformuodama ektomikorizinius dangalus. Pažymėtina, kad kai kurios papėdgrybių skyriaus grybų gentys, tokios kaip *Amphinema*, *Byssocorticium*, *Coltricia*, *Piloderma*, *Thelephora*, *Tomentella*, *Tylospora*, kurios, pirmiausia, žinomos kaip dirvožemio organinės medžiagos skaidytojos, taip pat gali sudaryti ektomikorizę (Zmitrovich *et al.*, 2023).

Grybai taip pat gali veikti augalus (šiuo atveju kalbama apie medžius) kaip **patogenai** (ligų sukėlėjai), sąlygodami jų nusilpimą ar net žūtį, keisdami medynų struktūrą, atverdami lajų tarpus, kurie, savo ruožtu, leidžia saulės šviesai prasiskverbti į miško paklotę ir taip sukelti pomiško augmenijos (Holah *et al.*, 1993) bei kitų organizmų (įskaitant grybus) įvairovės pokyčius (Christensen, 1989). Augalų ligas sukelia daugelio grybų taksonominių grupių atstovai, tačiau svarbiausių gretas užima papėdgrybiai ir aukšliagybiai. Bene labiausiai medienos savybes (kamieno struktūrą, atsparumą mechaninėms apkrovoms) keičia grybų (didžiąja dalimi – agarikomicetų) sukiamas medžio kamieno šerdies (branduolio) puvinys (Marcot *et al.*, 2017). Svarbu pabrėžti, kad dauguma grybų rūšių, sukeliančių šerdies puvinį, nėra patogenai – jie saprotrofai, skaidantys medieną, nebeatliekančią vandens transportavimo funkcijos. Tačiau yra ir keletas patogeninių šerdies puvinio grybų, pavyzdžiui, kai kurios kelmučio (*Armillaria* sp.) rūšys, naikinančios gyvas augalo ląsteles, galiausiai pasiekiančios ir medžio šerdį (branduolį).

Ksilotrofiniai grybai dažniausiai kolonizuoja gyvų medžių šerdį arba jaunas šakas, kuriose gausu vandens, mineralinių maistinių medžiagų ir deguonies. Grybų maistinių medžiagų šaltinis yra ksilemoje esantys angliavandeniai arba ligninas, kuriuos grybas įsisavina tik esant pakankamam drėgmės kiekiui. Žuvus medžiui, kai kurių genčių (pvz., *Chondrostereum*, *Climacodon*, *Fomes*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Inonotus*, *Laetiporus*, *Lentinus*, *Oxyporus*, *Phaeolus*, *Phellinus*, *Pleurotus*, *Vuilleminia*) ksilotrofiniai agarikomicetai taip pat atsiduria probleminėje situacijoje. Vienos rūšys (pvz., *Inonotus* spp., *Phellinus* spp.) išnyksta sulig medžio-šeimininko žūtimi, o kitos (pvz., *Chondrostereum* sp., *Ganoderma* spp., *Laetiporus* sp., *Piptoporus* sp.) – gali tęsti savo veiklą po medžio žūties kaip nepatogeniniai saprotrofai. Agarikomicetai yra susiję su mediena visais jos irimo etapais. Pradinėje medienos irimo stadijoje dominuoja pirminiai medienos paviršiaus kolonizatoriai, tokie kaip – *Ceriporiopsis* sp., *Cylindrobasidium* sp., *Junghuhnia* sp., *Oxyporus* sp. ir *Stereum* sp. – „apdorojantys“ medieną tolesniam jos irimui. Po to išitraukia paviršinių ir gilesnių medienos sluoksnių ardytojai: *Antrodia* sp., *Fomitopsis* sp., *Gloeophyllum* sp., *Lentinus* sp., *Ossicaulis* sp., *Postia* sp., *Skeletocutis* sp. ir *Tyromyces* sp., įsiskverbiantys giliau į medienos ląsteles, kad suskaidytų ligniną ir celiuliozę. Kai šie pirminiai ir antriniai skaidytojai baigia prieinamų maistinių medžiagų gavybą, išitraukia tretiniai kolonizatoriai, tokie kaip agarikomicetai *Anomoporia* sp., *Athelia* sp., *Botryobasidium* sp., *Coprinus* spp., *Lycoperdon* spp., *Serpulomyces* sp. ir *Stropharia* spp., kurie

toliau pūdo medienos likučius, grąžindami likusias maistines medžiagas atgal į dirvožemį (Zmitrovich *et al.*, 2023).

Cooke ir Whipps (1980) išskyrė penkis pagrindinius su augalais trofiniais ryšiais susijusių grybų mitybos būdus: fakultatyviniai biotrofai, obligatiniai biotrofai, fakultatyviniai nekrotrofai, obligatiniai saprotrofai ir obligatiniai nekrotrofai.

Biotrofai – patogenai, kurie kolonizuoja gyvus organizmus (gyvus jų audinius) ir maitinasi jų teikiamomis organinėmis medžiagomis. Biotrofiniai grybai gali užkrėsti augalą šeimininką ir juo maitintis nenužudydami. Daugelis biotrofinių mikroorganizmų gamtoje negali funkcionuoti kaip saprotrofai, jų kultūrų paprastai negalima išauginti ant maistinių terpių, jie visiškai priklauso nuo savo gyvų šeimininkų, todėl yra priskiriami prie obligatinių (Spanu, Kämper, 2010). Vis dėlto, tarp papėdgrybių *Tremellales* eilės ir kai kurių *Pucciniomycetes* klasės grybų sudėtyje yra atstovų, derinančių saprotrofinį gebėjimą su biotrofiniu (mikoparazitiniu), taigi, jie priskirtini fakultatyvinių biotrofų grupei (Zmitrovich *et al.*, 2023). Tikrieji biotrofai gyvena sąveikoje su žoliniais augalais ir medžių lapais, šių grybų micelis prisitaikė išnaudoti augalo-šeimininko protoplastą, nesukeldamas grėsmės paties augalo gyvybingumui ir funkcionavimui. Šie grybai formuoja taip vadinamas apesorijas (specializuotos grybų struktūros, padedančios patogeniniams grybams prisitvirtinti prie augalų paviršiaus ir prasiskverbti į gilesnius minkštuosius audinius) ir haustorijas (specializuotos grybų struktūros, įsiskverbiančios į augalo-šeimininko ląsteles ir absorbuojančios iš jų maistines medžiagas, nedarant žalos). Medienoje gyvenantys papėdgrybiai dažniausiai neturi tokių specializuotų struktūrų, kadangi ksilemos ląstelės yra sustiprintos sienelėmis ir paprastai neturi protoplasto (Zmitrovich *et al.*, 2023). **Nekrotrofai** sukelia infekuoto organizmo ląstelių žūtį ir maitinasi negyvais audiniais. Apie **saprotrofus** išsamiau kalbėta aukščiau.

Visgi, reikia paminėti, kad grybų skirstymas į funkcines ar trofines grupes nėra griežtai nustatytas – autorių pasirinkimai dažnai priklauso nuo tyrimo specifikos, tiriamo substrato tipo, nagrinėjamos mikroorganizmų grupės užimamos ekologinės nišos ir panašiai. Pavyzdžiui, daugelyje šiuolaikinių tyrimų mokslininkai, skirstydami identifikuotų grybų taksonus į trofines grupes, remiasi FUNGuild duomenų bazėje (Nguyen *et al.*, 2016) naudojama klasifikacija: (1) **patotrofas** – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis iš parazituojamo organizmo (šeimininko), pažeidžiant jo ląsteles (patotrofams taip pat priskiriami fagotrofai); (2) **simbiotrofas** – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis keičiantis ištekliais su šeimininko ląstelėmis; ir (3) **saprotrofas** – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis skaidant negyvas šeimininko ląsteles. Daugelis grybų rūšių yra prisitaikę savo mitybos įpročius keisti priklausomai nuo aplinkos sąlygų ar prieinamo substrato, taigi, jie gali būti priskiriami kelioms (kombinuotoms) trofinėms grupėms.

Grybų įvairovės išsaugojimas miško ekosistemose yra ypač svarbus, kadangi: 1) įrodyta teigiama sąveika tarp mikroorganizmų – grybų ir bakterijų – įvairovės ir miško ekosistemos daugiafunkciškumo (Delgado-Baquerizo, 2016; Duffy *et al.*, 2017; Laforest-Lapointe *et al.*, 2017); 2) miško ekosistemos vystymasis ir su juo susiję procesai yra tiesiogiai priklausomi nuo grybų bendrijų sudėties (Clemmensen *et al.*, 2015); 3) grybų rūšys dalyvauja svarbiuose ekosistemų procesuose: pvz., tam tikros papėdgrybių skyriaus *Cortinarius* genties rūšys – organinių medžiagų oksidacijoje (Kyaschenko *et al.*, 2017), aukšliagybių skyriaus *Meliniomyces* ir *Cenococcum* genčių atstovai, savo sudėtyje turintys struktūrų, atsparių degradacijai (pvz., melanino) – gali prisidėti prie dirvožemio anglies kaupimo (Fernandez *et al.*, 2019), o papėdgrybių skyriaus *Suillus* genties rūšys pastebėtos veiksmingai tiekiančios azotą savo šeiminkams, skatindamos jų didesnę pirminę produkciją (Clemmensen *et al.*, 2015), nei kiti simbiotai; 4) daugelio kepurėtųjų grybų vaisiakūniai yra svarbus laukinių gyvūnų, įvairių mikroorganizmų maisto šaltinis (Worthen, McGuire, 1990). Taigi, grybų įvairovės apsauga yra būtina, siekiant užtikrinti daugelio miško ekosisteminių paslaugų kokybišką teikimą.

Grybų rūšių įvairovę ir jų populiacijų sudėtį lemia daugybė veiksnių, tačiau dažnai neigiamą poveikį sukelia ir žmogaus veikla. Žmogaus sukelti ekosistemų trikdžiai sąlygoja tiesioginį biologinės įvairovės nykimą (Slabbert *et al.*, 2022). Šiais laikais, spartėjant antropogenizacijai bei urbanizacijos procesams, vykdamant intensyvią, į ekonominės naudos siekimą nukreiptą miškininkystę, mažėja ne tik augalų įvairovė, neretai įsigali svetimžemės rūšys, tačiau pavojuje atsidūrė ir mikorizę formuojančių bei medieną kolonizuojančių (ypač – ją pūdančių) grybų rūšių įvairovė, kurios išsaugojimas yra būtinas siekiant palaikyti daugybę miško ekosistemos funkcijų, svarbių tiek paties miško sveikatai, tiek žmonių gerovei (Packham *et al.*, 2002; *Millenium Ecosystem Assessment*, 2005; Lauber *et al.*, 2008; Heilmann-Clausen *et al.*, 2014; Landi *et al.*, 2015). Grybų populiacijų ekologiniai tyrimai parodė, kad drėgmės ir maistinių medžiagų išteklių prieinamumas – pagrindiniai abiotiniai veiksniai, lemiantys grybų įvairovę ir jų bendrijų sudėtį, tačiau, nepaisant pastarųjų metų technologijų pažangos tyrimų srityje ir nuolatos atrandamų vis naujų rūšių, vis dar trūksta visapusiško supratimo apie procesus, nusakančius grybų bendrijų formavimąsi bei funkcionavimą vienoje ar kitoje aplinkose (Branco, 2019).

1.5. Klimato (meteorologinių sąlygų) poveikis miško ekosistemų funkcionavimui ir biologinei įvairovei

Klimatas yra vienas iš pagrindinių veiksnių, formuojančių gyvų organizmų bendruomenes gamtoje (Faticov *et al.*, 2021). Klimato kaita kelia didelį spaudimą pasaulio miškams, todėl ateityje numatomi ryškūs medžių rūšių paplitimo arealų pokyčiai (Walther, 2010). Dėl ekstremalių klimatinių

reiškinių, ypač karščio bangų ir sausrų, gali ženkliai pablogėti miško ekosistemų stabilumas bei produktyvumas (Roibu *et al.*, 2020). Tikėtina, kad regionuose, kuriuose plačiai vykdoma pramoninė miškininkystė, norint išlaikyti pageidaujamą medienos gavybos lygį, gali prireikti keisti medžių rūšis (introdukuoti nevietines, geriau prisitaikiusias prie šiltesnio klimato ir mažiau jautresnes kenkėjams bei patogenams), tačiau dėl to kartu gali pakisti ir mikroorganizmų populiacijų sudėtis (Gustafsson *et al.*, 2023).

Grybų paplitimas ir įvairovė iš esmės labai priklauso nuo aplinkos veiksnių, tokių kaip saulės ir vėjo poveikis (temperatūra), vandens prieinamumas, substrato tipas ir jo būklė (Unterseher, Tail, 2006). Yra žinoma, jog jei ektomikoriziniai grybai nėra atsparūs šiltesnėms ir (arba) sausesnėms aplinkos sąlygoms, jų veiklos sutrikimas gali sustiprinti neigiamą poveikį augalų populiacijoms ir lemti jų nykimą, ir atvirkščiai, jei ektomikorizinių grybų bendrijos ir sąveikos tinklai yra atsparūs klimato kaitai, jie gali veikti kaip barjeras, sumažinantis neigiamą aplinkos poveikį bei palaikantis maistinių medžiagų ir vandens tiekimą augalams-šeimininkams nepalankiomis sąlygomis (Fernandez *et al.*, 2023).

Marčiulyno ir kt. (2023) atliktas Lietuvos miškuose pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų grybų sporų įvairovės tyrimas parodė, kad oro temperatūra, santykinė oro drėgmė ir kritulių kiekis gali turėti reikšmingą poveikį įvairių grybų rūšių sporų formavimuisi ir sklaidai. Pavyzdžiui, didelė santykinė drėgmė (>70 %) skatina papėdgrybio *Ganoderma* sp. sporų sklaidą, o aukšliagybio *Aspergillus fumigatus* Fresen. ir *Penicillium* sp. – slopina. Nustatyta, kad ore esančių aukšliagybio *Cladosporium* sp. sporų tankis teigiamai koreliuoja su temperatūra, bet neigiamai – su santykinė oro drėgme bei kritulių kiekiu (Marčiulynas, Menkis, 2023).

Klimato kaita ilgainiui sukuria palankias aplinkos sąlygas fitopatogeninių organizmų populiacijoms augti. Daugelis medžių ligas sukeliančių grybų nesunkiai įveikia gynybines sistemas, kai pastarieji yra paveikti sausros (nusilpę). Pavyzdžiui, yra pastebėta, kad po ilgalaikių sausrų ažuolynuose ženkliai dažniau pasireiškia šaknų puvinys (sukėlėjai – agarikomicetai *Armillaria* spp. ir *Collybia fusipes* (Bull.) Quél.). Laboratoriniai ir lauko tyrimai rodo, kad oomicetui *Phytophthora cinnamomi* Rands, sukeliančiam ažuolų džiūtį Viduržemio jūros regione, plisti palanki kuo šiltesnė temperatūra ir pasikartojančių šalnų dažnis (La Porta *et al.*, 2008).

Visgi, tikslų meteorologinių sąlygų poveikį grybų bendrijų sudėčiai, dinamikai ir funkcionalumui natūralioje gamtoje įvertinti gana sudėtinga, kadangi jį lemia daugybė veiksnių, įskaitant pačių grybų fiziologiją, dauginimosi ir plitimo ypatybes, augalų-šeimininkų būklę, jų pasiskirstymą erdvėje, maistinių išteklių prieinamumą bei konkurencinės tarprūšinės sąveikos rezultatus. Be to, aplinkos temperatūros, vandens (drėgmės) ir CO₂, bei jų derinio, poveikis yra daugialypis, pvz., drėgmės kiekio (trūkumo ar pertekliaus) poveikis gali skirtis priklausomai nuo

temperatūros, ir gali skirtingai veikti įvairius grybo fiziologinius procesus ir ekologines savybes (Günthardt-Goerg *et al.*, 2013). Taigi, kadangi moksliniai tyrimai kompleksiniam klimato įtakos poveikiui natūralioje gamtoje išaiškinti reikalauja labai daug laiko ir finansinių sąnaudų, o daugybė grybų rūšių dar nėra aprašytos, ateities perspektyvoje galima daryti tik preliminarias įžvalgas.

1.6. Grybų bendrijų tyrimai ažuolynuose

Kaip minėta ankstesniame skyriuje, išsamią literatūros analizę apie su paprastuoju ir bekočiu ažuolais susijusias organizmų (įskaitant grybus) rūšis, aprašytas Jungtinėje Karalystėje, atliko Mitchell ir kt. (2019). Minėtoje studijoje įvardintos su ažuolais vienaip ar kitaip susijusios 108 grybų rūšys. Visgi, išsamių mikologinių studijų Europos ažuolynuose atlikta palyginti nedaug ir didžioji jų dauguma rėmėsi grybų vaisiakūnių apskaita. Siekiant nustatyti ažuolų sveikatos būklės prastėjimo priežastis, atlikta keletas studijų, kuomet ligos sukėlėjo paieška buvo atliekama bei susijusių grybų bendrijų sudėtis buvo tiriama iš augalinės medžiagos išskiriant grybų kultūras į maistines terpes. Žemiau pateikiama keletas Europos ažuolynuose atliktų mikologinių ir fitopatologinių studijų pavyzdžių.

Kowalski (1991) birželio-spalio mėn. atliko mikologinius tyrimus Pietų Lenkijoje, džiūties paveiktuose pusamžiuose ir brandžiuose ažuolynuose (vyraujanti rūšis – paprastasis ažuolas), siekdamas nustatyti ažuolų džiūties priežastį. Iš žuvusių ažuolų medienos bei iš sergančių ažuolų lapų, ūglių, šakų, žievės ir medienos buvo išskirtos grynosios grybų kultūros, kurios priklausė 80-čiai rūšių, daugiausia – aukšliagrybių.

Pietryčių Švedijoje Lindhe ir kt. (2004) keletą metų iš eilės tyrė ankstyvosios irimo stadijos ažuolo (*Q. robur*) kelmų ir miške paliktų ažuolo rąstų medieną kolonizuojančių (ją pūdančių) grybų įvairovę. Pagal vaisiakūnius (apskaita kasmet vykdyta spalio mėn.) identifikuotos 53 grybų rūšys (51 papėdgrybių ir 2 aukšliagrybių rūšys).

Safonov (2006) 1993-2003 m. laikotarpiu vykdytų ekspedicijų metu atliko afiloforiečių eilei priklausančių papėdgrybių vaisiakūnių apskaitą Pietų Urale (Rusijos Federacija) ir ant paprastojo ažuolo identifiko 57 minėto grybų skyriaus rūšis.

2014 metais švedų mokslininkų grupė Pietų Švedijoje tyrė jaunų paprastųjų ažuolų (15 metų amžiaus) šakelių medienos ir žievės mikrobiotą išskiriant grynąsias grybų kultūras. Molekulinių metodų pagalba nustatytos 27 grybų (daugiausia – aukšliagrybių) rūšys (Agostinelli *et al.*, 2018).

Pietų Švedijoje ir Norvegijoje Menkis ir kt. (2022) tyrė apie 100 metų amžiaus paprastųjų ažuolų žaizdų (dirbtinai padarytų) ir sveikų (kontrolinių) ažuolų kamienų medienos mikrobiotą. Metagenominiais medienos pavyzdžių tyrimais (pagal DNR ITS regiono sekas) išskirti net 686 grybų taksonai.

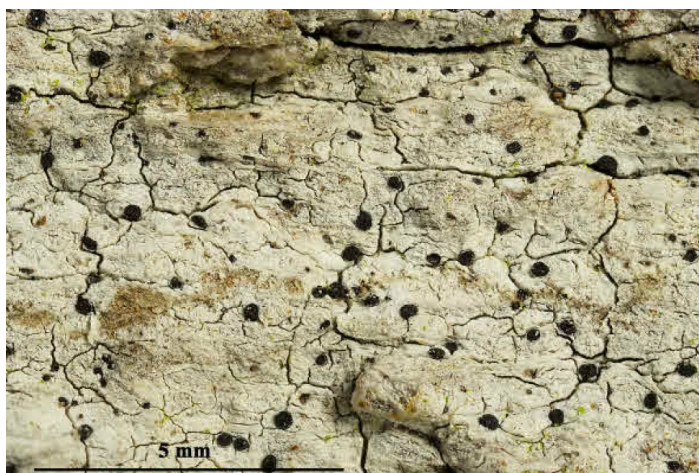
Lietuvoje grybų įvairovę negyvoje paprastojo ąžuolo medienoje tyrė Iršėnaitė ir Kutorga (2006, 2007). Tyrimas atliktas dešimtyje Lietuvos ąžuolynų, kuriuose vyravo pusamžiai (50-120 metų amžiaus) ir brandūs (>120 metų amžiaus) ąžuolai. Pagal vaisiakūnių morfologinius požymius identifikuotos net 203 grybų rūšys. Vasiliauskas (1999) tyrinėjo paprastojo ąžuolo žaizdas kolonizuojančių grybų populiacijas (išskiriant į grynąsias kultūras). Panašų tyrimą 2021 metais atliko ir Marčiulynas ir kt. (2023b), kurie tyrė Kėdainių, Prienų ir Telšių rajonuose augančių 20-60 metų amžiaus ąžuolų žaizdas kolonizuojančių grybų bendrijas. Metagenominių medienos pavyzdžių tyrimų pagalba (pagal DNR ITS regiono sekas) išskirti net 534 grybų operatyviniai taksonominiai vienetai (OTV). Marčiulynas ir Menkis (2024) tyrė grybų įvairovę, jų bendrijų sudėtį ir ilgalaikę dinamiką ąžuolo kelmuose, likusiuose po prieš 10-50 metų vykdytų plynųjų miško kirtimų trijuose Lietuvos regionuose. Metagenominiais tyrimais išskirti 296 grybų OTV.

1.7. Lietuvos Raudonosios knygos grybų rūšys, susijusios su ąžuolu

Šiuo metu į Lietuvos Raudonąją knygą (RK) (Rašomavičius, 2021) įtraukta 117 grybų rūšių, tarp kurių aukšliagybiams (*Ascomycota*), įskaitant kerpes, priklauso – 55 rūšys, papėdgrybiams (*Basidiomycota*) – 62 rūšys. Žemiau išvardintos su paprastuoju ąžuolu siejamos RK rūšys.

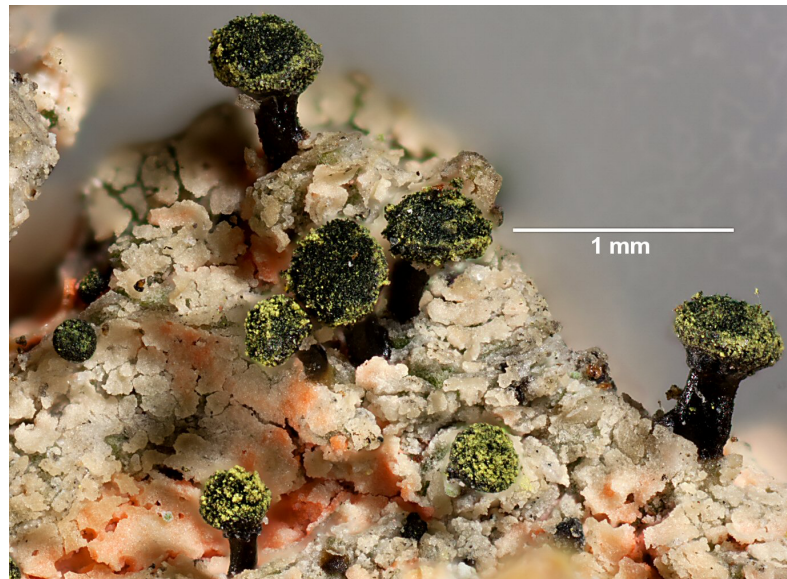
Aukšliagybiai (kerpės):

Ąžuolinė baktrospora (*Bactrospora dryina* (Ach.) A. Massal.) (3 pav.): žiauberiškoji kerpė, priklausanti artonijomicetų (*Arthoniomycetes*) klasės ročelinių (*Rocellaceae*) šeimai. Auga tik ant senų (daugiau kaip šimto metų amžiaus) ąžuolų kamienų miškuose. Lietuvoje ąžuolinės baktrosporos populiacija negausi, labai fragmentiška. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų ąžuolų skaičiaus mažėjimas (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021). Pagal Mitchell ir kt. (2019) ši rūšis su ąžuolais yra susijusi obligatiniais ryšiais.



3 pav. ąžuolinė baktrospora ant ąžuolo kamieno (F. Schumm nuotr.)

Žaliagalvė taurenė (*Calicium adpersum* Pers.) (4 pav.): žiauberiškoji kerpė, priklausanti lekanoromicetų (*Lecanoromycetes*) klasės taureninių (*Caliciaceae*) šeimai. Auga beveik vien tik ant senų (daugiau kaip šimto metų amžiaus) ąžuolų kamienų miškuose. Lietuvoje populiacija negausi, labai fragmentiška. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų medžių, ypač ąžuolų, skaičiaus mažėjimas (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021). Pagal Mitchell ir kt. (2019), ši rūšis su ąžuolais yra susijusi obligatiniais ryšiais.



4 pav. Žaliagalvė taurenė (U. Kirschbaum nuotr.)

Ąžuolinė taurenė (*Calicium quercinum* Pers.): žiauberiškoji kerpė, priklausanti lekanoromicetų (*Lecanoromycetes*) klasės taureninių (*Caliciaceae*) šeimai. Auga ant senų (daugiau kaip šimto metų amžiaus) ąžuolų kamienų miškuose, labai retai ant sausos ąžuolų medienos. Lietuvoje ąžuolinės taurenės populiacija negausi, labai fragmentiška (fragmentaciją lemia tinkamų buveinių pasiskirstymas). Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų ąžuolų skaičiaus mažėjimas bei aplinkos tarša (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021).

Pilkoji miltpuodė (*Cyphelium inquinans* (Sm.) Trevis., dabartinis pavadinimas – *Acolium inquinans* (Sm.) A. Massal.): žiauberiškoji kerpė, priklausanti lekanoromicetų (*Lecanoromycetes*) klasės taureninių (*Caliciaceae*) šeimai. Lietuvoje auga tik ant senų (daugiau kaip šimto metų) ąžuolų kamienų. Lietuvoje pilkosios miltpuodės populiacija itin negausi. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų medžių skaičiaus mažėjimas bei aplinkos tarša, ypač padidėjęs azoto kiekis aplinkoje (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021).

Parazitinė šiurė (*Cladonia parasitica* (Hoffm.) Hoffm.): krūmiškoji kerpė, priklausanti lekanoromicetų (*Lecanoromycetes*) klasės šiurinių (*Cladoniaceae*) šeimai. Auga senuose miškuose tik ant ypač stambios negyvos medienos. Lietuvoje aptinkama ant stambių ąžuolų virtuolių ir kelmų bei ant stambių spygliuočių virtuolių. Lietuvoje parazitinės šiurės populiacija negausi, žinomos aštuonios radavietės. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų džiūstančių medžių šalinimas (Motiejūnaitė, 2002; Rašomavičius, 2021).

Šeriuotoji žiovenė (*Chaenotheca hispidula* (Ach.) Zahlbr.): žiauberiškoji kerpė, neturinti išorėje matomo gniužulo, priklausanti *Coniocybomycetes* klasės brylūninių (*Coniocybaceae*) šeimai. Auga ant senų ąžuolų ir uosių kamienų, retai ant kitų lapuočių medienos senuose miškuose ir jų fragmentuose. Lietuvoje šeriuotosios žiovenės populiacija negausi, labai fragmentiška. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir džiūstančių medžių bei medienos šalinimas (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021).

Tamsioji brylytė (*Sclerophora coniophaea* (Norman) J. Mattsson & Middelb., dabartinis pavadinimas – *Coniocybe coniophaea* Norman): žiauberiškoji kerpė, priklausanti *Coniocybomycetes* klasės brylūninių (*Coniocybaceae*) šeimai. Lietuvoje auga tik ant senų ąžuolų kamienų senuose miškuose ir medžiais apaugusiose pievose. Lietuvoje tamsiosios brylytės populiacija negausi, kiekvienoje radavietėje aptikta tik po vieną ar du individus. Pagrindinės grėsmės yra plynieji miškų kirtimai ir senų ąžuolų (taip pat ir negyvų) skaičiaus mažėjimas (Motiejūnaitė, 2016; Rašomavičius, 2021).

Papėdgrybiai:

Ąžuolinė kepena (*Fistulina hepatica* (Schaeff.) With.) (5 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės kepenaininių (*Fistulinaceae*) šeimai.



5 pav. Ąžuolinės kepenos vaisiakūniai ant ąžuolo kamieno (A. Marčiulyno nuotr.)

Ažuolinė kepena yra įtraukta į daugelio Europos valstybių retųjų ir nykstančių rūšių sąrašus (Raudonąsias knygas) ir saugoma ne tik Lietuvoje (Rašomavičius, 2021), bet ir Lenkijoje bei kai kuriose Skandinavijos šalyse. Tai silpnai parazitinis grybas ir medienos ardytojas, saprotrofas. Dažniausiai aptinkamas ant senų ąžuolų ir kaštainių, rečiau – ant klevo, beržo, lazdyno ar buko medžių kamienų, stuobrių, kelmų ar virtuolių. Nors šis grybas gana plačiai paplitęs vidutinio klimato juostos zonose, jis aptinkamas ganėtinai retai, kadangi trūksta tinkamų buveinių, t. y. senų medžių. Šis grybas dažniausiai parazituoja senus, brandą pasiekusius medžius. Lietuvoje dažniausiai aptinkamas plačialapių ar mišriuosiuose miškuose, parkuose, miškapievėse ant pavienių ąžuolų. Didžiausios populiacijos rastos Kauno ir Dūkštų ąžuolynuose. Po 2007 m. registruota apie 10 proc. mažiau radaviečių, numatomas panašus mažėjimas per ateinančius 50 metų dėl senų pažeistų drevėtų ąžuolų pašalinimo, ypač urbanistinėje aplinkoje. Siekiant grybo populiaciją išsaugoti, senesni ąžuolynai ar pavieniai seni ąžuolai kitose buveinėse neturėtų būti kertami (Gricius, Matelis, 1996; Rašomavičius, 2021). Pagal Mitchell ir kt. (2019), ši rūšis yra tampriai susijusi su ąžuolais (bet ne obligatiniais ryšiais).

Ažuolinis skylenis (*Inonotus dryophilus* (Berk.) Murrill, dabartinis pavadinimas – *Inocutis dryophila* (Berk.) Fiasson & Niemelä) (6 pav): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės šiurkšteninių (*Hymenochaetaceae*) šeimai. Auga senuose ąžuolynuose ar ant pavienių medžių parkuose ir miškapievėse. Pastarųjų metų mažas radaviečių skaičius rodo blogėjančią populiacijos būklę, galimai dėl substrato ir buveinių kokybės pokyčių. Ažuolinio skylenio populiacija gana fragmentiška, net joms augti tinkamose buveinėse randami tik pavieniai individai. Gausiausia populiacija Punios šile, Kauno ir Dūkštų ąžuolynuose. Didžiausia grėsmė ąžuolinio skylenio išlikimui kyla iškertant senus ąžuolus, taip pat, kai nelieka įvairaus amžiaus ąžuolų gretimoje aplinkoje. Pagrindinė apsaugos priemonė – išsaugoti senus ąžuolus ir buveinėse palikti potencialiai grybui tinkamus jaunesnius ąžuolus (Gricius, Matelis, 1996; Sunhede, Vasiliauskas, 2003; Rašomavičius, 2021).



6 pav. Ažuolinis skylenis ant ažuolo kamieno (C. Hodge nuotr.)

Ažuolinis pintenis (*Piptoporus quercinus* (Schrad.) P. Karst., dabartinis pavadinimas – *Fomitopsis pulvina* (Pers.) Spirin & Vlasák) (7 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės pintaininių (*Fomitopsidaceae*) šeimai. Ažuolinio pintenio paplitimas sutampa su paprastojo ažuolo arealu Europos vidutinio klimato juostos miškuose. Grybas retas visame paplitimo areale. Lietuvoje žinoma viena populiacija Punios šile, Alytaus raj. Tai su labai senais ažuolais susijęs kempininis grybas. Išauga ant gyvų ir nudžiūvusių ažuolų kamienų, virtuolių, stuobrių ir sukelia rudąjį ažuolų kamienų puvinį. Rūšies retumą Lietuvoje lemia tinkamų buveinių trūkumas dėl plynųjų miškų kirtimų brandžiuose ažuolų medynuose ir nudžiūvusių senų ažuolų šalinimo. Vienintelė žinoma populiacija Punios šile gali išnykti dėl nepalankios medynų kaitos, staigios senosios ažuolų kartos žūties (Sunhede, Vasiliauskas, 2003; Rašomavičius, 2021).



7 pav. Ažuolinis pintenis ant ažuolo kamieno (M. Livezey nuotr.)

Krokinis minkštenis (*Hapalopilus croceus* (Pers.) Donk) (8 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės skylėtbudinių (*Polyporaceae*) šeimai. Rūšies paplitimas sutampa su paprastojo ąžuolo arealu Europos vidutinio klimato juostos miškuose. Lietuvoje krokinis minkštenis rastas vidurio, rytų ir pietryčių miškuose. Gausiausia populiacija žinoma Punios šile. Daugelyje kitų vietų rastas ant pavienių labai senų ąžuolų. Krokinis minkštenis susijęs su biologiškai brandžių ąžuolynų buveinėmis. Rūšies retumą Lietuvoje lemia tinkamų buveinių trūkumas ir jų fragmentacija dėl plynųjų kirtimų brandžiuose ąžuolų medynuose, nudžiūvusių senų ąžuolų šalinimo. Rūšis pažeidžiama dėl labai mažų populiacijų ir jų izoliacijos (Sunhede, Vasiliauskas, 2003; Rašomavičius, 2021).



8 pav. Krokinis minkštenis ant ąžuolo kamieno (M. Shishkov nuotr.)

Kuokštinė grifolė (*Grifola frondosa* (Dicks.) Gray) (9 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės pintaininių (*Fomitopsidaceae*) šeimai. Kuokštinė grifolė yra medienos ardytojas, saprotrofas, augantis ant senų ąžuolų šaknų ir ardantis negyvas medžio dalis. Auga senuose plačialapių ir mišriuosiuose miškuose, mėgsta gana atviras saulėtas buveines: pavienius ąžuolus miškapievėse, parkuose, pakelėse. Gausiausios populiacijos Dūkštų, Kauno ąžuolynuose ir Plungės raj. Seni pavieniai ąžuolai ar seni ąžuolynai yra grybui kritiškai svarbios buveinės. Grybo augavietėje turėtų būti paliekama senų ir pribrežtančių potencialiai tinkamų kolonizuoti ąžuolų (Gricius, Matelis, 1996; Rašomavičius, 2021).



9 pav. Kuokštinė grifolė šalia ąžuolo kamieno (V. Hayova nuotr.)

Vientisasis skylutis (*Perenniporia medulla-panis* (Jacq.) Donk) (10 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės skylėtbudinių (*Polyporaceae*) šeimai. Šio kempininio grybo vaisiakūniai išauga ant ąžuolo kelmų, virtuolių ir stambių šakų senuose ąžuolynuose ar ant pavienių ąžuolų atvirame kraštovaizdyje. Grybas yra medienos ardytojas, saprotrofas, sukeliantis baltąjį medienos puvinį. Tinkamose buveinėse vientisųjų skylučių randama negausiai, po vieną-tris individus. Didžiausia grėsmė populiacijoms išlikti – senų ąžuolynų ir pavienių ąžuolų kirtimas, negyvos medienos, stuobrių, kelmų, virtuolių sunaikinimas ir pašalinimas iš buveinių. Pagrindinė apsaugos priemonė – išsaugoti senus ąžuolus (taip pat ir negyvus) bei užtikrinti substrato atsinaujinimą, išsaugant skirtingo amžiaus ąžuolų buveines (Gricius, Matelis, 1996; Rašomavičius, 2021).



10 pav. Vientisasis skylutis (R. Iršėnaitės nuotr.)

Kurapkinis storplutis (*Xylobolus frustulatus* (Pers.) Boidin) (11 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės plutpintinių (*Stereaceae*) šeimai. Vaisiakūniai auga ant senų stambių ąžuolų bežievių kamienų, šakų stuobrių ir virtuolių plačialapių ir mišriuosiuose su ąžuolais miškuose ar ant pavienių ąžuolų kultūriniame kraštovaizdyje. Grybas yra medienos ardytojas, saprotofas. Tinkamose radavietėse kurapkinų storplučių auga negausiai, vos po kelis individus. Senų drevėtų bežievių ąžuolų mažėjimas, ypač iš kultūrinio kraštovaizdžio – didžiausia grėsmė šio grybo išlikimui. Seni ąžuolynai ar pavieniai seni ąžuolai kitose buveinėse turi būti išsaugomi, nes grybui labai svarbu, kad nuolat atsinaujintų tik per ilgą laiką susiformuojantis substratas, tad išsaugoti potencialiai grybui tinkamus medžius buveinėse – taip pat svarbi apsaugos priemonė (Rašomavičius, 2021).



11 pav. Kurapkinis storplutis (M. Kuo nuotr.)

Ūmėdinė guotė (*Hygrophorus russula* (Schaeff.) Kauffman) (12 pav.): priklauso agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės guotinių (*Hygrophoraceae*) šeimai. Auga lapuočių ir mišriuosiuose miškuose su ąžuolais ir lazdynais. Simbiotrofas, susijęs su įvairiais ąžuolais, Lietuvoje – su paprastaisiais ąžuolais (Rašomavičius, 2021).



12 pav. Ūmėdinė guotė (F. Calleda nuotr.)

Kiti, Lietuvos RK esantys, saugomi agarikomicetai, kurių buveinės siejamos su ąžuolu ar ąžuolynais: šakotoji skylėtbudė (*Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr.), dvisluoksnis vingiaporis (*Abortiporus biennis* (Bull.) Singer), aitriakvapis piengrybis (*Lactarius acerrimus* Britzelm.), piengrybis jautakis (*Lactarius volemus* (Fr.) Fr.), auksaviršė ūmėdė (*Russula aurea* Pers.), kvapioji ūmėdė (*Russula grata* Britzelm., dabartinis pavadinimas – *Russula laurocerasi* Melzer), lazdyninis nuosėdis (*Cortinarius moëne-loccozii* Bidaud; dabartinis pavadinimas – *Phlegmacium moenne-loccozii* (Bidaud) Niskanen & Liimat), geltonžvynė guotė (*Hygrophorus chrysodon* (Batsch) Fr.), kietoji guotė (*Hygrophorus penarius* Fr.), bronzinis baravykas (*Boletus aereus* Bull.), dėmėtasis baravykas (*Boletus erythropus* Pers., dabartinis pavadinimas – *Neoboletus erythropus* (Pers.) C. Hahn), blyškusis baravykas (*Boletus impolitus* Fr., dabartinis pavadinimas – *Hemileccinum impolitus* (Fr.) Šutara), Fechtnerio baravykas (*Butyriboletus fechtneri* (Velen.) D. Arora & J. L. Frank), kartusis baravykas (*Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini), tikrasis juodbaravykis (*Porphyrellus porphyrosporus* (Fr. & Hök) E.-J. Gilbert), tikrasis žvynbaravykis (*Strobilomyces strobilaceus* (Scop.) Berk.), raudonkepuris aksombaravykis (*Xerocomus rubellus* (Krombh.) Quél., dabartinis pavadinimas – *Hortiboletus rubellus* (Krombh.) Simonini, Vizzini & Gelardi), pilkoji voveraitė (*Cantharellus cinereus* Pers.), piestinis pirštūnis (*Clavariadelphus pistillarlis* (L.) Donk), auksaspalvis šakočius (*Ramaria aurea* (Schaeff.) Quél.) (Rašomavičius, 2021).

Pastebima, jog ąžuolynuose yra ženkliai daugiau retų grybų rūšių nei bet kurios kitos rūšies medynuose (Tingstad *et al.*, 2018). Šių autorių vertinimu, Fenoskandijos šalyse (Švedija, Norvegija, Suomija) priskaičiuojama apie 250 su ąžuolais (ąžuolynų ekosistemomis) vienaip ar kitaip susijusių grybų rūšių, įtrauktų į nacionalinius Švedijos, Norvegijos ir Suomijos saugomų bei nykstančių rūšių sąrašus (Raudonąsias knygas). Deja, senų ąžuolynų (kaip ir pavienių ąžuolų) nykimas turi neigiamų pasekmių daugeliui su jais obligatiniais ryšiais susijusių organizmų, tame tarpe – ir daugybei nykstančių grybų rūšių, kurios dažnai yra visiškai priklausomos nuo senų ąžuolų kuriamų buveinių (Marčiulynas, Menkis, 2024). Tad, atsižvelgus į tai, jog ąžuolai dėl savo ilgaamžiškumo (net ir po savo žūties) suformuoja savitas buveines ir dažnai suteikia prieglobstį daugeliui grybų rūšių, tarp jų ir nykstančių, būtina periodiškai tirti pastarųjų populiacijas, stebėti jų sudėties pokyčius, laiku aptikti galimas grėsmes bei sudaryti tinkamas sąlygas bioįvairovės tęstinumui (Mitchell *et al.*, 2019).

1.8. **Invaziniai grybai, jų grėsmė vietinei grybų įvairovei ir ąžuolynų ekosistemų sveikatai**

Invazinės rūšys neigiamai veikia vietinių rūšių įvairovę ir gausą, padidina jų išnykimo riziką, veikia populiacijų genetinę sudėtį bei modifikuoja trofinius ryšius (Pyšek *et al.*, 2020). Pasauliniu mastu vis labiau auganti problema – miško medžių sveikatos būklės blogėjimas, dažnai sąlygojamas ligų, kurias sukelia invaziniai mikroorganizmai. Invazinių mikroorganizmų sukeltų ligų introdukcija gali turėti žalingą poveikį kelioms ekosistemų funkcijoms ir teikiamoms ekosisteminėms paslaugoms, įskaitant žaliavų (pvz., medienos) gavybą ir estetiką, kuomet pažeidžiami medžiai rekreacinėse zonose (Santini *et al.*, 2013). Aplinkos pokyčiai, beje, dažniausiai sąlygoti žmogaus veiklos, yra vienas iš svarbiausių veiksnių, skatinančių invazinių ligų plitimą (Daszak *et al.*, 2000). Akivaizdu, jog dėl tyčinio ar netyčinio žmogaus įsikišimo sutrikdomi natūralūs gamtiniai barjerai, apsaugantys miško ekosistemas nuo pavojingų mikroorganizmų (Holt *et al.*, 2013), todėl jos ima silpti ir palaipsniui vietines bendrijas keičia invaziniai organizmai, įskaitant augalų patogenus, jiems sudaromos palankios sąlygos lengvai plisti ir įsitvirtinti naujose teritorijose (Fisher *et al.*, 2012). Per pastaruosius trisdešimt metų invazinių mikroorganizmų kiekis Europoje išaugo dvigubai (Santini *et al.*, 2013), o per pastarąjį šimtmetį medžių patogenai padarė išties didelę žalą Europos miškams, ypač kilmingųjų lapuočių – uosių, ąžuolų, guobų – medynams (Eriksson *et al.*, 2019).

Pirmieji įrašai apie invazinius grybus aptinkami ankstyviausiose mikologinėse studijose: pvz., žalingasis trobagrybis (*Serpula lacrymans* Wulfen) ir dulkančiosios kūlės (*Ustilago nuda* (C.N. Jensen) Rostr.), paminėti S. B. Jundzilo dar 1830 metais. Apie 1980-1990-uosius metus, griuvus geležinei uždangai, didėjantis importuojamų prekių kiekis ir įvairovė, įskaitant augalus ir augalines

kilmės produktus, kartu su besikeičiančiomis klimato sąlygomis, greičiausiai, sukėlė ir invazinių grybų plitimą į Lietuvą (Motiejūnaitė *et al.*, 2017).

Lietuva yra svarbių klimato zonų ir geografinių populiacijų sankirtoje, svarbus paukščių migracijos kelias (Baltijos jūra; žinoma, jog paukščiai yra svarbus įvairių organizmų platinimo tolimais atstumais vektorius), taip pat, Lietuva – tranzitinė šalis, kurioje vyksta intensyvus krovinių gabenimas jūra, geležinkeliais ir keliais. Lietuvoje augalų patogenai sudaro didžiąją dalį (125 rūšys) visų užregistruotų invazinių grybų, o jų ekonominė reikšmė svyruoja nuo didelės, sukeliančios rimtus nuostolius žemės, miškų ūkyje arba dekoratyvinių augalų augintojams, iki žemos, sukeliančios tik nedidelę žalą kai kuriems sodo ar parko augalams (Motiejūnaitė *et al.*, 2017). Nemažai invazinių grybų rūšių kelia rimtą pavojų Europos (tame tarpe ir Lietuvos) miško ekosistemoms. Vieni iš labiausiai žinomų invazinių fitopatogenų Europoje, sukeliančių masinę medžių džiūtį, yra *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya – uosių džiūties sukėlėjas; *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf. *sensu lato* – guobų maro sukėlėjas; *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk *sensu lato* – alksnių džiūties sukėlėjas, oomicetas; *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell – pušų sakingojo vėžio sukėlėjas (Eriksson *et al.*, 2019).

Europoje periodiškai pasireiškianti masinė ažuolynų džiūtis buvo ne kartą tyrinėta, tačiau mokslininkai iki šiol nesutaria dėl tikrųjų šio reiškinių priežasčių. Kaip galimi džiūties sukėlėjai įvardijami ir invaziniai patogenai, tarp kurių bene dažniausiai minimi oomicetai – *Phytophthora genticis* atstovai (Macháčová *et al.*, 2022). Viena ažuolui pavojingiausių invazinių grybų rūšių – lapų miltligė, kurią sukelia ažuolinis miltenis (*Erysiphe alphitoides* (Griff. & Maubl.) U. Braun & S. Takam.) (**13 pav.**). Ant ažuolų Lietuvoje pirmą kartą ji buvo užfiksuota XX a. pradžioje ir nuo tada sparčiai išplito visoje šalyje (Motiejūnaitė *et al.*, 2017). Ažuolinis miltenis yra dažniausias ažuolų lapijos ligų biotinis sukėlėjas, užkrečiantis ištikus medynus ir viena iš labiausiai paplitusių ažuolo ligų visoje Europoje (Copolovici *et al.*, 2014). Šis miltgrybis sparčiai dauginasi, kai jauni ažuolo lapai yra papildomai veikiami drėgmės, ir pamažu gali padengti visų lapų paviršių baltomis apnašomis (Bargali *et al.*, 2015).



13 pav. Paprastojo ąžuolo lapai, pažeisti ąžuolinio miltenio (*Erysiphe alphitoides*) (Graham Calow nuotr.)

Europos Sąjungoje (ES) karantininiais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių sąrašai pateikiami 2019 m. lapkričio 28 d. Komisijos įgyvendinimo reglamente (ES) 2019/2072 (<https://eur-lex.europa.eu/>). Minėti sąrašai pateikiami reglamento II priede („Sjungos karantininių kenkėjų sąrašas su EPPO jiems suteiktais atitinkamais kodais“): A dalis „Sjungos teritorijoje neaptinkami kenkėjai“ (iš viso pateikiami 35 grybų ir oomicetų taksonai) ir B dalis „Sjungos teritorijoje aptinkami kenkėjai“ (iš viso pateikiami 4 grybų ir oomicetų taksonai). Lietuva, kaip ES narė, taip pat vadovaujasi šiuo reglamentu ir vykdo sąrašuose išvardytų organizmų monitoringą bei kontrolę.

Ateities miškų apsauga priklauso nuo gebėjimo stebėti medynų sveikatos pokyčius, o norint suvaldyti plataus masto grėsmes, tokias kaip invazinių mikroorganizmų sukeltos epifitotijos, labai svarbu sukurti ir taikyti veiksmingas ligų sukėlėjų aptikimo ir identifikavimo priemones (Guzman *et al.*, 2023).

1.9. Grybų sporos ir jų tyrimo metodai

Anksčiau grybų įvairovė ir jų bendrijos buvo tiriami tradiciniais, daug pastangų reikalaujančiais metodais (grybų vaisiakūnių paieška, grybų išskyrimas į grynąsias kultūras, identifikavimas pagal morfologinius požymius, mikroskopavimas), ne visada leidusiais per trumpą laiką pasiekti norimų rezultatų ar išsamiai ištirti bendrijų kokybinę bei kiekybinę sudėtį. Grybų (kaip ir kitų organizmų)

identifikavimui sukūrus ir pritaikius tokius metodus kaip naujos kartos DNR sekoskaita ir metagenomika, situacija iš esmės pasikeitė (Adnan *et al.*, 2022).

Metagenominiai grybų tyrimai apima tiesioginę genominių (DNR sekų) duomenų analizę iš aplinkos mėginių ir yra pagrįsti amplikono (DNR molekulių fragmento, apimančio ITS regioną, kiekybiškai pagausinto PGR reakcija) arba automatinės (angl., *shotgun*) sekoskaitos (apimančios visas mėginiuose esančias DNR sekas) taikymu, kurie susideda iš keturių pagrindinių etapų: mėginių ėmimo ir DNR išskyrimo, sekų nuskaitymo, jų analizės ir duomenų vizualizavimo. Metagenominių tyrimų duomenys gaunami DNR sekas analizuojant naujos kartos sekoskaitos (angl., *Next-Generation Sequencing, NGS*) pagalba, naudojant tokias platformas kaip *Illumina*, *PacBio* ir *Oxford Nanopore Technologies (ONT)*. *Illumina* platforma leidžia nuskaityti iki 300 bazių porų (bp) ilgio sekas, o *PacBio* ir *ONT* platformos gali nuskaityti ilgas, net iki 1000 bp ir ilgesnes sekas. Tiriant grybus, metagenomikoje naudojama daug bioinformatinių priemonių, apimančių programinę įrangą, skirtą amplikonų ir automatinės sekoskaitos duomenims analizuoti (Nam *et al.*, 2023). Taigi, didelio našumo metodų sukūrimas įgalino tyrėjus aptikti daugybę grybų rūšių tiesiogiai iš aplinkos mėginių, nustatyti ne tik kokybinę, bet ir kiekybinę grybų bendrijų sudėtį (Lindahl *et al.*, 2013).

Aerobiologija – mokslas, tiriantis ore esančius mikroorganizmus ar kitas biologines daleles ir jų pasiskirstymą (Lacey, West, 2006). Tradiciškai aerobiologija, vertinant „ore sklendančių“ rūšių įvairovę ir gausą, daugiausia rėmėsi mikroskopija, tačiau naujaisi didelio našumo sekoskaitos ir iš aplinkos mėginių išskirtos DNR metakodavimo technologijų pasiekimai leido padidinti taksonominę oro biologinės įvairovės, įskaitant grybus, skiriamąją gebą (Banchi *et al.*, 2020). Grybų sporų tyrimai buvo reikalingi daugelyje sričių – pradedant aplinkos kokybės tyrimais ir baigiant biochemijos ir taikomosios mikrobiologijos mokslais (Martinez-Bracero *et al.*, 2022), nuo tam tikros mikroorganizmų grupės paplitimo kasdienės stebėsenos iki patosistemų veikimo analizės įvairiais laiko ir erdvės momentais (Van der Heyden *et al.*, 2021).

XX a. pabaigoje padaugėjo tyrimų siekiant nustatyti, kokį poveikį atmosferos kietosios dalelės (dulkės, pramoniniai teršalai ir mikroorganizmai) gali daryti žmonių sveikatai, žemės ūkiui ir klimatui (Cuadros-Orellana *et al.*, 2013). Kadangi didžioji dauguma grybų rūšių dauginasi vėjo pagalba pernešamomis sporomis, oras yra pagrindinė daugelio grybų rūšių sklaidos aplinkoje terpė. Aguayo ir kt. (2018) teigimu, siekiant iširti grybų įvairovę tam tikroje aplinkoje, mėginių rinkimas sporų gaudyklėmis turi ženklų pranašumą prieš grybų išskyrimą iš kolonizuotų substratų į mitybos terpes arba jų vaisiakūnių skaičiavimą, kadangi sporų gaudyklės leidžia tam tikru pasirinktu laiko momentu ar laikotarpiu įvertinti toje aplinkoje egzistuojančių (plintančių) grybų rūšių įvairovę ir jų gausumą plačiausiu mastu. Leyronas ir kt. (2018) parodė, kad daugelis grybų rūšių gali plisti oru nuo mikro- iki makrogeografinio masto. Sporos gali būti aerolizuotos ir/arba lietaus lašais nuplautos nuo grybų

vaisiakūnių ar kolonijų paviršių. Tokiu atveju sporos pasklinda tik labai nedideliais atstumais. Oro srovių (vėjo) pagalba laisvos (t.y., neaerolizuotos) ar net aerolizuotos sporos gali būti pernešamos ženkliai didesniais atstumais (iki kelių šimtų kilometrų ar net didesniais) (Abrego *et al.*, 2018, Leyronas *et al.*, 2018).

Iš oro filtrų mėginių paimtų grybų sporų metagenominius tyrimus vieni pirmųjų atliko Fröhlich-Nowoisky ir kt. (2009). Šis tyrimas parodė, kad grybų rūšių įvairovė ore yra daug didesnė, nei buvo manyta anksčiau, ir kad ji yra panaši į dirvožemio ar augalų mikrobiotą. Beje, naujausi tyrimai rodo, kad ore sklindančių grybų sporų taksonominė įvairovė gali pranokti dirvožemyje ar augaliniuose substratuose sutinkamą mikrobiotos įvairovę (Abrego *et al.*, 2018).

Atlikus literatūros analizę grybų sporų įvairovės aplinkoje (daugiausia – ore) tema pastebėta, jog tokio pobūdžio tyrimai pasaulyje dažniau atliekami koncentruojantis arba į konkrečias, jau žinomas, grybų rūšis (pvz., Dvorak *et al.*, 2016; Marčiulynas, Menkis, 2023), arba į įvairaus pobūdžio oro taršos keliamą pavojų žmogaus sveikatai (įskaitant užteršimą grybų sporomis) (pvz., Anees-Hill *et al.*, 2022), arba į bendro pobūdžio bioįvairovės tyrimus (pvz., Nicolaisen *et al.*, 2017; Banchi *et al.*, 2020). Tuo tarpu tyrimų miško ekosistemose, ypač skirtų atskleisti grybų sporų taksonominę įvairovę biologine įvairove turtinguose senuose medynuose (pvz., su tikslu atlikti retųjų, saugomų ar invazinių grybų rūšių monitoringą), vis dar labai trūksta.

1.10. Miško ekosistemose sutinkamų grybų sporų įvairovės tyrimai pasaulyje

Miško ekosistemose sutinkamų grybų sporų įvairovės tyrimai atlieka svarbų vaidmenį, siekiant geriau atskleisti ekosistemų biologinę įvairovę ir suprasti organizmų tarpusavio ryšius. Grybai, kaip svarbūs bioindikatoriai ir ekosistemų funkcionavimo dalininkai, dalyvauja medžiagų apykaitoje, palaiko augalų sveikatą ir skaido organines medžiagas, todėl detali mikrobiotos analizė visuomet suteikia vertingų žinių ne tik apie bendrą biologinę įvairovę, grybų populiacijų dinamiką, bet ir apie aplinkos būklę, jos kokybę ir klimato kaitos poveikį ekosistemoms. Šiame kontekste, moksliniai tyrimai, skirti grybų sporų įvairovei nustatyti skirtingose geografinėse vietovėse įvairiais laiko momentais, atveria naujas galimybes ekosistemų valdymui ir apsaugai, taip pat padeda geriau suprasti globalius ekologinius procesus. Tenka pripažinti, kad iš tiesų pasaulyje mikologinių ar fitopatologinių studijų miško ekosistemose, taikant sporų įvairovės metagenominius tyrimus, atlikta nedaug. Žemiau pateikiama keletas tokių studijų pavyzdžių.

Pavyzdžiui, 2013-2015 m. Kanados lapuočių ir spygliuočių miškuose buvo atlikti išsamūs tyrimai, siekiant įvertinti žmogaus veiklos (žemės ūkio ir pasaulinės prekybos) poveikį miško ekosistemose gyvenančių grybų biologinei įvairovei ir patogenezei (Chen *et al.*, 2018). Vienas

svarbiausių šio tyrimo tikslų buvo sukurti ir įdiegti ankstyvo invazinių grybų rūšių aptikimo sistemą ir įvertinti jos veiksmingumą. Tyrimo metu nustatyta didelė grybų ir oomicetų rūšių įvairovė, įskaitant keletą invazinių *Phytophthora* genties rūšių bei guobų maro sukėlėją *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier, kurios žinomos dėl žalingo poveikio miško medžių sveikatai. Minėtas tyrimas ne tik atskleidė fitopatogeninių, invazinių grybų rūšių paplitimo mastą, bet ir išryškino esminį integruotos molekulinės diagnostikos poreikį nacionalinėse miškų valdymo bei monitoringo strategijose, siekiant sušvelninti neigiamą invazinių patogenų poveikį miško ekosistemoms (Tremblay *et al.*, 2018).

Womack ir kt. (2015) tyrė grybų sporų taksonominę sudėtį atmosferos sluoksnyje virš Amazonės atogrąžų miško. Metagenominė analizė atlikta nuskaitant tiek DNR, tiek RNR sekas iš gaudyklėmis surinktų sporų pavyzdžių. Pirmą kartą atskleista grybų sporų taksonominė įvairovė ir gausumas ore virš Amazonės atogrąžų miško. Nustatytas ryškus aukšliagybių sporų dominavimas.

Castaño ir kt. (2017, 2019) pietryčių Ispanijoje, pajūrinės pušies (*Pinus pinaster* Ait.) medyno ore tyrė kepurėtųjų grybų sporų taksonominės įvairovės ir gausumo priklausomybę nuo kritulių kiekio ir tų pačių rūšių grybų vaisiakūnių atsiradimo. Metagenomine analize nustatytas bendras grybų OTV skaičius siekė 521. Nustatyta, kad sporų įvairovė ir gausumas tiesiogiai koreliavo su kepurėtųjų grybų vaisiakūnių atsiradimu ir savaitės kritulių kiekiu.

Abrego ir kt. (2018) aktyvia (ciklonine) sporų gaudykle Suomijos miškuose (4 geografiškai nutolusiose vietovėse) tyrė grybų sporų taksonominę įvairovę. Metagenomine analize nustatytas bendras grybų rūšių skaičius siekė 1021. Tyrimas parodė ryškius grybų bendrijų skirtumus tarp geografiškai nutolusių (didesniu kaip 100 km atstumu) vietovių bei ženklų bendrijų sudėties kaitą augalų vegetacijos sezono eigoje.

Redondo ir kt. (2020) tyrė santykinę augalijos sudėties, geografinio atstumo, sezoniškumo ir meteorologinių sąlygų įtaką grybų sporų įvairovei ir gausumui trijuose Švedijoje dažniausiai sutinkamuose augmenijos tipuose – spygliuočių ir lapuočių miškuose bei žemės ūkio naudmenų plotuose. Tuo tikslu ženkliai geografiškai vienas nuo kito nutolusiuose miškuose ir žemės ūkio naudmenose tiek aktyviomis, tiek pasyviomis sporų gaudyklėmis net keletą mėnesių (vegetacijos sezono eigoje) kas savaitę buvo renkami sporų pavyzdžiai. Metagenomine analize nustatytas bendras grybų OTV skaičius siekė net 2099 (visų tyrimų suminiai duomenys). Tyrimas atskleidė, jog grybų bendrijų sudėtis labiausiai priklausė nuo augmenijos tipo ir sezoniškumo (taip pat – ir oro temperatūros), geografinis atstumas šiuo atveju vaidino nereikšmingą vaidmenį. Sezoniškumas turėjo ryškų poveikį fitopatogeninių grybų (ypač – augalus infekuojančių per lapus ir ūglius) sporų

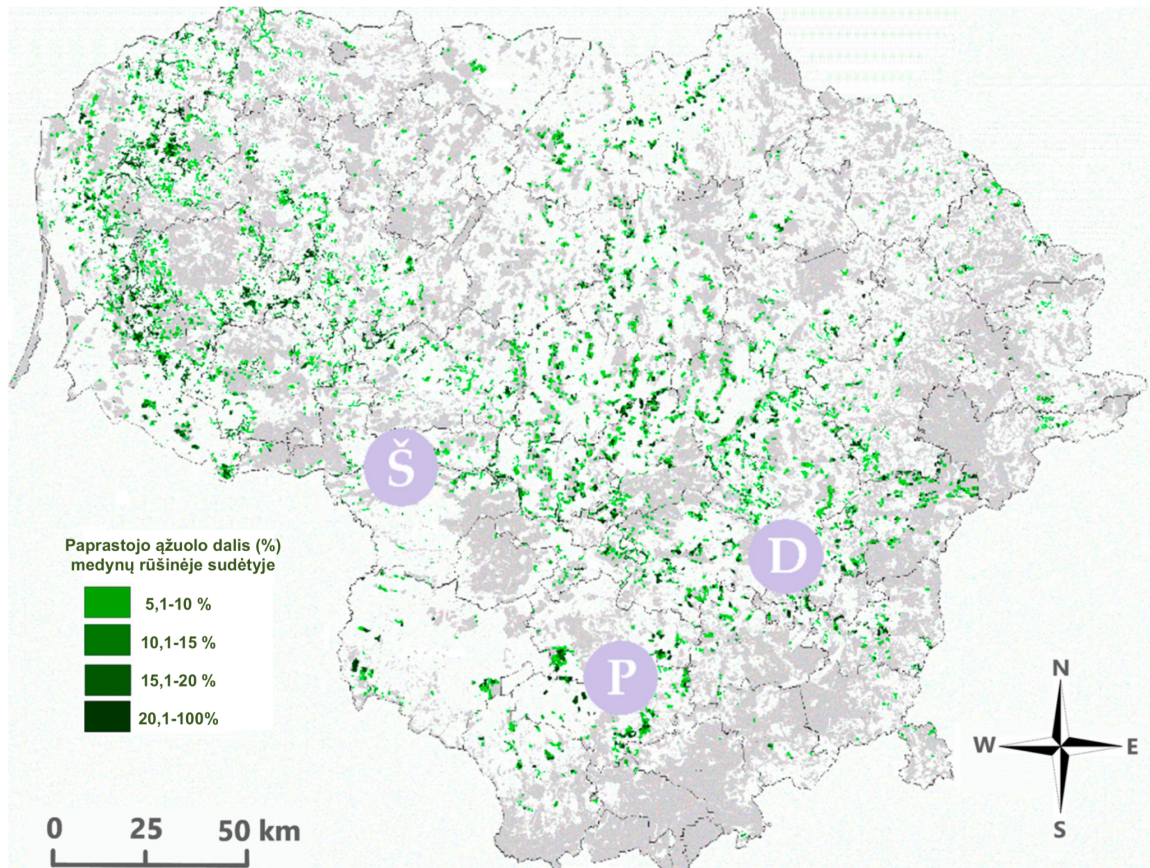
gausumui ore – jų daugiausiai užfiksuota vasaros metu. Iškelta hipotezė, kad tam tikrų grybų konkurencinis pranašumas tam tikrame augmenijos tipe gali leisti jiems kompensuoti plitimo apribojimus produkuojant didelius kiekius sporų, taip padidinant tikimybę, kad jos pasieks net ir dideliais atstumais nutolusius augalus-šeimininkus.

Marčiulynas ir kt. (2023a) atliko Lietuvos miškuose pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų grybų sporų įvairovės tyrimus, su tikslu iširti sezoninius ir konkrečioms vietovėms būdingus ore plintančių grybų įvairovės kaitos dėsningumus, daugiausia dėmesio skiriant augalų patogenams. Grybų sporų mėginiai buvo renkami dvylika mėnesių kas 7-10 dienų naudojant pasyvias sporų gaudykles, pastatytas trijose vietose, vakarų (Lenkimai), vidurio (Dubrava) ir rytų (Labanoras) Lietuvoje, mišriuose medynuose. Metagenomine analize nustatytas bendras grybų OTV skaičius siekė 805. Tyrimo rezultatai parodė, kad oru plintančių grybų įvairovę daugiausia lėmė miško augmenijos tipas ir meteorologinės sąlygos, o patogeninių grybų sporų gausumui įtakos turėjo jų augalų-šeimininkų prieinamumas (Marčiulynas *et al.*, 2023a).

Taigi, tyrimai apie grybų sporų įvairovę miško ekosistemose neabejotinai atveria naujas perspektyvas aplinkos mokslų ir ekologijos srityse. Vystant naujas tyrimo metodikas ir technologijas, mokslininkai turi galimybę detaliau iširti grybų bendrijų sudėtį ir jų vaidmenį ekosistemose, taip prisidėdami prie efektyvesnių ekosistemų apsaugos ir valdymo strategijų kūrimo. Šie tyrimai ne tik padeda geriau pažinti aplinką, bet ir įkvepia tolesniems žingsniams aplinkos apsaugos ir tvarumo link, užtikrinant, kad miško ekosistemos išliktų gyvybingos ir produktyvios ateities kartoms.

2. TYRINĖTŲ VIETŲVIŲ APRAŠYMAS

Grybų sporų taksonominei įvairovei ąžuolynuose ištirti pasirinkti trys Lietuvos saugomose teritorijose (draustiniuose) esantys paprastojo ąžuolo medynai – **Punios** (Alytaus raj., N 54°30'50.1", E 24°04'51.6"), **Dūkštų** (Vilniaus raj., N 54°49'57.2", E 24°57'15.0") ir **Šilinės** (Jurbarko raj., N 55°5'22.58", E 22°57' 13.85") (14 pav.).



14 pav. Lietuvos žemėlapis, kuriame nurodytos tyrimo vietovės: P – Punia, D – Dūkštos ir Š – Šilinė (adaptuota iš Marčiulynas, Menkis (2023))

Atrankos kriterijai šioms medynams buvo:

- Vidutinis ąžuolų amžius medyne daugiau nei 200 metų.
- ąžuolynai auga saugomų teritorijų griežtos apsaugos zonose.
- Juose yra žinomos į Lietuvos Raudonąją knygą įrašytų grybų radavietės.
- Medynai vienas nuo kito nutolę ne mažesniu kaip 70 km atstumu.

Pagal medžių rūšinę sudėtį Punios ir Dūkštų medynai yra panašūs, kadangi juose vyrauja paprastasis ąžuolas su nedideliais paprastosios eglės (*Picea abies* (L.) H. Karst.) ir baltalksnio (*Alnus incana* Moench) intarpais bei paprastuoju lazdynu (*Corylus avellana* L.), šermukšniu (*Sorbus* sp.) ir

guoba (*Ulmus* sp.), paprastą garšva (*Aegopodium podagraria* L.), didžiąja dilgėle (*Urtica dioica* L.) ir viksva (*Carex* sp.) pomiškyje. Šilinėje – grynas ąžuolynas su retu paprastosios ievos (*Prunus padus* L.) pomiškiu ir ana gausia viksvų (*Carex* spp.) danga. Punios ir Šilinės medynų dirva derlinga, pakankamai drėgna, t. y., gruntinis vanduo yra giliau nei 3 m nuo dirvožemio paviršiaus. Dūkštų ąžuolino dirva taip pat drėgna, tačiau dirvožemio derlingumas čia didesnis nei Punios ar Šilinės ąžuolynuose.

PUNIOS ŠILAS

Europos Bendrijos svarbos natūralių buveinių apsaugai svarbių teritorijų kriterijus atitinkančio Punios šilo teritorija užima 2703 ha plotą, kuri sudaro botaninis-zoologinis draustinis ir gamtinis rezervatas. Visame Punios šile yra aptikta 115 rūšių, įrašytų į Lietuvos RK (Dargienė, 2018). Čia gausu senų, gamtinę brandą pasiekusių, medžių. Šile vyrauja 110-200 m. amžiaus pušynai ir 150-200 m. amžiaus ąžuolynai, tačiau pasitaiko ir vyresnių nei 200 m. amžiaus pušų bei 400 (600) metų sulaukusių ąžuolų. Punios šilo gamtinėmis vertybėmis domėjosi ir mokslinius tyrimus čia atliko šie tyrėjai: 2005 m. mikologiniai (grybų) tyrimai (dr. R. Iršėnaitė), 2006 m. lichenizuotų grybų (kerpių) tyrimai (dr. J. Motiejūnaitė), 2008-2011 m. kriptogamų (grybų, kerpių, samanų) tyrimai (dr. Ž. Preikša), 2011 m. lichenizuotų grybų (kerpių) tyrimai (dr. P. Lohmus) (Dargienė, 2018).

Pagal Lietuvos Respublikos Vyriausybės 2015 m. vasario 18 d. išleisto nutarimo Nr. 186 (suvestinė redakcija nuo 2022-05-07) „Dėl Nemuno kilpų regioninio parko planavimo schemas (ribų ir tvarkymo planų) patvirtinimo“ (<https://e-seimas.lrs.lt>) 4.1.1. punktą, Punios šilo gamtiniam rezervatui iškeltas tikslas išsaugoti pirmąkart Lietuvos girių bruožus išlaikiusį unikalų Punios šilo gamtinį kraštovaizdį su sengirei būdingomis ir gausiai aptinkamomis, įvairiomis saugomomis gyvūnų, augalų bei grybų rūšimis ir jų natūraliomis buveinėmis, o pagal 4.1.9. punktą – Punios šilo teritorijoje esančiam botaniniam-zoologiniam draustiniui, iškeltas tikslas išsaugoti etalonines Punios šilo natūralias buveines su sengirių tipo medynais, medžiais-gamtos paminklais, gyvūnų, augalų bei grybų rūšimis, iš pastarųjų – ypač ąžuolinio pintenio (*Piptoporus quercinus* (Schrad.) P. Karst.), ąžuolinės baktrosporos (*Bactrospora dryina* (Ach.) A. Massal.), skėtriosios briedragės (*Evernia divaricata* (L.) Ach.) ir labai gausias populiacijas draustinyje turinčiomis plačiosios platužės (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.), skylėtosios menegacijos (*Menegazzia terebrata* (Hoffm.) A. Massal.), ąžuolinės kepenos (*F. hepatica*), krockinio minkštenio (*Hapalopilus croceus* (Pers.) Donk, karpotosios kempės (*Trametes gibbosa* (Pers.) Fr.) ir skaisčiosios raudonpintėlės (*Pycnoporellus fulgens* (Fr.) Donk) rūšimis.

DŪKŠTŲ AŽUOLYNAS

Vilniaus rajone augantis Dūkštų ažuolynas – vienas didžiausių ir seniausių natūralių iki šių dienų Lietuvoje išlikusių ažuolynų. Jis užima net 300 ha plotą. Didžiosios dalies čia augančių ažuolų amžius siekia daugiau kaip 200 metų. Dėl ažuolyno buveinių ir joms būdingų rūšių retumo Europoje ir Lietuvoje – teritorija svarbi tarptautiniu mastu. Dūkštų ažuolyne aptiktos net 77 retos ir saugomos gyvūnų, augalų, kerpių ir grybų rūšys ir nustatyti 5 Europos Bendrijos svarbos natūralių buveinių tipai. Ažuolyno teritorijoje 1996 m. įsteigta 35 ha ploto Dūkštų gamtiniame rezervate saugoma etaloninė brandaus ažuolyno bendrija ir plačialapių miškams būdinga gamtinė aplinka (Valstybinė saugomų teritorijų tarnyba prie Aplinkos ministerijos, 2024).

ŠILINĖS BOTANINIS DRAUSTINIS

Šilinės botaninis draustinis (plotas – 36,5 ha) įsteigtas prie Panemunių regioninio parko lankytojų centro esančiame Ažuolynės miške (Jurbarko r.). Pagal Lietuvos Respublikos Vyriausybės 2001 m. lapkričio 7 d. išleisto nutarimo Nr. 1311 „Dėl Panemunių regioninio parko, jo zonų ir parko apsaugos zonos ribų patvirtinimo“ (<https://e-seimas.lrs.lt>) 3.14. punktą, draustinio įsteigimo tikslas – išsaugoti lėkštame šlaite ir senose negiliose raguvose susiformavusius medynus.

3. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODAI

3.1. Pavyzdžių surinkimas

Siekiant sugauti oru plintančias grybų sporas bei įvertinti jų taksonominę įvairovę nuspręsta kiekviename medyne – Punios, Dūkštų, Šilinės – įrengti pasyvias sporų gaudyklės (**15 pav.**). Kiekvieną iš jų sudarė 9 cm skersmens Munktell filtrinio popieriaus (pagamintas iš porėtos medvilnės, sulaikančios 5-6 μm daleles, 1F klasė) skritulys (Ahlstrom-Munksjö, Stokholmas, Švedija), įmontuotas tarp dviejų (10 × 10 cm) nerūdijančio plieno tinklelių (1 × 1 cm akutėmis), horizontaliai pritvirtintų prie 0,8 m ilgio lazdos, stabiliai įsmeigtos į dirvožemį.



15 pav. Tyrime naudota pasyvi sporų gaudyklė (autorės nuotr.)

Visuose trijuose ąžuolynuose sporų gaudyklės buvo pastatytos 2022 m. rugpjūčio 23 d. ir filtrinio popieriaus skrituliai su prikibusiomis sporomis buvo surenkami kartą per savaitę, iš viso – 5 kartus (t. y., 5 savaitių laikotarpyje). Tokiu būdu, sporų pavyzdžiai (t. y., filtrinio popieriaus skrituliai) buvo surinkti 2022 m. rugpjūčio 30 d., rugsėjo 7, 13, 21 ir 27 d. Reikia paminėti, kad sporų gaudyklės buvo statomos 5, 25, 50, 150 ir 300 m atstumu nuo kiekviename tirtame ąžuolyne rasto *F. hepatica* vaisiakūnio (rišantis prie Marčiulyno ir Menkio tuose pačiuose objektuose atlikto tyrimo (Marčiulynas, Menkis, 2023)), vyraujančių vėjų kryptimi, t. y., iš vakarų į rytus. Taigi, kiekviename medyne vienu metu buvo pastatyta po 5 gaudyklės. Kiekvienos iš šių gaudyklių filtrinis popierius keistas kartą per savaitę, todėl iš viso tyrimui surinkti 75 mėginiai – po 25 iš kiekvieno ąžuolyno. Geografinės sporų gaudyklių statymo taškų koordinatės fiksuotos GPS imtuvu *Magellan Explorer*

310. Meteorologiniai duomenys kiekvienoje vietovėje buvo fiksuojami temperatūros ir drėgmės matuokliu Uni-T UT330C (Uni-Trend Technology, Dongguan, Kinija).

Lauko darbai atlikti talkinant ir konsultuojant dr. Adui Marčiulynui (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Miškų instituto Miško apsaugos ir medžioklėtyros skyrius).

3.2. Molekuliniai tyrimai

3.2.1. Mėginių paruošimas, genominės DNR išskyrimas

Visuminės grybų DNR skyrimas ir mėginių paruošimas vykdytas pagal Marčiulyno ir kt. (2022) metodiką:

- Po ketvirtadalį kiekvieno filtrinio popieriaus skritulio susmulkinta į mažesnius gabalėlius, sudėta į atskirus sterilius 15 ml talpos Falcon tipo mėgintuvėlius, užpilta 5 ml CTAB (cetiltrimetilamonio bromido) buferiu (0.5 M EDTA pH 8.0, 1 M Tris-HCl pH 8.0, 5 M NaCl, 3 % CTAB) (Rosling *et al.*, 2003) ir kaitinta 6-8 val. 60 °C temperatūroje, kas valandą papurtant Vortex purtykle.
- Po mėginių kaitinimo po 1000 µl CTAB ištirpinto mėginio perpilta į atskirus sterilius 2 ml talpos centrifugavimo mėgintuvėlius (užsukamu dangteliu) ir centrifuguota *Heraeus FRESCO 21* (Thermo Scientific, JAV) centrifuga 5 min. prie 13000 aps./min. apsukų.
- Po centrifugavimo, viršutinė mėginio frakcija (supernatantas) – apie 600 µl – perkelta į naujus sterilius 1,5 ml talpos Eppendorf'o mėgintuvėlius, sumaišyta su tokiu pat kiekiu chloroformo, santykiu 1:1, suplakta ranka ir centrifuguota 8 min. prie 10000 aps./min. apsukų.
- Į naujus sterilius 1,5 ml talpos Eppendorf'o mėgintuvėlius perkelta apie 500 µl supernatanto, siekiant išvengti kontakto su vidurinę frakciją užėmusiu chloroformu, sumaišyta su -20 °C temperatūros izopropanoliu santykiu 1:2, suplakta ranka ir centrifuguota 20 min. prie 13000 aps./min. apsukų.
- Visas skystis pašalintas, nuosėdos užpiltos 500 µl 70 % etanoliu. Centrifuguota 5 min. prie 13000 aps./min. apsukų.
- Visas skystis pašalintas, mėgintuvėliai su jose likusiomis nuosėdomis (DNR) palikti džiuoti (atidarytais dangteliais) kambario temperatūroje apie 1-2 val.
- Pasibaigus džiovinimo procesui, kiekvienas DNR pavyzdys užpiltas 30 µl sterilaus mili-Q vandens.
- DNR iš kiekvieno mėginio buvo toliau gryninama naudojant NucleoSpin®Soil rinkinį (Macherey-Nagel GmbH & Co. Duren, Vokietija), pagal gamintojo rekomendacijas.

- Gautos visuminės DNR koncentracija matuota naudojant NanoDrop™ One spektrofotometrą (Thermo Scientific, Rodchester, NY, JAV). Pamatavus koncentraciją, jei reikia, pavyzdžiai atskiesti steriliu mili-Q vandeniui iki 10 ng/μl.
- Ištirpusi DNR saugota -20 °C temperatūroje, šaldiklyje.

3.2.2. DNR gausinimas PGR metodu

Visuminė DNR buvo pagausinta (amplifikuota) atliekant polimerazės grandininę reakciją (PGR) taikant Marčiulyno ir kt. (2022) metodiką:

- Paruoštas PGR mišinys, kurį sudarė: 24,50 μl distiliuoto vandens, 5 μl PGR buferio, 1 μl dNTP, 1,25 μl MgCl₂ ir 0,25 μl *DreamTaq Green* polimerazės (Thermo Scientific, Waltham, MA, JAV).
- Reakcijos vykdytos naudojant oligonukleotidinius pradmenis: grybams specifinį gITS7 (Ihrmark *et al.*, 2012) bei universalų pradmenį ITS4 (White *et al.*, 1990), su integruotais mėginių identifikacijai ir atsekamumui skirtais žymenimis („barkodais“).
- Reakcijai vykti naudota po 8 μl DNR pavyzdžio ir po 10 μl paruošto PGR mišinio.
- Amplifikacija atlikta naudojant *Applied Biosystems 2720* termociklerį (Applied Biosystems, Foster City, JAV).
- PGR sąlygos: pradinis denatūracijos etapas – 5 min. 94 °C temperatūroje, po kurio sekė 30 PGR ciklų tokia tvarka: 30 s – 94 °C, 30 s – 52 °C, 45 s – 72 °C, ir, reakcijos pabaigoje, 10 min. palaikyta 72 °C temperatūroje.

PGR produktai analizuoti elektroforezės metodu, 1,5 % agarozės gelyje, dažytame gelio dažu *Nancy-520* (Sigma-Aldrich, Stokholmas, Švedija), 300V įtampos režimu SB buferyje. Gauti rezultatai (PGR produktų koncentracija) analizuoti naudojant *GelDoc™ 2000* (BioRad, JAV) dokumentavimo sistemą.

PGR produktų gryninimas atliktas naudojant 3 M natrio acetatą (pH 5,2) (Applichem GmbH, Darmstadt, Vokietija) ir 96 % etanolio mišinį (1:2):

- Į kiekvieną PGR reakcijos metu gautą mėginį įpilta po 20 μl 3M natrio acetato (NaAc) ir suplakta ranka.
- Kiekvieno mėgintuvėlio turinys sumaišytas su 400 μl -20 °C temperatūros 96 % koncentracijos etanolio ir vėl apie 10 s plaktas ranka.
- Mėgintuvėliai 20-čiai minučių patalpinti į -70 °C temperatūros šaldiklį.
- Išėmus iš šaldiklio, mėgintuvėliai centrifuguoti 5 min. prie 13000 aps./min. apsukų.

- Po centrifugavimo, skystis nupiltas, o mėgintuvėlio dugne likusios DNR nuosėdos išvalytos užpilant 500 µl 70 % koncentracijos 4 °C temperatūros etanolio.
- Po dar vieno centrifugavimo 5 minutes prie 13000 aps./min. apsukų, visas etanolis pašalintas.
- DNR nuosėdos džiovintos kambario temperatūroje apie 30 min.
- Po to, kiekviename mėgintuvėlyje DNR nuosėdos ištirpintos 30 µl sterilaus mili-Q vandens.
- Išgrynintų PGR produktų kiekybinis įvertinimas atliktas naudojant *Qubit 4.0* fluorometrą (Life Technologies, Stockholm, Švedija).

PGR ir po jos sekantys veiksmai kiekvienam mėginiui buvo atlikti po 4 kartus, siekiant išgauti tinkamą produkto kiekį (ne mažiau kaip 200 µl). Tuomet, po visų analizių, visi pavyzdžiai supilti vienodomis proporcijomis pagal jų koncentraciją į vieną mėgintuvėlį, ir taip paruošta sekvenavimo biblioteka, išsiųsta metagenomo sekoskaitai į Švediją (PacBio RSII platforma – SciLifeLab, Upsala, Švedija).

Visi laboratoriniai darbai atlikti talkinant ir konsultuojant dr. Adui Marčiulynui (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Miškų instituto Miško apsaugos ir medžioklėtyros skyrius).

3.3. Bioinformatinė analizė

Vykdytas gautų rDNR ITS regiono sekų filtravimas, tvarkymas, lygiavimas (talkinant kolegoms iš Švedijos agrarinių mokslų universiteto (SLU, dr. Audrius Menkis) naudota platforma – *SCATA NGS sequencing pipeline* (<https://scata.mykopat.slu.se>)). Kokybinis sekų filtravimas atliktas šalinant trumpas (<200 bazių porų (toliau – bp)) sekas, taip pat – žemos ir vidutinės skaitymo kokybės sekas, pradmenų dimerus ir homopolimerus, iki klasterizavimo išskaidytus iki 3 bp. Sekos, kuriose trūko žymens („barkodo“) ar pradmenų – taip pat pašalintos. Filtruojant toliau, sekos buvo grupuojamos į skirtingus operatyvinius taksonominius vienetus (OTV), naudojant vienetinės jungties (angl. *single linkage*) grupavimą, pagrįstą didesniu nei 99,0 % sekų sutapimu tarpusavyje.

3.4. Grybų taksonų identifikavimas ir priskyrimas trofinėms grupėms

Gautos DNR sekos identifikuotos naudojantis Genų Banko (GenBank; National Center for Biotechnology Information NCBI) duomenų baze, BLASTn algoritmu (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Darbo eigoje, visų OTV sekos buvo palygintos tarpusavyje ir, paaiškėjus, kad nei vienu atveju dviejų sekų tarpusavio panašumas nesiekė 95,0 %, kiekvienas OTV prilygintas unikaliam taksonui (tikėtina – unikaliam grybo rūšiai).

Taksonams identifikuoti taikyti šie kriterijai: identifikuojamos sekos persidengimas su referencine seka Genų Banke turėjo siekti ne mažiau kaip 80 %. Referencine seka šiuo atveju vadinama Genų Banko duomenų bazėje esanti rDNR ITS regiono seka, kuri, tikėtina, yra teisingai identifikuota, ir su kuria BLASTn algoritmo pagalba lyginant identifikuojamo organizmo rDNR ITS regiono seką gaunamas didžiausias tarpusavio panašumas (sekų sutapimo procentas). Priskyrimas taksonominiam grybų skyriui – kai identifikuojamos sekos sutapimas su referencine seka siekė $\geq 50,0$ %, klasei – kai $\geq 70,0$ %, eilei – kai $\geq 81,0$ %, šeimai – kai $\geq 88,0$ %, genčiai – kai $\geq 97,0$ %, rūšiai – kai $\geq 99,0$ %. Nuo šių kriterijų nukrypstančios sekos buvo priskirtos aukštesniam taksonominiam lygiui (pvz., identifikuojamos sekos sutapimui su referencine seka siekiant 98,0 %, grybas identifikuojamas ne iki rūšies, bet iki genties lygmens, o sutapimui siekiant 87,0 % – ne iki šeimos, bet iki eilės lygmens). Kuomet identifikuojamos sekos sutapimas su referencine seka siekė $< 81,0$ %, toks OTV įvardintas kaip neidentifikuotas taksonas („Unidentified sp.“), suteikiant unikalų identifikacinį numerį.

Svarbu paminėti, kad tyrimo metu buvo atmestos visos *Malasseziomycetes* klasei priklausančių grybų sekos, kadangi šios klasės atstovai yra išimtinai susiję su gyvūnų (įskaitant žmogų) oda, tad, veikiausiai, į pavyzdžius jie galėjo patekti kaip užkratas.

Darbe naudoti papildomi įrankiai taksonams identifikuoti (filogenetinių medžių sudarymas):

- „MAFFT version 7“ (<https://mafft.cbrc.jp>).
- „iTOL: Interactive Tree Of Life“ (<https://itol.embl.de>).

Siekiant pateikti aktualius grybų taksonų pavadinimus, jie buvo papildomai tikslinami pasitelkiant MycoBank (www.mycobank.org) duomenų bazėje pateiktą informaciją.

Darbe naudojamas terminas „santykinis sporų gausumas“ reiškia NGS pagalba sugeneruotų identiškų (t. y., priskirtų tam pačiam operatyviam taksonominiam vienetui) sekų pasikartojimo dažnį. Kitaip tariant, šiuo atveju tam tikro taksono santykinis sporų gausumas atitinka jam priskirtų identiškų DNR sekų skaičių (**1 priedas**).

Identifikuotų grybų taksonai į trofines grupes skirstyti remiantis FUNGuild (versija 1.1) duomenų bazėje (Nguyen *et al.*, 2016) naudojama klasifikacija: (1) patotrofas – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis iš parazituojamo organizmo (šeimininko), pažeidžiant jo ląsteles (patotrofams taip pat priskiriami fagotrofai); (2) simbiotrofas – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis keičiantis ištekliais su šeimininko (simbionto) ląstelėmis; ir (3) saprotrofas – mikroorganizmas, maistines medžiagas gaunantis skaidant negyvas šeimininko ląsteles ar kitą negyvą organinę medžiagą.

3.5. Statistinė duomenų analizė

Grybų taksonų skaičiaus kaupimosi kreivės nustatytų taksonų skaičiaus augimo priklausomybei nuo pavyzdžių skaičiaus (santykinio sporų gausumo) apibūdinti braižytos naudojant internetinį įrankį iNEXT: <https://chao.shinyapps.io> (Chao *et al.*, 2016). Grybų bendrijų panašumams tarp skirtingų tyrimo vietų ir skirtingais sporų gaudymo periodais įvertinti atlikta permutacinė daugiakriterė dispersijos analizė (PERMANOVA) su Bray-Curtis atstumo metrika, naudojant *adonis2* funkciją *vegan* statistinės analizės paketo *RStudio* v. 4.2.3 (RStudio Team, 2020) aplinkoje. Metagenominės analizės duomenims pritaikius minimalaus pavyzdžio dydžio ir bendros sumos normalizaciją šio paketo pagalba atlikta nemetrinė daugiamatė duomenų (NMDS) analizė. Veno (Venn) diagramos, padedančios atvaizduoti loginius ryšius tarp tiriamųjų objektų, braižytos naudojantis internetinį įrankį <https://bioinformatics.psb>.

Norint palyginti grybų bendrijų rūšinę (taksonų) sudėtį bei rūšių (taksonų) sudėties panašumą tarp skirtingų medynų, naudotas Sorensen'o panašumo indeksas (Sørensen, 1948). Kokybinis Sorensen'o panašumo indeksas (SI_q) apskaičiuotas pagal formulę:

$$SI_q = 2j/(a+b) \quad (1)$$

kur *a* – taksonų skaičius *a* medyne; *b* – taksonų skaičius *b* medyne; *j* – taksonų, bendrų medynams *a* ir *b*, skaičius. Indekso reikšmė: 0 – visiškai nesutapimas, 1 – visiškai sutapimas.

Kiekybinis Sorensen'o panašumo indeksas (SI_n) apskaičiuotas pagal formulę:

$$SI_n = 2jN/(aN+bN) \quad (2)$$

kur *aN* – santykinis sporų gausumas *a* medyne; *bN* – santykinis sporų gausumas *b* medyne; *jN* – to paties taksono, esančio dviejuose (abiejuose) lyginamuose medynuose, mažesnių gausumų suma. Indekso reikšmė: 0 – visiškai nesutapimas, 1 – visiškai sutapimas (Kanieski *et al.*, 2018).

Shannon'o įvairovės indeksas (kartais vadinamas Shannon'o-Wiener'io indeksu) skirtas įvertinti rūšių (taksonų) įvairovę tam tikros grupės organizmų bendrijose (Shannon, 1948). Šis indeksas, žymimas raide *H*, apskaičiuojamas pagal formulę:

$$H = -\sum p_i \times \ln(p_i) \quad (3)$$

kur *p_i*: visos organizmų bendrijos dalis (%), kurią sudaro *i* rūšis (taksonas). Didėjant rūšių (taksonų) įvairovei konkrečioje organizmų bendrijoje indekso *H* reikšmė didėja. Shannon'o indekso

vertė lygi nuliui, kai mėginyje yra tik viena rūšis, ir didėja su kiekviena papildoma rūšimi. Paprastai indekso vertė svyruoja nuo 1,3 iki 3,5, tačiau kai kuriais atvejais gali viršyti 4,0 (Kanieski *et al.*, 2018).

Pielou tolygumo indeksas (Pielou, 1966) rodo, kaip tolygiai pasiskirstęs individų skaičius tarp rūšių. Bendrija yra visiškai tolygi, jei visos rūšys joje paplitusios vienodomis proporcijomis, ir netolygi, jei gausumo pasiskirstyme dominuoja viena rūšis. Pielou indeksas (žymimas raide J) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$J = -H / \ln(R) \quad (4)$$

kur H – Shannon'o įvairovės indeksas, o R – rūšių (taksonų) skaičius konkrečioje bendrijoje. Pielou tolygumo indekso J reikšmė svyruoja nuo 0 iki 1, kur reikšmė „1“ reiškia, kad visų rūšių yra vienodai daug (Kanieski *et al.*, 2018).

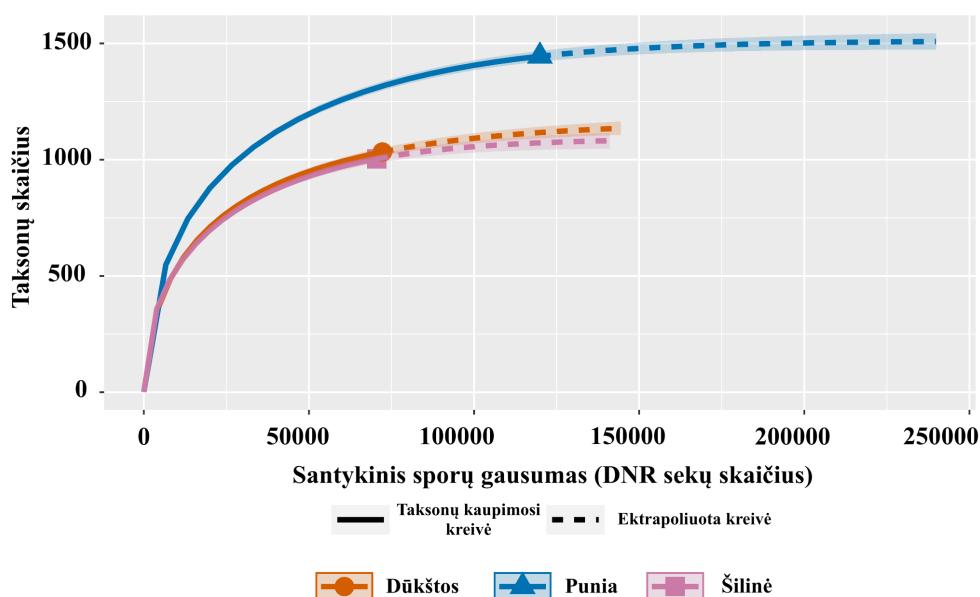
Statistiniai Sorensen'o panašumo, Shannon'o įvairovės, Pielou rūšių (taksonų) išsidėstymo tolygumo indeksų, Pearson'o koreliacijos koeficientų skaičiavimai, Student'o t-testai bei regresinė analizė atlikti naudojant Microsoft Office Excel programą.

4. REZULTATAI

4.1. Grybų taksonominė įvairovė ir santykinis gausumas tirtuose medynuose

Metagenomine sekoskaita iš viso buvo sugeneruota apie 2,9 mln. ITS regiono DNR sekų. Po sugrupavimo ir kokybės kontrolės (filtravimo) gauta 956 tūkst. sekų, iš kurių, atmetus kitų organizmų (augalų) sekas, vienintelį kartą pasikartojančias sekas bei *Malasseziomycetes* klasės grybų sekas, liko 262755 geros kokybės grybų sekos (vidutinis sekos ilgis – 277 bp; minimalus – 207 bp, maksimalus – 552 bp). Šios sekos, po kruopščios taksonominės analizės, buvo sugrupuotos į 1881 operatyvinius taksonominius vienetus (OTV) (1 priedas).

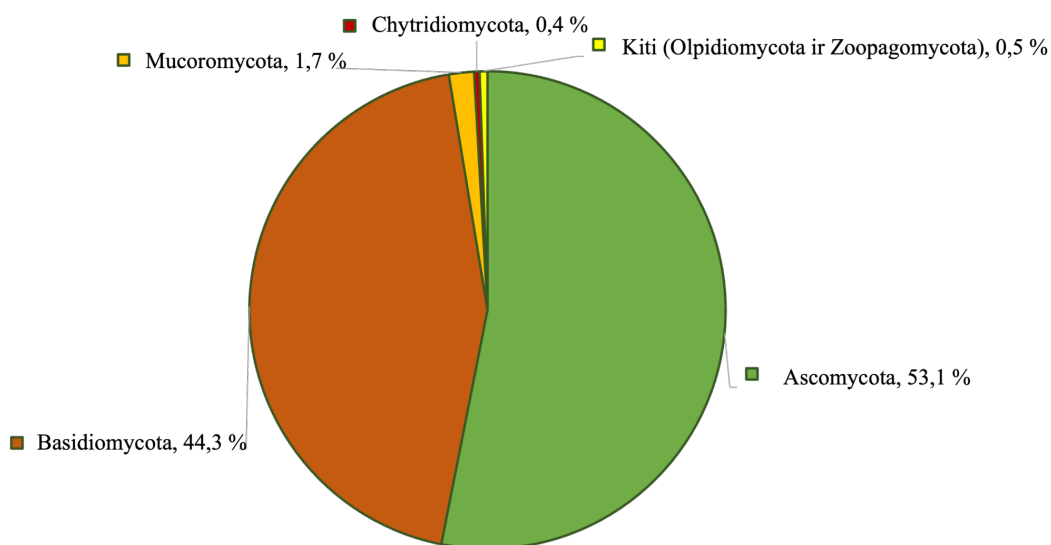
16 paveiksle pateiktos šio darbo metu nustatytų grybų taksonų skaičiaus kaupimosi kreivės, rodančios taksonų skaičiaus augimo priklausomybę nuo pavyzdžių skaičiaus (santykinio sporų gausumo) augimo tirtuose ažuolynuose. Kaip matome, nei viena kreivė nėra priartėjusi prie savo asimptotės, nors Punios ažuolyno taksonų kaupimosi ekstrapoliuota kreivė praktiškai ją pasiekia šiek tiek viršijant 1500 taksonų skaičių. Tai rodo, kad grybų taksonų (rūšių) įvairovė šiuose medynuose dar nėra išsemta ir tolimesnis/intensyvesnis sporų gaudymas tikrai praplėstų nustatytų taksonų sąrašą. Dūkštų ir Šilinės ažuolynuose tiek grybų taksonų skaičius, tiek realus santykinis sporų gausumas yra labai panašūs, tuo tarpu Punioje taksonų įvairovė yra akivaizdžiai didesnė (prie maždaug 70 tūkst. sugeneruotų DNR sekų Dūkštose ir Šilinėje nustatyta po maždaug 1000 taksonų, o Punioje – apie 1300).



16 pav. Taksonų skaičiaus kaupimosi (akumuliacinės, rarefakcijos) kreivės, rodančios nustatytų taksonų skaičiaus augimo priklausomybę nuo pavyzdžių skaičiaus (santykinio sporų gausumo) augimo tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ažuolynuose.

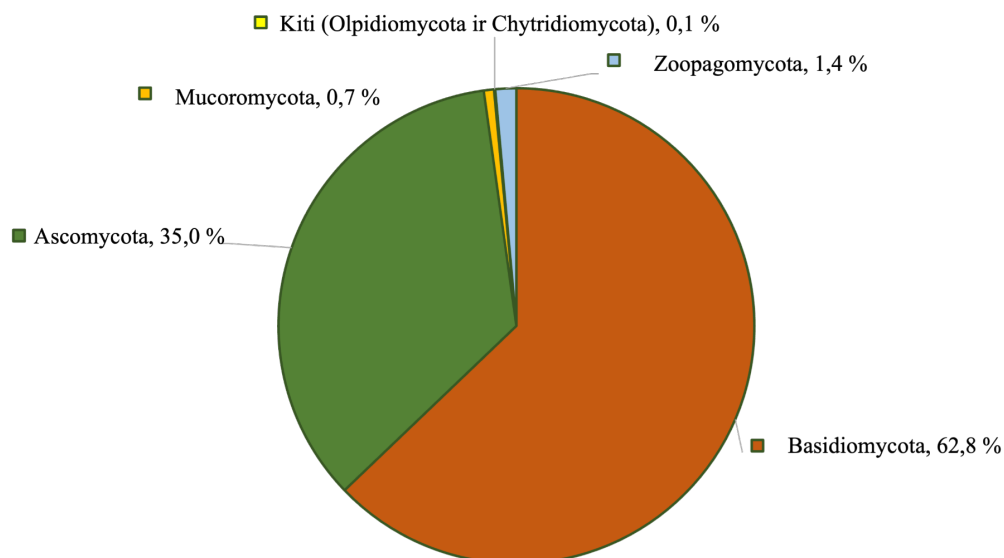
Pagal sekoms nustatytus identifikavimo kriterijus, visi OTV (100 %) suskirstyti į 6 skyrius, 1861 OTV (98,9 %) suskirstyti į 36 klases. Iš visų 1881 OTV, 605 (32,2 %) pavyko identifikuoti iki rūšies lygmens, 374 (19,9 %) – iki genties, 424 (22,5 %) – iki šeimos ir 314 (16,7 %) – iki eilės lygmens. Likusieji 165 OTV (8,8 %) pavadinti „Unidentified sp.“, suteikiant unikalų identifikacinį numerį ir priskiriant atitinkamam taksonominiam skyriui ar klasei (jei žinoma) (**1 priedas**).

Iš 1881 OTV, aukšliagybių (*Ascomycota*) taksonominiam skyriui priskirti 999 taksonai (53,1 %), papėdgrybių (*Basidiomycota*) – 833 taksonai (44,3 %), kitiems grybų taksonominiams skyriams (*Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota* ir *Zoopagomycota*) priskirti tik 49 taksonai (2,6 %) (**17 pav., 1 lentelė**).



17 pav. Taksonominių grybų skyrių pasiskirstymas pagal identifikuotų taksonų skaičių tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai).

Tačiau, pagal santykinę sporų gausumą (šis terminas paaiškintas darbo 3.4 skyriuje) grybų skyriai pasiskirstė kiek kitaip: 62,8 % sudarė *Basidiomycota*, 35,0 % – *Ascomycota*, 1,4 % – *Zoopagomycota*, 0,7 % – *Mucoromycota*. *Olpidiomycota* ir *Chytridiomycota* skyrių atstovų santykinis sporų gausumas kartu sudarė 0,1 % (**18 pav., 1 lentelė**).



18 pav. Taksonominių grybų skyrių pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ažuolynuose (visų ažuolynų duomenys pateikiami bendrai)

Tyrimo metu, 1861 grybų taksonai priskirti 36 klasėms (**1 lentelė**). Neidentifikuota iki klasės liko 20 OTV (1,1 %). Pagal klases grybų taksonai pasiskirstė taip: *Agaricomycetes* (*Basidiomycota*) – 23,1 %, *Dothideomycetes* (*Ascomycota*) – 17,9 %, *Sordariomycetes* (*Ascomycota*) – 9,4 %, *Leotiomycetes* (*Ascomycota*) – 9,2 %, *Tremellomycetes* (*Basidiomycota*) – 8,1 % ir *Eurotiomycetes* (*Ascomycota*) – 7,4 %. Kitoms klasėms priskirta kiek mažiau OTV: *Microbotryomycetes* (*Basidiomycota*) – 2,9 %, *Lecanoromycetes* (*Ascomycota*) – 2,8 %, *Cystobasidiomycetes* ir *Exobasidiomycetes* (abu *Basidiomycota*) – po 2,5 %, *Agaricostilbomycetes* (*Basidiomycota*) ir *Orbiliomycetes* (*Ascomycota*) – po 1,6 %, *Saccharomycetes* (*Ascomycota*) – 1,2 %, *Pucciniomycetes* (*Basidiomycota*) ir *Taphrinomycetes* (*Ascomycota*) – po 1,1 %. Likusioms klasėms priskirta po mažiau nei 1,0 % OTV.

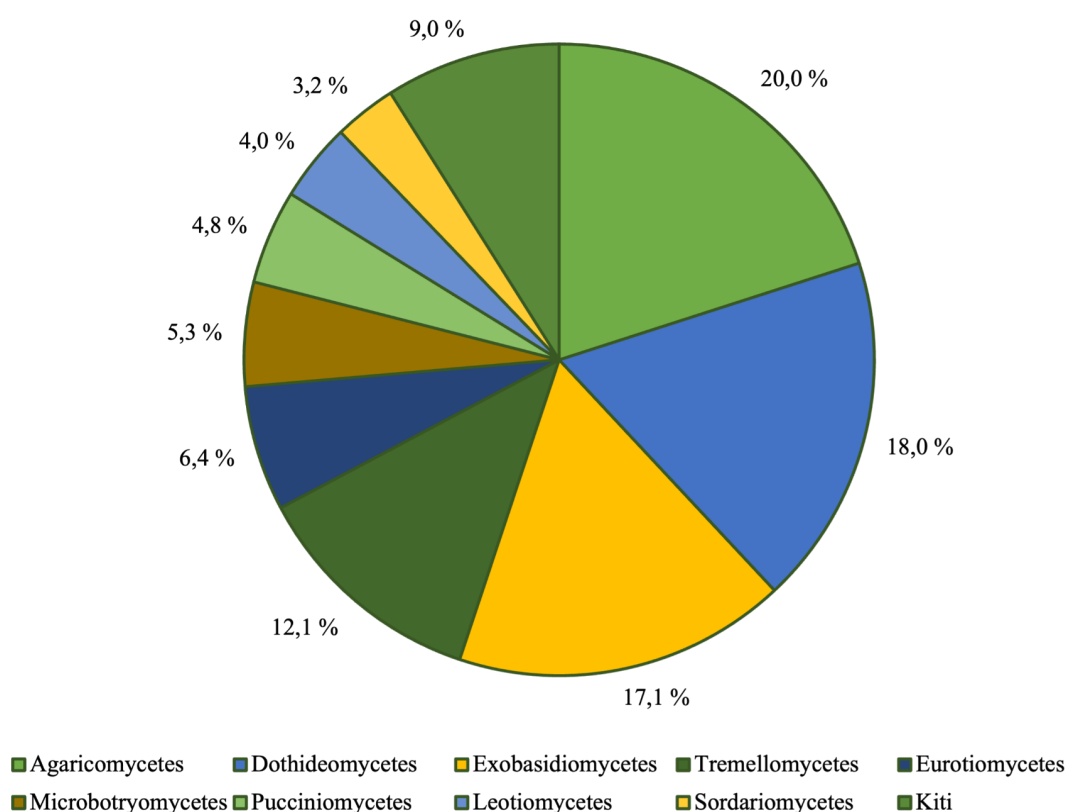
1 lentelė. Pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinis gausumas (termino paaiškinimą žr. darbo 3.4 skyriuje) ir nustatytų taksonų skaičius pagal grybų taksonomines klases tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ažuolynuose. Pavyzdžiai rinkti 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn.

Skyrius	Klasė	Šilinės ažuolynas			Punios ažuolynas			Dūkštų ažuolynas			Visi medynai		
		Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius
<i>Ascomycota</i>	<i>Archaeorhizomycetes</i>	9	0,013	1	14	0,012	1	13	0,018	1	36	0,014	1
<i>Ascomycota</i>	<i>Arthoniomycetes</i>	42	0,060	8	90	0,075	14	42	0,058	8	174	0,066	16
<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	19664	27,866	212	14941	12,457	238	12642	17,498	190	47247	17,981	337
<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	2157	3,057	79	7987	6,659	105	6687	9,255	91	16831	6,406	139
<i>Ascomycota</i>	<i>Lecanoromycetes</i>	461	0,653	29	1263	1,053	39	514	0,711	33	2238	0,852	53
<i>Ascomycota</i>	<i>Leotiomycetes</i>	3967	5,622	110	4158	3,467	134	2421	3,351	98	10546	4,014	173
<i>Ascomycota</i>	<i>Orbiliomycetes</i>	146	0,207	11	272	0,227	25	139	0,192	14	557	0,212	31
<i>Ascomycota</i>	<i>Pezizomycetes</i>	475	0,673	7	720	0,600	9	429	0,594	6	1624	0,618	10
<i>Ascomycota</i>	<i>Saccharomycetes</i>	144	0,204	17	214	0,178	14	100	0,138	12	458	0,174	22
<i>Ascomycota</i>	<i>Sareomycetes</i>	7	0,010	2	18	0,015	2	10	0,014	1	35	0,013	2
<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	1663	2,357	95	3032	2,528	134	3712	5,138	110	8407	3,200	177
<i>Ascomycota</i>	<i>Taphrinomycetes</i>	1032	1,462	9	1109	0,925	18	900	1,246	14	3041	1,157	20
<i>Ascomycota</i>	<i>Xylonomycetes</i>	5	0,007	1	2	0,002	1	0	0,000	0	7	0,003	1
<i>Ascomycota</i>	Nenustatyta klasė	134	0,190	11	287	0,239	14	237	0,328	12	658	0,250	17
Visi <i>Ascomycota</i>		29906	42,380	592	34107	28,437	748	27846	38,542	590	91859	34,960	999
<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	16712	23,682	210	18966	15,813	329	16997	23,526	209	52675	20,047	435
<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricostilbomycetes</i>	153	0,217	15	408	0,340	24	302	0,418	18	863	0,328	31
<i>Basidiomycota</i>	<i>Atractiellomycetes</i>	7	0,010	1	10	0,008	2	11	0,015	2	28	0,011	3
<i>Basidiomycota</i>	<i>Classiculomycetes</i>	13	0,018	2	10	0,008	1	15	0,021	1	38	0,014	2

Skyrius	Klasė	Šilinės ažuolynas			Punios ažuolynas			Dūkštų ažuolynas			Visi medynai		
		Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius
<i>Basidiomycota</i>	<i>Cystobasidiomycetes</i>	910	1,290	27	2712	2,261	37	1054	1,459	31	4676	1,780	47
<i>Basidiomycota</i>	<i>Dacrymycetes</i>	290	0,411	1	14	0,012	2	10	0,014	1	314	0,120	2
<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	4053	5,743	16	27802	23,180	43	13035	18,042	23	44890	17,084	47
<i>Basidiomycota</i>	<i>Geminibasidiomycetes</i>	165	0,234	2	133	0,111	2	112	0,155	3	410	0,156	3
<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	3548	5,028	23	8247	6,876	47	2205	3,052	26	14000	5,328	55
<i>Basidiomycota</i>	<i>Pucciniomycetes</i>	8175	11,585	11	882	0,735	15	3631	5,026	13	12688	4,829	21
<i>Basidiomycota</i>	<i>Spiculogloeomycetes</i>	14	0,020	6	52	0,043	11	76	0,105	12	142	0,054	16
<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	4127	5,848	62	22042	18,378	133	5683	7,866	62	31852	12,122	152
<i>Basidiomycota</i>	<i>Tritirachiomycetes</i>	1	0,001	1	1	0,001	1	1	0,001	1	3	0,001	1
<i>Basidiomycota</i>	<i>Ustilaginomycetes</i>	1078	1,528	5	902	0,752	9	156	0,216	6	2136	0,813	11
<i>Basidiomycota</i>	<i>Wallemiomycetes</i>	56	0,079	2	62	0,052	3	95	0,131	3	213	0,081	4
<i>Basidiomycota</i>	Nenustatyta klasė	28	0,040	1	94	0,078	3	74	0,102	2	196	0,075	3
Visi Basidiomycota		39330	55,734	385	82337	68,649	662	43457	60,149	413	165124	62,843	833
<i>Chytridiomycota</i>	<i>Chytridiomycetes</i>	18	0,026	2	22	0,018	4	31	0,043	4	71	0,027	7
Visi Chytridiomycota		18	0,026	2	22	0,018	4	31	0,043	4	71	0,027	7
<i>Mucoromycota</i>	<i>Endogonomycetes</i>	13	0,018	1	4	0,003	1	5	0,007	1	22	0,008	1
<i>Mucoromycota</i>	<i>Mortierellomycetes</i>	187	0,265	9	209	0,174	13	714	0,988	12	1110	0,422	16
<i>Mucoromycota</i>	<i>Mucoromycetes</i>	318	0,451	5	15	0,013	3	17	0,024	5	350	0,133	8
<i>Mucoromycota</i>	<i>Umbelopsidomycetes</i>	77	0,109	5	195	0,163	6	56	0,078	3	328	0,125	7
Visi Mucoromycota		595	0,843	20	423	0,353	23	792	1,096	21	1810	0,689	32
<i>Olpidiomycota</i>	<i>Olpidiomycetes</i>	83	0,118	1	41	0,034	1	28	0,039	1	152	0,058	1
Visi Olpidiomycota		83	0,118	1	41	0,034	1	28	0,039	1	152	0,058	1

Skyrius	Klasė	Šilinės ažuolynas			Punios ažuolynas			Dūkštų ažuolynas			Visi medynai		
		Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Sporų santykinio sutinkamumo dažnis, %	Taksonų skaičius
<i>Zoopagomycota</i>	<i>Basidiobolomycetes</i>	171	0,242	1	53	0,044	1	0	0,000	0	224	0,085	1
<i>Zoopagomycota</i>	<i>Entomophthoromycetes</i>	464	0,658	3	2956	2,465	6	95	0,131	4	3515	1,338	8
Visi <i>Zoopagomycota</i>		635	0,900	4	3009	2,509	7	95	0,131	4	3739	1,423	9
Visi skyriai		70567	100	1004	119939	100	1445	72249	100	1033	262755	100	1881

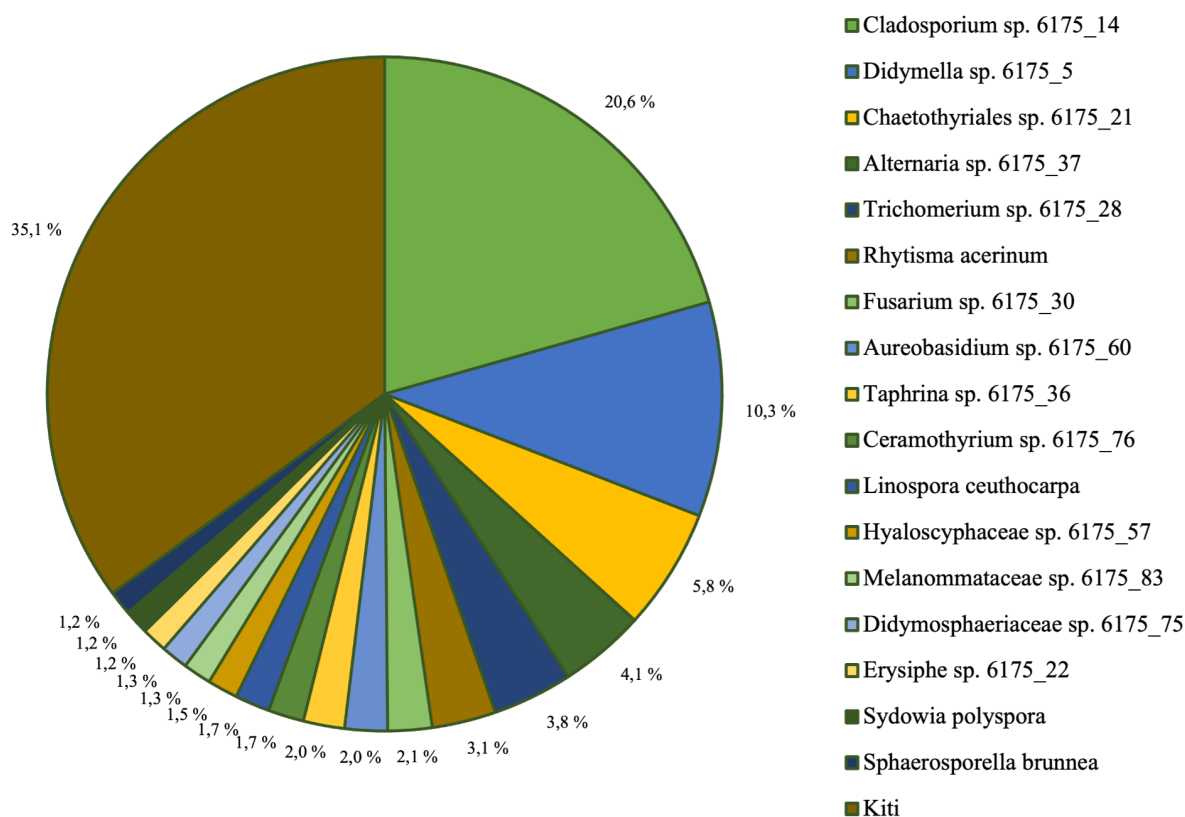
Įvertinus bendrą santykinę sporų gausumą visuose tirtuose medynuose kartu, didžiausią dalį sudarė *Agaricomycetes* (*Basidiomycota*) (20,0 %), *Dothideomycetes* (*Ascomycota*) (18,0 %), *Exobasidiomycetes* (*Basidiomycota*) (17,1 %) ir *Tremellomycetes* (*Basidiomycota*) (12,1 %) klasių atstovai (19 pav., 1 lentelė). Taigi, papėdgyrių skyriaus *Agaricomycetes* klasė buvo tiek turtingiausia taksonais (t.y., pasižymėjo didžiausia rūšine įvairove), tiek pirmavo ir pagal sugautų sporų santykinę gausumą. Antroje vietoje pagal abu šiuos kriterijus atsidūrė aukšliagyrių skyriaus *Dothideomycetes* klasės grybai. Tuo tarpu, pagal taksonų gausumą trečioje, ketvirtoje ir šeštoje vietoje buvę aukšliagyrių skyriaus *Sordariomycetes*, *Leotiomyces* ir *Eurotiomyces* klasių atstovai pagal bendrą santykinę sporų gausumą atitinkamai sudarė 3,2 %, 4,0 % ir 6,4 % (1 lentelė).



19 pav. Taksonominių grybų klasių pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

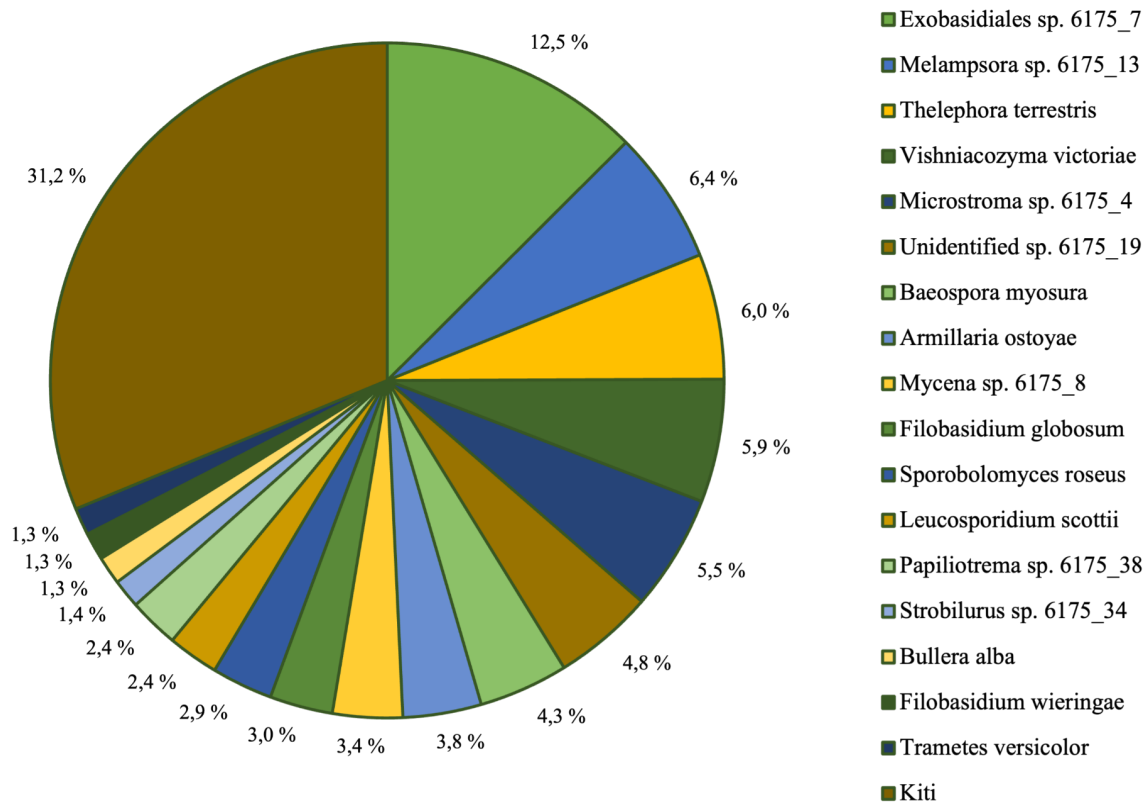
Vertinant aukšliagyrių (*Ascomycota*) skyriaus atstovų (atskirų taksonų) pasiskirstymą pagal santykinę sporų gausumą, dažniausiai aptikti buvo: *Cladosporium* sp. 6175_14 (tarp aukšliagyrių sudarė 20,6 %), *Didymella* sp. 6175_5 (10,3 %), *Chaetothyriales* sp. 6175_21 (5,8 %) ir *Alternaria* sp. 6175_37 (4,1 %) (20 pav.). Šie taksonai nebuvo identifikuoti iki rūšies, tad apie jų ekologines, biologines savybes ar paplitimą galima tik spėlioti. Šeštoje vietoje pagal santykinę sporų gausumą

tarp aukšliagybių atsidūrė plačiai paplitęs klevo lapų juodulius sukeliantis patogeninis grybas – klevinis žvynokas (*Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr.) (3,1 %) (**20 pav.**).



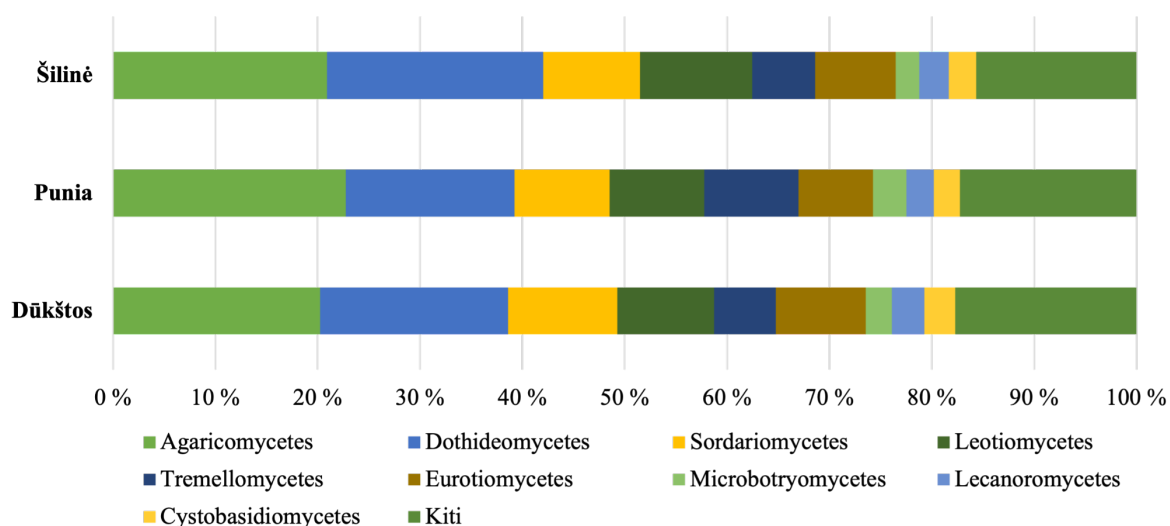
20 pav. Aukšliagybių (*Ascomycota*) skyriaus taksonų pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai).

Vertinant **papėdgrybių (*Basidiomycota*)** skyriaus atstovų (atskirų taksonų) pasiskirstymą pagal santykinę sporų gausumą, dažniausiai aptikti buvo: *Exobasidiomycetes* klasės grybas *Exobasidiales* sp. 6175_7 (tarp papėdgrybių sudarė 12,5 %), fitopatogeninis grybas (sukeliantis augalų lapų ar spyglių rūdis) *Melampsora* sp. 6175_13 (6,4 %), plačiai paplitęs ektomikorizinis grybas – žeminis karpininkas (*Thelephora terrestris* Ehrh. ex Pers.) (6,0 %), kosmopolitinis mieliagybis *Vishniacozyma victoriae* (M.J. Montes, Belloch, Galiana, M.D. García, C. Andrés, S. Ferrer, Torr.-Rodr. & J. Guinea) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout (5,9 %) ir *Exobasidiomycetes* klasės grybas (veikiausiai – augalų patogenas) *Microstroma* sp. 6175_4 (5,5 %). Žinomo medžių šaknų ligų sukėlėjo agarikomiceto – tamsiažvynio kelmučio (*Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink) – sporos taip pat gana gausiai pateko į gaudykles (3,8 %) (**21 pav.**).



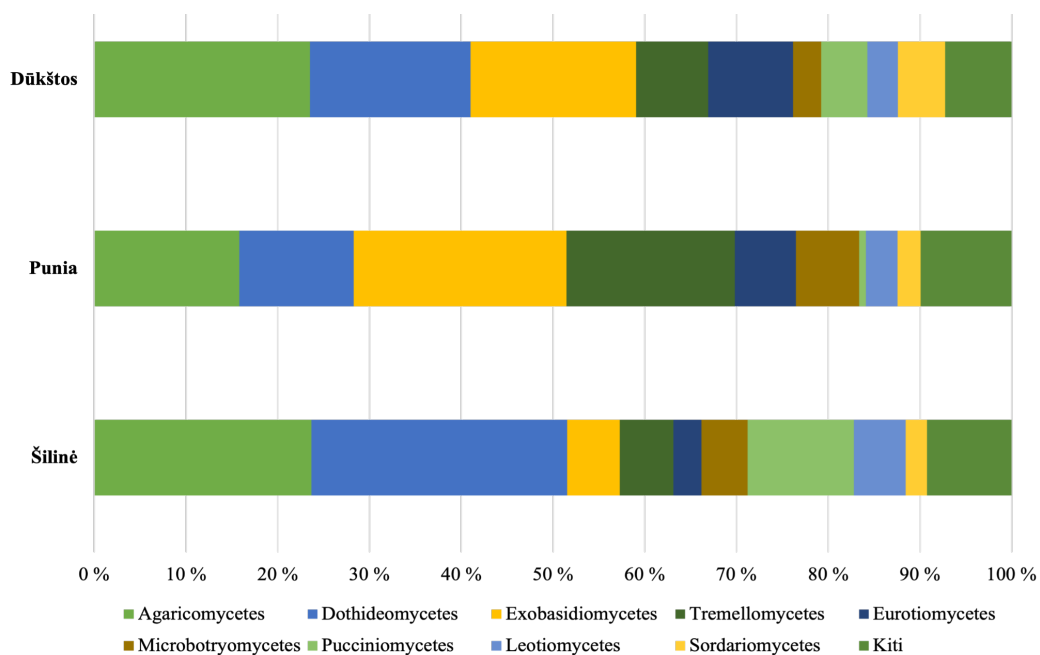
21 pav. Papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriaus atstovų pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai).

Grybų klasių pasiskirstymo pagal joms priskirtų taksonų skaičių analizė skirtinguose medynuose – Šilinės, Punios ir Dūkštų – parodė, jog didžiausia rūšinė įvairovė pasižyminčios klasės visuose medynuose pasiskirstė daugmaž tolygiai. Punioje fiksuota šiek tiek daugiau nei kituose medynuose *Agaricomycetes* ir *Tremellomycetes* (abu *Basidiomycota*), Dūkštose – *Sordariomycetes* ir *Eurotiomycetes* (abu *Ascomycota*), o Šilinėje – *Dothideomycetes* ir *Leotiomycetes* (abu *Ascomycota*) taksonų (22 pav., 1 lentelė).



22 pav. Grybų taksonų pasiskirstymas pagal klases tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose

Tačiau, pagal santykinę sporų gausumą Punioje, lyginant su kitais medynais, dominavo *Exobasidiomycetes* ir *Tremellomycetes*, tuo tarpu *Agaricomycetes* klasės atstovų buvo santykinai mažiau (23 pav., 1 lentelė). Kita vertus, pagal absoliutų santykinę sporų gausumą (t. y., sekų pasikartojimo dažnį) pastarosios klasės atstovų skaičiai Punioje nenusileido Dūkštų ir Šilinės medynams (1 lentelė). Dūkštų ąžuolynas, tuo tarpu, išsiskyrė *Eurotiomycetes* ir *Sordariomycetes*, o Šilinės – *Dothideomycetes*, *Pucciniomycetes* ir *Leotiomyces* taksonominių klasių atstovų santykiniu sporų gausumu (23 pav., 1 lentelė).



23 pav. Grybų klasių pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose

2 lentelėje pateikiama dvidešimt dažniausiai pasitaikiusių (pagal santykinę sporų gausumą) grybų taksonų kiekviename tirtame ažuolyne, penkių savaičių laikotarpyje. Punios ažuolyne dominavo *Exobasidiales* sp. 6175_7 taksonas (16,89 %), kituose dviejuose medynuose nepatekęs į gausiai aptiktų taksonų gretas. Toliau sekė mieliagrybis *Vishniacozyma victoriae* (M. J. Montes, Belloch, Galiana, M. D. García, C. Andrés, S. Ferrer, Torr.-Rodr. & J. Guinea) Xin Zhan Liu, F. Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout (6,34 %), gerokai rečiau aptiktas Dūkštų (1,88 %) ir Šilinės (1,08 %) ažuolynuose. Trečioje vietoje pagal sugautų sporų gausumą Punios medyne buvo *Cladosporium* sp. 6175_14 (5,30 %), kuris Šilinėje buvo aptiktas gausiausiai (12,97 %), o Dūkštose užėmė ketvirtąją vietą (4,72 %). Šilinės ažuolyne antras pagal sugautų sporų santykinę gausumą buvo svylarūdė *Melampsora* sp. 6175_13 (11,34 %), kuris Dūkštų ažuolyne buvo septintas (3,07 %), o trečias – ektomikorizinis papėdgrybis žeminis karpininkas (*Thelephora terrestris* Ehrh.) (6,78 %), taip pat į gausiai aptiktų grybų taksonų sąrašus patekęs Dūkštų (3,57 %) ir Punios (2,13 %) ažuolynuose. Antras taksonas pagal santykinę sporų gausumą Dūkštų ažuolyne buvo *Chaetothyriales* sp. 6175_21 (6,39 %), kituose medynuose nepatekęs į gausiausiai aptiktų taksonų sporų sąrašus, o trečias – pūvančius spygliuočių medžių kankorėžius kolonizuojantis saprotrofinis papėdgrybis pilkšvarudė mažasporė (*Baeospora myosura* (Fr.) Singer) (5,26 %), rečiau aptiktas Punios ažuolyne (2,53 %). Bendrai, Punios ir Dūkštų ažuolynuose gausiausiai aptiktų grybų taksonų dalį sudarė *Exobasidiomycetes* klasės papėdgrybiai, tiesa, Dūkštų medyne didžiausią dalį (9,38 %) sudariusio šios klasės taksono Unidentified sp. 6175_19 nepavyko identifikuoti iki aukštesnio taksonominio lygio.

2 lentelė. Dvidešimt dažniausiai pasitaikiusių (vertinant pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinį gausumą) grybų taksonų tirtuose Dūkštų, Punos ir Šilinės ažuoluose, penkių savaitių laikotarpyje.

Tyrimo vieta	Skyrius	Klasė	Taksonas	GenBank referencinės sekos nr. ¹	Lyginamų sekų ² fragmentų ilgis, bp ir jų tarpusavio panašumas (%)	Santykinis sporų gausumas ³						
						Pavyzdžių rinkimo periodas, 2022 m. datos					Bendras (viso)	Bendras taksono sutinkamumo dažnis, % ⁴
						08.23-08.30	08.30-09.07	09.07-09.13	09.13-09.21	09.21-09.27		
Dūkštų ažuolynas	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	Unidentified sp. 6175_19	KX194377	298/349 (85)	1277	2	5469	26	0	6774	9,38
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Didymella</i> sp. 6175_5	MH862666	249/249 (100)	1396	15	3244	83	45	4783	6,62
	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Chaetothyriales</i> sp. 6175_21	OP467362	260/260 (100)	774	0	3808	30	2	4614	6,39
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Baeospora myosura</i>	MH930141	299/299 (100)	3717	8	5	7	62	3799	5,26
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Microstroma</i> sp. 6175_4	ON866277	345/347 (99)	198	0	3426	8	2	3634	5,03
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Cladosporium</i> sp. 6175_14	MT645944	243/243 (100)	2047	40	1151	93	82	3413	4,72
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Thelephora terrestris</i>	MT644883	313/313 (100)	182	1721	286	161	230	2580	3,57
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Pucciniomycetes</i>	<i>Melampsora</i> sp. 6175_13	MT759632	325/325 (100)	456	0	1755	3	4	2218	3,07
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Armillaria ostoyae</i>	JN657459	477/477 (100)	287	716	417	61	121	1602	2,22
	<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	<i>Linospora ceuthocarpa</i>	EU254860	225/225 (100)	153	0	1293	43	45	1534	2,12
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Mycena</i> sp. 6175_8	MW576926	315/315 (100)	387	291	471	84	135	1368	1,89
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	LC515132	234/234 (100)	669	14	639	19	18	1359	1,88
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Pucciniomycetes</i>	<i>Pucciniastraceae</i> sp. 6175_58	AB221419	292/313 (93)	629	0	653	2	36	1320	1,83
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Itersonilia pannonica</i>	KX067837	325/326 (99)	594	0	609	30	51	1284	1,78
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Strobilurus</i> sp. 6175_34	OM951750	379/379 (100)	1200	0	2	0	42	1244	1,72
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Rhodosporidiobolus colostri</i>	MT502792	301/301 (100)	150	0	673	189	15	1027	1,42
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Erythricium aurantiacum</i>	MH864966	330/330 (100)	0	0	905	1	13	919	1,27

¹ Genų Banko (GenBank; National Center for Biotechnology Information NCBI) duomenų bazėje pateikiamos referencinės sekos numeris (angl. *accession number*). Referencinė seka šiuo atveju vadinama Genų Banko duomenų bazėje esančią rDNR ITS regiono seką, kuri, tikėtina, yra teisingai identifiukuota, ir su kuria BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) algoritmu, lyginant identifiukuojamo organizmo rDNR ITS regiono seką, gautas didžiausias tarpusavio panašumas (sekų sutapimo procentas).

² Čia lyginamas identifiukuojamo grybo sekos fragmentas su Genų Banko duomenų bazėje (GenBank; National Center for Biotechnology Information NCBI) pateikiamos referencinės sekos fragmentu.

³ Terminas „santykinis sporų gausumas“ paaiškintas darbo 3.4 skyriuje.

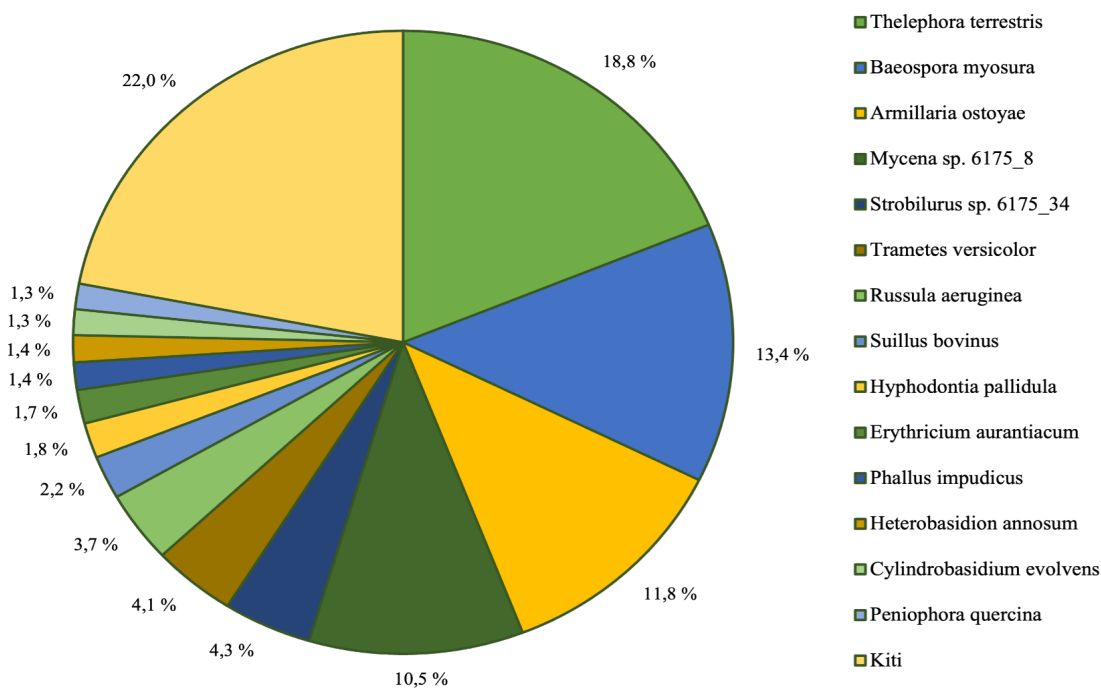
⁴ skaičiuojant nuo visų konkrečiame ažuolyne identifiukuotų taksonų bendro santykinio sporų gausumo.

Tyrimo vieta	Skyrius	Klasė	Taksonas	GenBank referencinės sekos nr. ¹	Lyginamų seku ² fragmentų ilgis, bp ir jų tarpusavio panašumas (%)	Santykinis sporų gausumas ³						
						Pavyzdžių rinkimo periodas, 2022 m. datos					Bendras (viso)	Bendras taksono sutinkamumo dažnis, % ⁴
						08.23-08.30	08.30-09.07	09.07-09.13	09.13-09.21	09.21-09.27		
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Tilletiopsis washingtonensis</i>	MH862434	341/341 (100)	481	1	419	5	0	906	1,25
	<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	<i>Monochaetia</i> sp. 6175_72	MN588157	251/251 (100)	112	0	698	3	13	826	1,14
	<i>Ascomycota</i>	<i>Taphrinomycetes</i>	<i>Taphrina</i> sp. 6175_36	AY188378	291/295 (99)	223	0	548	4	8	783	1,08
Punios ažuolynas	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Exobasidiales</i> sp. 6175_7	KY424481	282/322 (88)	12922	36	3504	3454	347	20263	16,89
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	LC515132	234/234 (100)	2432	2	4715	454	7	7610	6,34
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Cladosporium</i> sp. 6175_14	MT645944	243/243 (100)	3057	116	1842	1119	223	6357	5,30
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Filobasidium globosum</i>	MK050345	317/318 (99)	1007	0	3474	46	51	4578	3,82
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Leucosporidium scottii</i>	MH595305	306/306 (100)	347	0	2040	1587	1	3975	3,31
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Papiliotrema</i> sp. 6175_38	OP470271	284/285 (99)	721	0	3017	110	0	3848	3,21
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Baeospora myosura</i>	MH930141	299/299 (100)	18	11	87	390	2524	3030	2,53
	<i>Zoopagomycota</i>	<i>Entomophthoromycetes</i>	<i>Zoopthora radicans</i>	OQ831924	404/404 (100)	253	14	2456	65	91	2879	2,40
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Microstroma</i> sp. 6175_4	ON866277	345/347 (99)	1392	0	834	429	1	2656	2,21
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Thelephora terrestris</i>	MT644883	313/313 (100)	726	530	737	451	113	2557	2,13
	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Trichomerium</i> sp. 6175_28	ON866137	264/264 (100)	220	1	1994	205	4	2424	2,02
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Mycena</i> sp. 6175_8	MW576926	315/315 (100)	269	164	386	584	920	2323	1,94
	<i>Ascomycota</i>	<i>Leotiomycetes</i>	<i>Rhytisma acerinum</i>	MK585002	241/241 (100)	299	2	1028	830	3	2162	1,80
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Sporobolomyces roseus</i>	KY105478	300/300 (100)	183	3	1608	71	0	1865	1,55
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Didymella</i> sp. 6175_5	MH862666	249/249 (100)	753	26	762	171	42	1754	1,46
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Armillaria ostoyae</i>	JN657459	477/477 (100)	253	132	653	510	188	1736	1,45
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Exobasidium bisporum</i>	AB180368	266/268 (99)	243	8	1242	83	7	1583	1,32
	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Ceramothyrium</i> sp. 6175_76	KC978733	246/254 (97)	277	0	1151	77	16	1521	1,27
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Curvibasidium cygneicollum</i>	KY102972	310/310 (100)	170	0	970	315	24	1479	1,23
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Alternaria</i> sp. 6175_37	OR804083	253/253 (100)	844	11	127	80	13	1075	0,90

Tyrimo vieta	Skyrius	Klasė	Taksonas	GenBank referencinės sekos nr. ¹	Lyginamų seku ² fragmentų ilgis, bp ir jų tarpusavio panašumas (%)	Santykinis sporų gausumas ³							Bendras taksono sutinkamumo dažnis, % ⁴
						Pavyzdžių rinkimo periodas, 2022 m. datos					Bendras (viso)		
						08.23-08.30	08.30-09.07	09.07-09.13	09.13-09.21	09.21-09.27			
Šilinės ažuolynas	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Cladosporium</i> sp. 6175_14	MT645944	243/243 (100)	1598	76	167	2474	4835	9150	12,97	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Pucciniomycetes</i>	<i>Melampsora</i> sp. 6175_13	MT759632	325/325 (100)	15	78	7222	621	64	8000	11,34	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Thelephora terrestris</i>	MT644883	313/313 (100)	606	257	3461	231	232	4787	6,78	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Didymella</i> sp. 6175_5	MH862666	249/249 (100)	502	27	72	674	1638	2913	4,13	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Armillaria ostoyae</i>	JN657459	477/477 (100)	314	214	281	1765	307	2881	4,08	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	<i>Microstroma</i> sp. 6175_4	ON866277	345/347 (99)	833	4	49	1479	482	2847	4,03	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	<i>Sporobolomyces roseus</i>	KY105478	300/300 (100)	357	1	14	1422	661	2455	3,48	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Alternaria</i> sp. 6175_37	OR804083	253/253 (100)	1290	19	131	429	385	2254	3,19	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Mycena</i> sp. 6175_8	MW576926	315/315 (100)	306	217	249	779	291	1842	2,61	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Leotiomycetes</i>	<i>Hyaloscyphaceae</i> sp. 6175_57	MH018926	227/239 (95)	1096	27	13	12	21	1169	1,66	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Ustilaginomycetes</i>	<i>Ustilago filiformis</i>	MH855085	387/387 (100)	3	0	0	209	795	1007	1,43	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Bullera alba</i>	MT502789	273/273 (100)	118	0	3	631	154	906	1,28	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Russula aeruginea</i>	MG680182	301/301 (100)	190	147	299	94	116	846	1,20	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	LC515132	234/234 (100)	138	11	1	343	270	763	1,08	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Mrakiaceae</i> sp. 6175_102	KY104498	391/406 (96)	7	0	0	740	0	747	1,06	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Aureobasidium</i> sp. 6175_60	MT000590	249/249 (100)	177	6	7	357	129	676	0,96	
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Trametes versicolor</i>	MN559796	286/286 (100)	119	195	67	136	130	647	0,92	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Melanommataceae</i> sp. 6175_83	MG020344	242/247 (98)	157	100	68	237	42	604	0,86	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Trichomerium</i> sp. 6175_28	ON866137	264/264 (100)	23	0	18	121	380	542	0,77	
	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Didymosphaeriaceae</i> sp. 6175_75	MN328307	245/250 (98)	107	57	18	124	224	530	0,75	

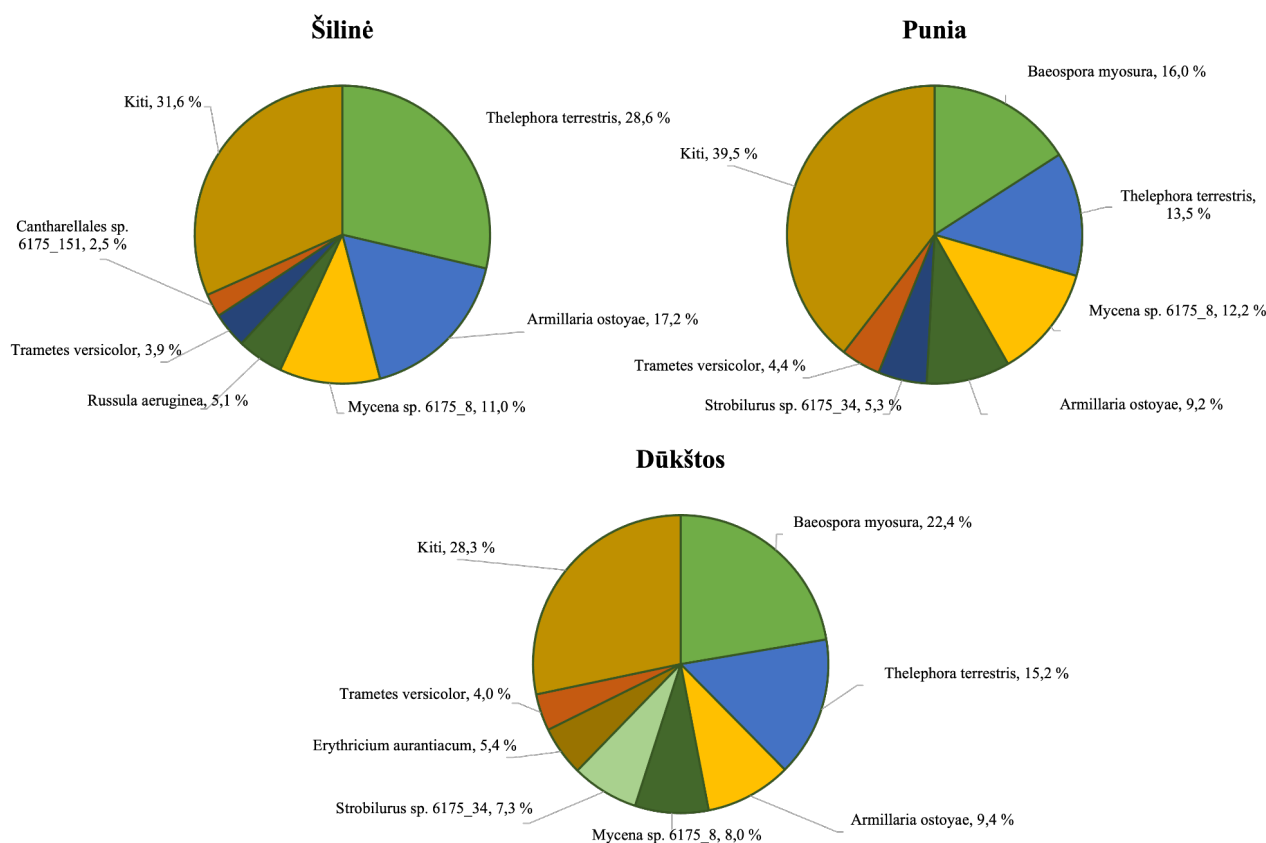
Detaliau analizuojant bendrą santykinę sporų gausumą visuose medynuose (Punios, Dūkštų ir Šilinės), išskirtinis dėmesys teiktas papėdgrybių skyriaus agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasei, kuriai priskirta ir didžiausia dalis visų identifikuotų grybų taksonų. Šios klasės atstovų tarpe gausu su medžiais mikorizę formuojančių kepurėtųjų (ir ne tik) grybų rūšių (pvz., *Agaricales*, *Boletales*, *Cantharellales*, *Russulales* eilių atstovai), taip pat – fitopatogeninių ir medieną pūdančių grybų rūšių (pvz., *Polyporales*, *Hymenochaetales*, *Corticiales* eilių atstovai). Lyginant su kitais medynais, Punios ąžuolyne aptikta didžiausia agarikomicetų klasės atstovų taksonominė įvairovė (329 taksonai), gausiausiai čia sugauta ir šios klasės atstovų sporų (**1 lentelė**). Šilinėje ir Dūkštose, atitinkamai, aptikti 210 ir 209 šios klasės taksonai, o pagal santykinę visų agarikomicetų sporų gausumą šie medynai taip pat buvo labai panašūs (**1 lentelė**).

Įvertinus santykinę agarikomicetų sporų gausumą visuose medynuose, paaiškėjo, jog labiausiai paplitę šiai klasei priklausantys taksonai buvo žeminis karpininkas (*T. terrestris*) (18,8 % nuo visų agarikomicetų; gausiausiai aptiktas Šilinės ąžuolyne), pilkšvarudė mažasporė (*B. myosura*) (13,4 %; gausiausiai aptikta Dūkštų ąžuolyne), tamsiažvynis kelmutis (*A. ostoyae*) (11,8 %; gausiausiai aptikta Šilinės ąžuolyne) ir šalmabudė *Mycena* sp. 6175_8 (10,5 %; gausiausiai aptikta Punios ąžuolyne) (**24 pav., 1 priedas**).



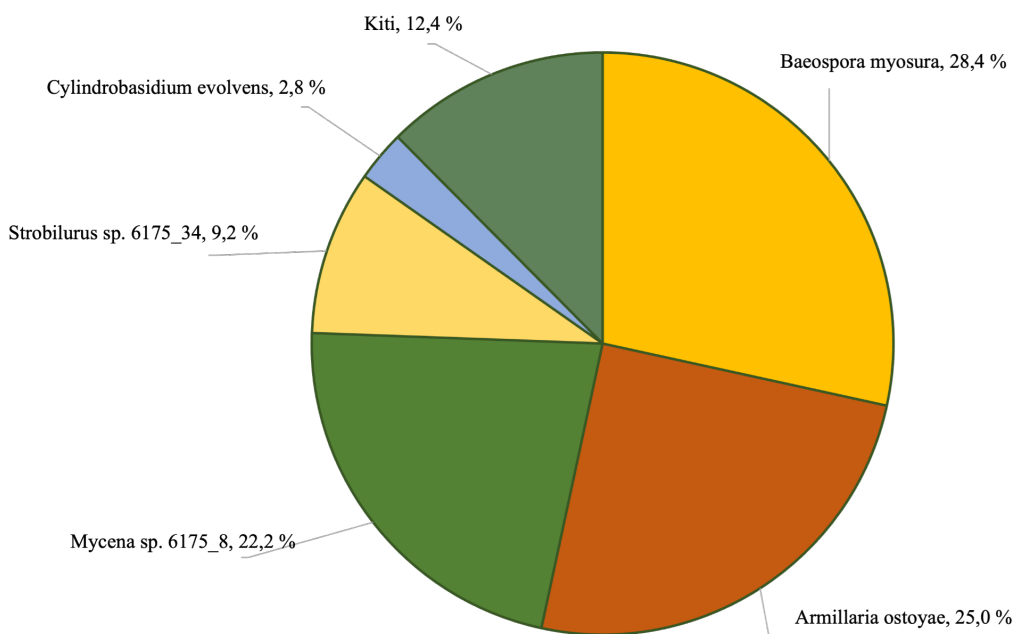
24 pav. Agarikomicetų (*Agaricomycetes*, *Basidiomycota*) klasės taksonų pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

Vertinant agarikomicetų sporų paplitimą atskiruose medynuose pastebėta, jog žeminis karpininkas (*T. terrestris*) ir pilkšvarudė mažasporė (*B. myosura*) buvo vieni iš gausiai aptiktų taksonų Dūkštų (37,5 % visų šiame ąžuolyne aptiktų agarikomicetų) ir Punios (29,5 % visų šiame ąžuolyne aptiktų agarikomicetų) medynuose (**25 pav.**). Taip pat, be žeminio karpininko, tamsiažvynio kelmučio (*A. ostoyae*) ir šalmabudės *Mycena* sp. 6175_8 taksonų sporos buvo taip pat gausiai fiksuotos Šilinės ąžuolyne (atitinkamai 17,2 % ir 11,0 % visų šiame ąžuolyne aptiktų agarikomicetų), iš kurių karpininko ir kelmučio sporų sugauta ženkliai daugiau nei kitų medynų ekosistemose. Įdomu tai, kad pilkšvarudės mažasporės (*B. myosura*) sporų Šilinės ąžuolyne pagauta palyginti nedaug – santykinis šio grybo sporų gausumas čia buvo daugiau kaip 10 kartų mažesnis nei kituose medynuose (**1 priedas**). Dūkštų ąžuolyne gausiai aptikta tampriuoko *Strobilurus* sp. 6175_34 (7,3 % visų šiame ąžuolyne aptiktų agarikomicetų) ir tampriojo kazlėko (*Suillus bovinus* (L.) Kuntze) (3,6 % visų šiame ąžuolyne aptiktų agarikomicetų) sporų, lyginant su Punios ir Šilinės ąžuolynais (**25 pav.**).



25 pav. Agarikomicetų (*Agarycomycetes*, *Basidiomycota*) klasės taksonų pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinį gausumą tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose

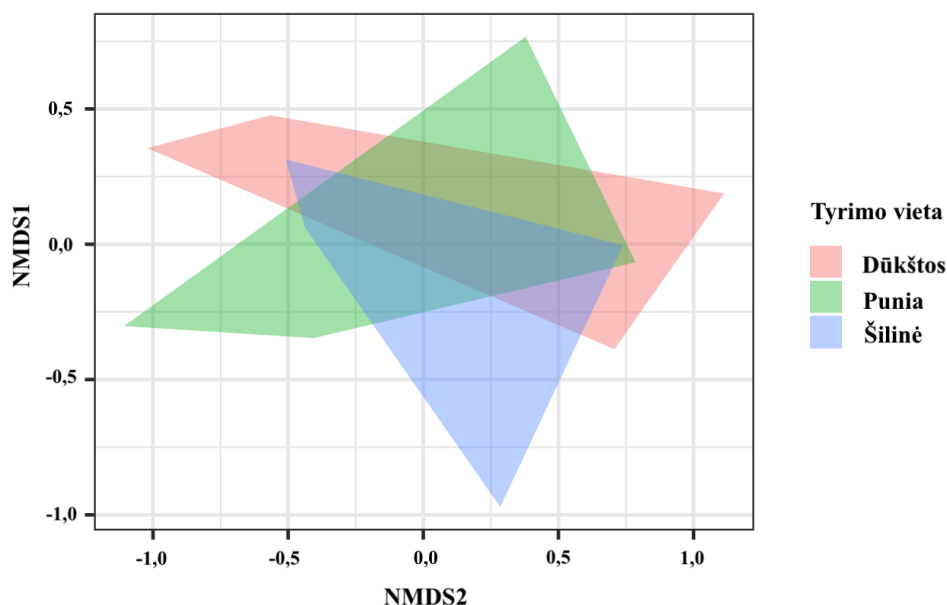
Tarp agarikomicetų, pagal bendrą santykinę sporų gausumą visuose tirtuose medynuose, gausiausiai aptiktos agarikiečių (*Agaricales*) eilės grybų sporos (32,4 %), iš kurių daugiau nei pusę kartu sudarė pilkšvarudės mažasporės (*B. myosura*) (28,4 %) ir tamsiažvynio kelmučio (*A. ostoyae*) (25,0 %) sporos (**26 pav.**).



26 pav. Agarikiečių (*Agaricales*) eilės (*Basidiomycota*, *Agaricomycetes*) taksonų pasiskirstymas pagal pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinę gausumą tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

4.2. Grybų bendrijų skirtumai tirtuose medynuose

Lyginant grybų bendrijas skirtinguose medynuose paaiškėjo, kad tarpusavyje jos patikimai reikšmingai nesiskyrė ($R^2 = 0,158$, $p = 0,201$) (**27 pav.**).



27 pav. Nemetrinės daugiamatės duomenų (NMDS) analizės rezultatų vizualizacija: grybų bendrijų (pagal nustatytus taksonus) skirtumai tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ažuolynuose

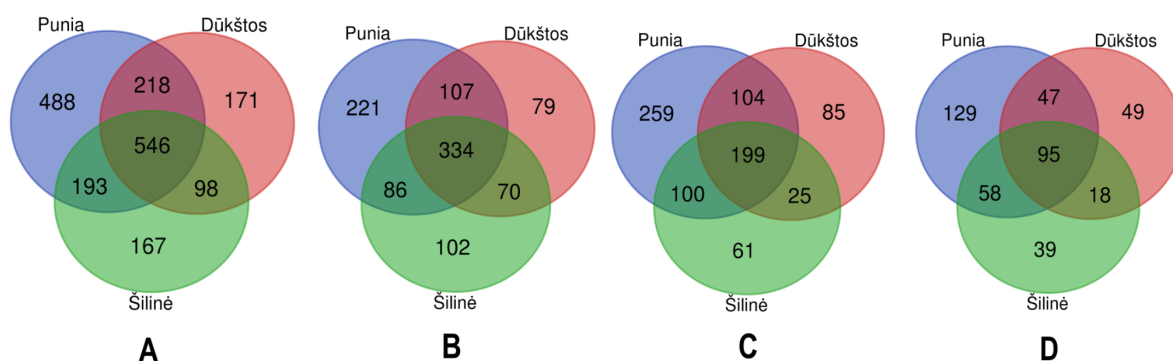
Rūšių (taksonų) įvairovę nusakantys Shannon'o indeksai (H) visuose medynuose buvo labai panašūs ir turėjo aukštas vertes: Šilinės (nustatyti 1004 taksonai), Punios (1445 taksonai) ir Dūkštų (1033 taksonai) ažuolynuose atitinkamai jie siekė 4,24, 4,39 ir 4,33 (bendras H visiems medynams 4,69). Kuo aukštesnė indekso H vertė, tuo rūšių (taksonų) įvairovė duotajame objekte yra didesnė. Kaip matome, pagal šį indeksą, Punios ažuolynas tik nežymiai lenkė kitus du medynus.

Labai panašūs buvo ir Pielou rūšių (taksonų) tolygumo rodikliai (J): Šilinės, Punios ir Dūkštų ažuolynuose, atitinkamai siekė 0,61, 0,60 ir 0,62 (bendras J visiems medynams 0,62). Kadangi indeksas J yra gana artimas 1, reiškia, kad visuose tirtuose medynuose nemaža dalis rūšių (taksonų) buvo vienodai dažnai sutinkamos (šio darbo atveju – vertinant santykinį sporų gausumą).

Kokybinio Sorensen'o indekso SIq reikšmės lyginant grybų bendrijų rūšinės (taksonų) sudėties panašumą tarp atskirų medynų porų taip pat buvo labai panašios: tarp Šilinės ir Punios ažuolynų SIq siekė 0,60, tarp Šilinės ir Dūkštų – 0,63, o tarp Punios ir Dūkštų – 0,62. Kiekybinio Sorensen'o indekso SIn reikšmės (vertinant santykinį sporų gausumą) tarp atskirų medynų porų skyrėsi šiek tiek labiau: tarp Šilinės ir Punios ažuolynų SIn siekė 0,42, tarp Šilinės ir Dūkštų – 0,50, o tarp Punios ir Dūkštų – 0,43. Taigi, kiekybiniu aspektu, grybų bendrijos panašiausios buvo tarp Šilinės ir Dūkštų ažuolynų.

Visgi skirtumų tarp tirtų medynų galima įžvelgti ir daugiau (**28 pav.**). Neabejotinai didžiausia unikalų grybų taksonų (t. y. neaptiktų kituose medynuose) dalimi pasižymėjo Punios ažuolynas (488 unikalūs taksonai, t. y., 25,9 % visų identifikuotų taksonų). Tuo tarpu tiek Dūkštų, tiek Šilinės ažuolynuose unikalų, kituose medynuose nepasikartojusių, taksonų buvo beveik tris kartus mažiau –

atitinkamai, 171 (9,1 %) ir 167 (8,9 %) unikalūs taksonai. Iš visų nustatytų 1881 taksonų mažiau nei trečdalis (546 arba 29,0 %) buvo užfiksuoti visuose trijuose medynuose (**28 pav. A**).



28 pav. Veno (Venn) diagramos, rodančios grybų taksonų įvairovę ir panašumą tirtuose Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose: A) visų taksonų palyginimas, B) aukšliagybių (*Ascomycota*) skyriaus taksonų palyginimas, C) papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriaus taksonų palyginimas, D) agarikomicetų (*Agaricomycetes*, *Basidiomycota*) klasės taksonų palyginimas

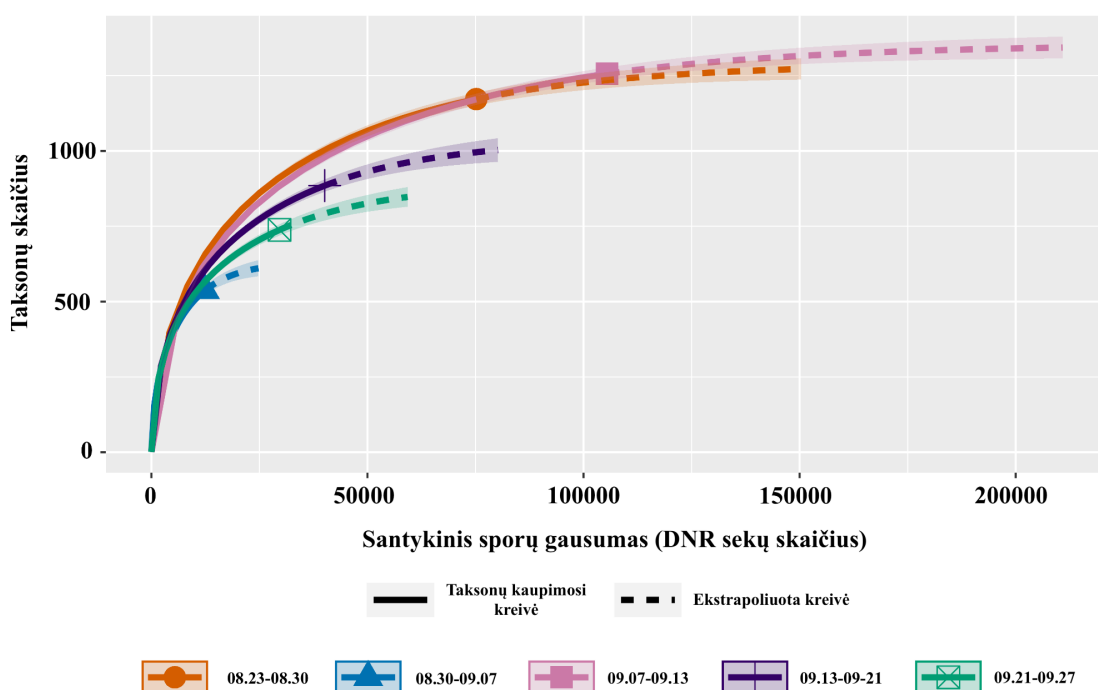
Vertinant aukšliagybių (*Ascomycota*) skyriui priskirtų taksonų pasiskirstymą tarp skirtingų medynų, didžiausiu unikalų taksonų skaičiumi taip pat išsiskyrė Punios ąžuolynas (221 unikalūs taksonai, t. y., 22,1 % visų identifikuotų aukšliagybių taksonų). Dūkštų ir Šilinės ąžuolynai unikalų, tik tuose medynuose aptiktų, aukšliagybių taksonų skaičiumi Puniai nusileido maždaug du kartus (atitinkamai, Dūkštose ir Šilinėje aptikti 79 (7,9 %) ir 102 (10,2 %) unikalūs taksonai). Iš visų nustatytų 999 aukšliagybių taksonų trečdalis (334 arba 33,4 %) buvo užfiksuotas visuose trijuose medynuose (**28 pav. B**).

Vertinant papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriui priskirtų taksonų pasiskirstymą tarp skirtingų medynų, didžiausiu unikalų taksonų skaičiumi vėlgi išsiskyrė Punios ąžuolynas (259 unikalūs taksonai, t. y., 31,1 % visų identifikuotų papėdgrybių taksonų). Dūkštų ir Šilinės ąžuolynai unikalų, tik tuose medynuose aptiktų, papėdgrybių taksonų skaičiumi Puniai nusileido 3-4 kartus (atitinkamai, Dūkštose ir Šilinėje aptikti 85 (10,2 %) ir 61 (7,3 %) unikalūs taksonai). Iš visų nustatytų 833 papėdgrybių taksonų tik maždaug ketvirtadalis (199 arba 23,9 %) buvo užfiksuoti visuose trijuose medynuose (**28 pav. C**).

Tos pačios tendencijos išryškėjo ir vertinant papėdgrybių skyriaus agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės taksonų pasiskirstymą – didžiausiu unikalų taksonų skaičiumi ženkliai išsiskyrė Punios ąžuolynas (29,7 % visų agarikomicetų OTV). Iš visų nustatytų 435 agarikomicetų taksonų tik maždaug penktadalis (95 arba 21,8 %) buvo užfiksuoti visuose trijuose medynuose (**28 pav. D**). Šie rezultatai leidžia teigti, kad agarikomicetų bendrijos gali gana ženkliai skirtis tarp geografiškai nutolusių panašaus amžiaus ir sudėties ąžuolynų ekosistemų.

4.3. Grybų taksonominės įvairovės ir santykinio sporų gausumo dinamika laiko gradiente ir priklausomybė nuo meteorologinių sąlygų

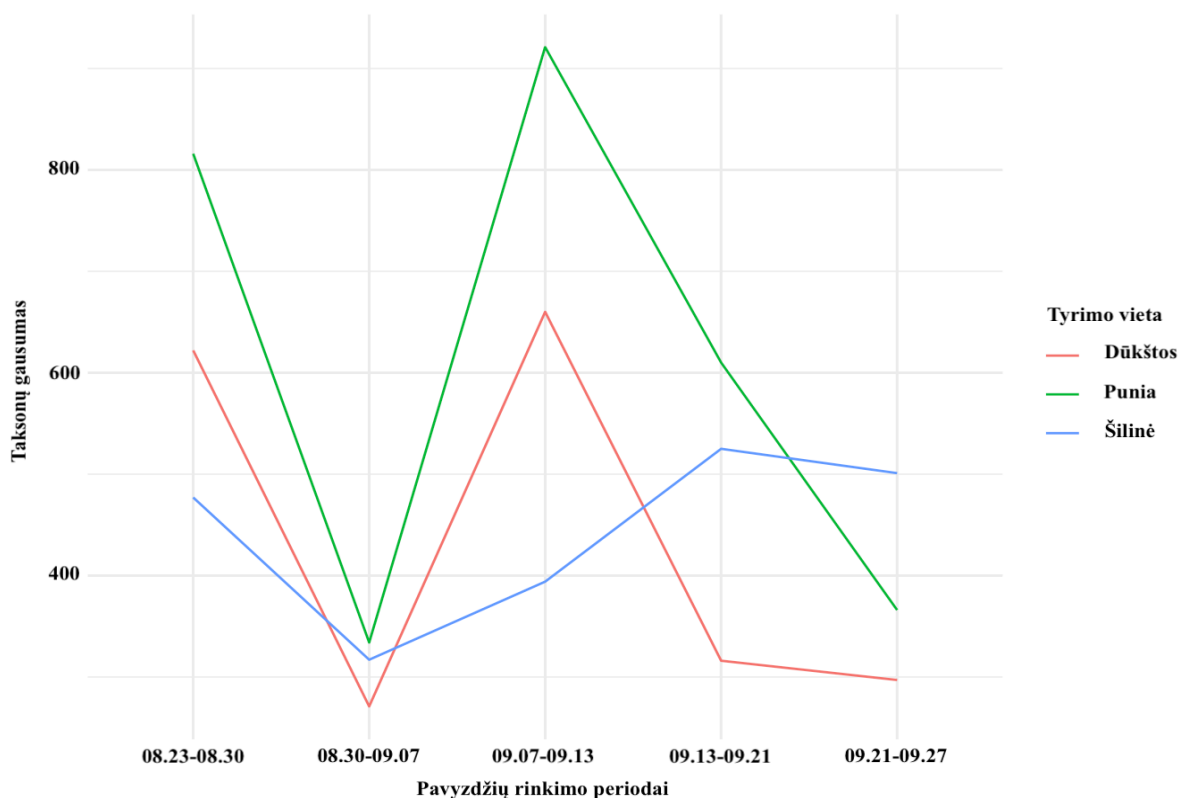
29 paveiksle pateikiamos šio darbo metu nustatytų grybų taksonų skaičiaus kaupimosi kreivės, rodančios taksonų skaičiaus augimo priklausomybę nuo pavyzdžių skaičiaus (santykinio sporų gausumo) augimo visuose tirtuose ąžuolynuose (bendrai) skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais. Kaip matome, nei viena kreivė nėra priartėjusi prie savo asimptotės, nors rugsėjo 7-13 d. ir rugpjūčio 23-30 d. periodų ekstrapoliuotos kreivės praktiškai jas pasiekia šiek tiek viršijant 1250 taksonų skaičių. Tai rodo, kad grybų taksonų (rūšių) įvairovė pastaraisiais sporų rinkimo periodais buvo atskleista geriausiai, tačiau vis vien nepilnai. Menkiausiai taksonų (rūšių) įvairovė atskleista rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu. Šiuo periodu tiek papėdgrybių (*Basidiomycota*), tiek aukšliagybių (*Ascomycota*), tiek *Zoopagomycota* skyriaus atstovų buvo aptikta ženkliai mažiau nei kitais periodais (vertinant tiek bendrą taksonų skaičių, tiek santykinį sporų gausumą) (2 lentelė).



29 pav. Taksonų skaičiaus kaupimosi (akumuliacinės, rarefakcijos) kreivės, rodančios nustatytų taksonų skaičiaus augimo priklausomybę nuo pavyzdžių skaičiaus (santykinio sporų gausumo) augimo skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn. tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

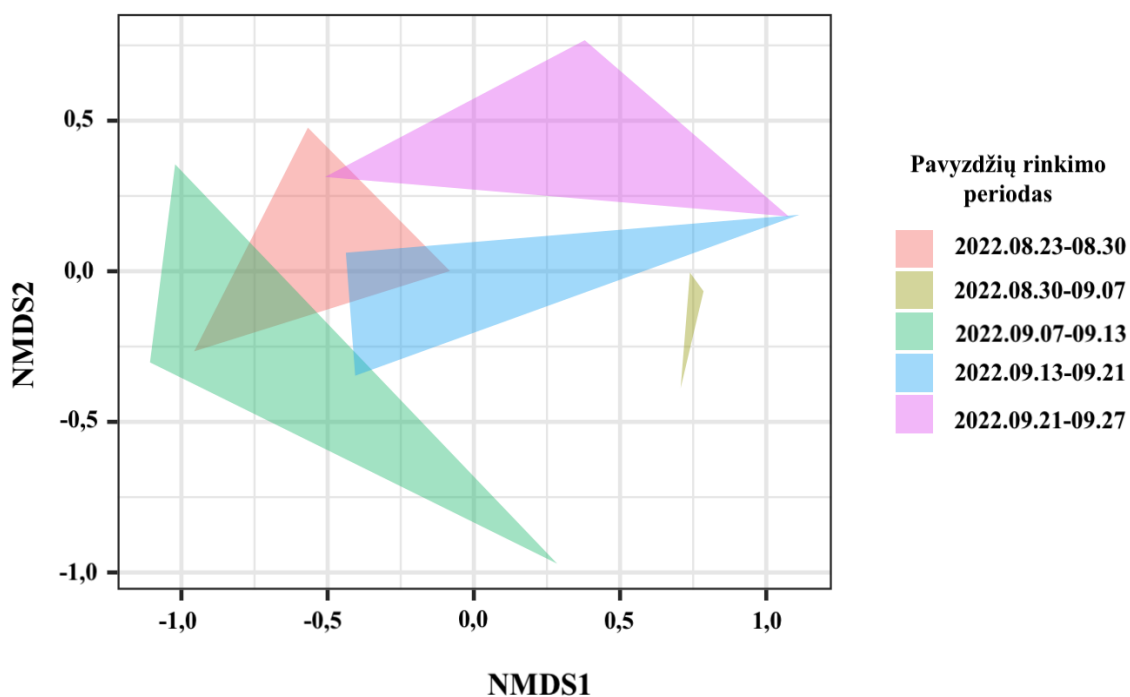
30 paveiksle pateikiama nustatytų grybų taksonų skaičiaus (aptikimo dažnio) dinamika trijuose tirtuose ąžuolynuose. Kaip matome, lyginant su kitais periodais, rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu taksonų identifikuota mažiausiai visuose trijuose medynuose. Tuo tarpu daugiausiai grybų taksonų Punios ir Dūkštų ąžuolynuose nustatyta rugsėjo 7-13 d. periodu, o Šilinės ąžuolyne – rugsėjo 13-21

d. periodu. Paskutiniu vertinimo periodu (rugsėjo 21-27 d.) Šilinėje taksonų skaičius išliko gana aukštas, tuo tarpu Punioje ir Dūkštose – gana ženkliai krito. Vertinant papėdgybių ir aukšliagybių – šiame tyrime taksonais gausiausių grybų skyrių – pasiskirstymą pagal taksonų gausumą laiko bėgyje, pradedant nuo rugpjūčio pabaiga ir baigiant rugsėjo pabaiga, ryškėja aukšliagybių taksonų skaičiaus proporcijos mažėjimas, o papėdgybių – didėjimas. Nuosekliai, penkiais sporų gaudymo periodais, atitinkamai, aukšliagybių ir papėdgybių taksonų skaičius ir proporcijos kito taip: 674 (59 %) ir 463 (41 %); 320 (61 %) ir 201 (39 %); 650 (53 %) ir 576 (47 %), 530 (60 %) ir 337 (40 %), 400 (34 %) ir 833 (66 %).



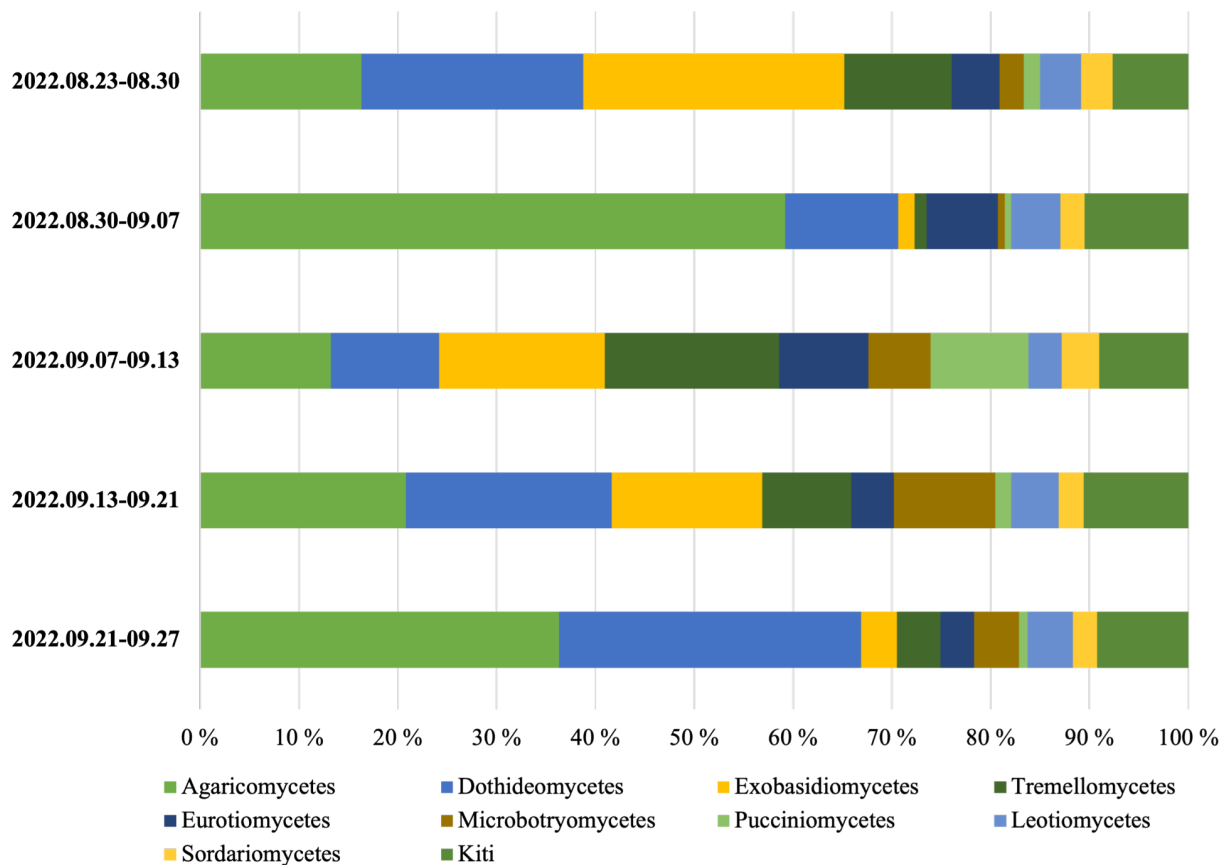
30 pav. Visų nustatytų grybų taksonų skaičiaus dinamika Punios, Dūkštų ir Šilinės ažuolynuose (visų medynų duomenys pateikti kartu) skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn.

Lyginant visų trijų tirtų ažuolynų (kartu) grybų bendrijas skirtingais sporų gaudymo periodais paaiškėjo, kad tarpusavyje bendrijos statistiškai patikimai reikšmingai nesiskyrė ($R^2 = 0,355$, $p = 0,088$) (**31 pav.**). Visgi, kaip matome iš **31 paveikslo**, skirtingais periodais buvo fiksuotos gana skirtingos grybų bendrijos (mažas persidengimas), o taksonų įvairovė „skurdžiausiu“ rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu tirtų ažuolynų grybų bendrijos apskritai nepersidengė su kitomis.



31 pav. Nemetrinės daugiamatės duomenų (NMDS) analizės rezultatų vizualizacija: grybų bendrijų (pagal nustatytus taksonus) skirtumai tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai) skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn.

Analizuojant grybų klasių pasiskirstymą pagal bendrą (visų tirtų medynų) santykinę sporų gausumą skirtingais sporų gaudymo periodais (**32 pav., 3 lentelė**), pastebėta, jog rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d., rugsėjo 21-27 d. ir rugsėjo 13-21 d. santykinai gausiausiai sporuliavo *Agaricomycetes* (*Basidiomycota*) ir *Dothideomycetes* (*Ascomycota*) klasių atstovai, tuo tarpu rugsėjo 7-13 d. pastarųjų klasių atstovų sporuliavimas buvo mažiau intensyvus ir nusileido *Exobasidiomycetes* ir *Tremellomycetes* (abu *Basidiomycota*) klasių atstovams. Pastaruoju periodu taip pat išskirtinai aktyviai sporuliavo *Pucciniomycetes* klasės atstovai. Kaip jau minėta, rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu išsiskyrė *Agaricomycetes* klasės atstovai: šios klasės atstovų santykinis sporų gausumas viršijo visų likusių klasių atstovų santykinę sporų gausumą, sudėjus kartu. Tiesa, reikia paminėti, kad šiuo periodu daugelio klasių atstovų (įskaitant ir *Agaricomycetes*) visuose medynuose buvo aptikta mažiau nei kitais periodais (vertinant tiek bendrą taksonų skaičių, tiek santykinę sporų gausumą). Pirmuoju sporų gaudymo periodu (rugpjūčio 23-30 d.) *Agaricomycetes*, nors pasitaikė tikrai neretai, pagal santykinę sporų gausumą nusileido *Dothideomycetes* ir *Exobasidiomycetes* klasių atstovams (**32 pav., 3 lentelė**).



32 pav. Grybų klasių pasiskirstymas pagal santykinį sporų gausumą skirtingais jų sporų gaudymo periodais tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

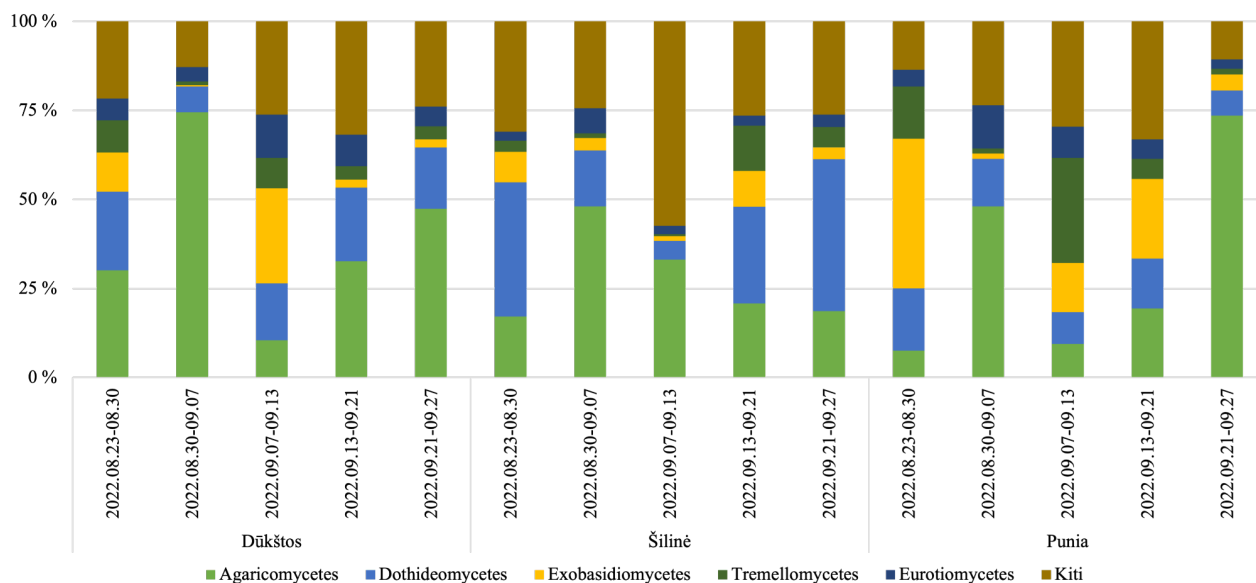
Kaip jau minėta, intensyviausia sporų sklaida ore fiksuota rugsėjo 7-13 d. periodu – tuomet santykinis sporų gausumas visuose tirtuose medynuose sudarė net 40,1 % nuo visų periodų bendro santykinio sporų gausumo. Iš šiuo periodu pagautų sporų identifikuota daugiausiai – 1256 grybų taksonai. Tuo tarpu rugpjūčio 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu fiksuota mažiausiai intensyvi sporų sklaida – santykinis sporų gausumas visuose tirtuose medynuose tesudarė 4,7 % nuo visų periodų bendro santykinio sporų gausumo. Atitinkamai mažiausiai šiuo periodu identifikuota ir taksonų – 537 (**3 lentelė**).

3 lentelė. Pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinis gausumas (termino paaiškinimą žr. darbo 3.4 skyriuje) ir nustatytų taksonų skaičius pagal grybų taksonomines klases visuose tirtuose ažuolynuose (bendrai Šilinės, Punios ir Dūkštų) penkiais skirtingais periodais. Pavyzdžiai rinkti 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn.

Skyrius	Klasė	08.23-08.30		08.30-09.07		09.07-09.13		09.13-09.21		09.21-09.27	
		Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius
<i>Ascomycota</i>	<i>Archaeorhizomycetes</i>	5	1	0	0	15	1	10	1	6	1
<i>Ascomycota</i>	<i>Arthoniomycetes</i>	57	12	12	5	48	10	30	6	27	6
<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	16848	234	1419	86	11556	204	8354	174	9070	135
<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	3635	97	890	48	9556	99	1740	78	1010	56
<i>Ascomycota</i>	<i>Lecanoromycetes</i>	460	38	164	18	544	36	844	29	226	19
<i>Ascomycota</i>	<i>Leotiomycetes</i>	3127	104	617	68	3518	112	1919	96	1365	74
<i>Ascomycota</i>	<i>Orbiliomycetes</i>	124	18	74	5	182	20	108	15	69	9
<i>Ascomycota</i>	<i>Pezizomycetes</i>	264	6	427	6	453	8	267	6	213	8
<i>Ascomycota</i>	<i>Saccharomycetes</i>	111	17	62	8	128	11	59	11	98	10
<i>Ascomycota</i>	<i>Sareomycetes</i>	3	2	9	1	8	1	9	1	6	2
<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	2389	120	302	58	3988	119	1015	87	713	63
<i>Ascomycota</i>	<i>Taphrinomycetes</i>	683	13	28	7	1251	16	969	13	110	7
<i>Ascomycota</i>	<i>Xylonomycetes</i>	0	0	4	1	0	0	1	1	2	1
<i>Ascomycota</i>	Nenustatyta klasė	132	12	63	9	337	13	95	12	31	9
Visi <i>Ascomycota</i>		27838	674	4071	320	31584	650	15420	530	12946	400
<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	12278	216	7338	126	13947	255	8348	165	10764	202
<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricostilbomycetes</i>	250	21	9	6	416	23	135	14	53	13
<i>Basidiomycota</i>	<i>Atractiellomycetes</i>	6	1	2	1	13	3	6	1	1	1
<i>Basidiomycota</i>	<i>Classiculomycetes</i>	16	1	0	0	11	1	2	1	9	2
<i>Basidiomycota</i>	<i>Cystobasidiomycetes</i>	1420	34	36	13	1612	38	1027	21	581	15
<i>Basidiomycota</i>	<i>Dacrymycetes</i>	290	1	2	1	5	2	13	2	4	1
<i>Basidiomycota</i>	<i>Exobasidiomycetes</i>	19863	35	203	9	17644	40	6109	17	1071	13

Skyrius	Klasė	08.23-08.30		08.30-09.07		09.07-09.13		09.13-09.21		09.21-09.27	
		Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius	Santykinis sporų gausumas	Taksonų skaičius
<i>Basidiomycota</i>	<i>Geminibasidiomycetes</i>	69	2	108	1	84	2	51	1	98	2
<i>Basidiomycota</i>	<i>Microbotryomycetes</i>	1856	21	90	11	6606	43	4109	26	1339	18
<i>Basidiomycota</i>	<i>Pucciniomycetes</i>	1218	14	79	2	10476	17	651	8	264	4
<i>Basidiomycota</i>	<i>Spiculogloeomycetes</i>	64	13	0	0	67	13	7	4	4	3
<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomycetes</i>	8188	93	154	28	18597	123	3606	68	1307	33
<i>Basidiomycota</i>	<i>Tritirachiomycetes</i>	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
<i>Basidiomycota</i>	<i>Ustilaginomycetes</i>	139	6	0	0	879	9	293	4	825	3
<i>Basidiomycota</i>	<i>Wallemiomycetes</i>	68	3	31	2	50	4	44	3	20	3
<i>Basidiomycota</i>	Nenustatyta klasė	79	2	17	1	56	2	31	1	13	1
Visi Basidiomycota		45804	463	8069	201	70464	576	24433	337	16354	315
<i>Chytridiomycota</i>	<i>Chytridiomycetes</i>	10	4	4	1	37	5	2	1	18	2
Visi Chytridiomycota		10	4	4	1	37	5	2	1	18	2
<i>Mucoromycota</i>	<i>Endogonomycetes</i>	3	1	3	1	12	1	2	1	2	1
<i>Mucoromycota</i>	<i>Mortierellomycetes</i>	687	13	99	8	152	9	84	10	88	9
<i>Mucoromycota</i>	<i>Mucoromycetes</i>	317	6	0	0	24	4	1	1	8	2
<i>Mucoromycota</i>	<i>Umbelopsidomycetes</i>	31	3	72	3	172	6	12	1	41	4
Visi Mucoromycota		1038	23	174	12	360	20	99	13	139	16
<i>Olpidiomycota</i>	<i>Olpidiomycetes</i>	11	1	61	1	61	1	5	1	14	1
Visi Olpidiomycota		11	1	61	1	61	1	5	1	14	1
<i>Zoopagomycota</i>	<i>Basidiobolomycetes</i>	169	1	2	1	0	0	0	0	53	1
<i>Zoopagomycota</i>	<i>Entomophthoromycetes</i>	310	6	14	1	2919	4	147	3	125	3
Visi Zoopagomycota		479	7	16	2	2919	4	147	3	178	4
Visi skyriai		75180	1172	12395	537	105425	1256	40106	885	29649	738

Iš visų tirtų medynų, didžiausia sporų sklaida pasižymėjusiu periodu (rugsėjo 7-13 d.) Punios ąžuolyne grybų sporų santykinis gausumas buvo didžiausias ir sudarė 48,9 %, Dūkštų – 36,6 %, o Šilinės – 14,5 % nuo bendro šiuo periodu fiksuoto santykinio sporų gausumo visuose medynuose (**2 priedas**). Analizuojant detaliau grybų sporų pasiskirstymą pagal klases skirtingose tyrimo vietose bei skirtingais periodais (**33 pav.**), pastebėta, jog agarikomicetai daugeliu atvejų dominavo, išskyrus pavienius atvejus (ypač – rugpjūčio 23-30 d., rugsėjo 7-13 d. periodais), kuomet agarikomicetų sporų santykinį gausumą lenkė *Exobasidiomycetes*, *Dothideomycetes*, *Tremellomycetes* ar „kitų“ (tarp kurių dažniausiai dominavo *Pucciniomycetes*) klasių atstovai (**2 priedas**).



33 pav. Grybų klasių pasiskirstymas pagal santykinį sporų gausumą skirtingais jų sporų gaudymo periodais tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

Tyrimo metu analizuota, kaip grybų sporų sklaidą ore sąlygoja aplinkos veiksniai, tokie kaip oro temperatūra ir santykinė oro drėgmė. **4 lentelėje** pateikiami tyrimo objektuose surinktų bene labiausiai grybų sporų sklaidą sąlygojančių meteorologinių parametru – oro temperatūros ir santykinės oro drėgmės – vidurkiai skirtingais sporų gaudymo periodais.

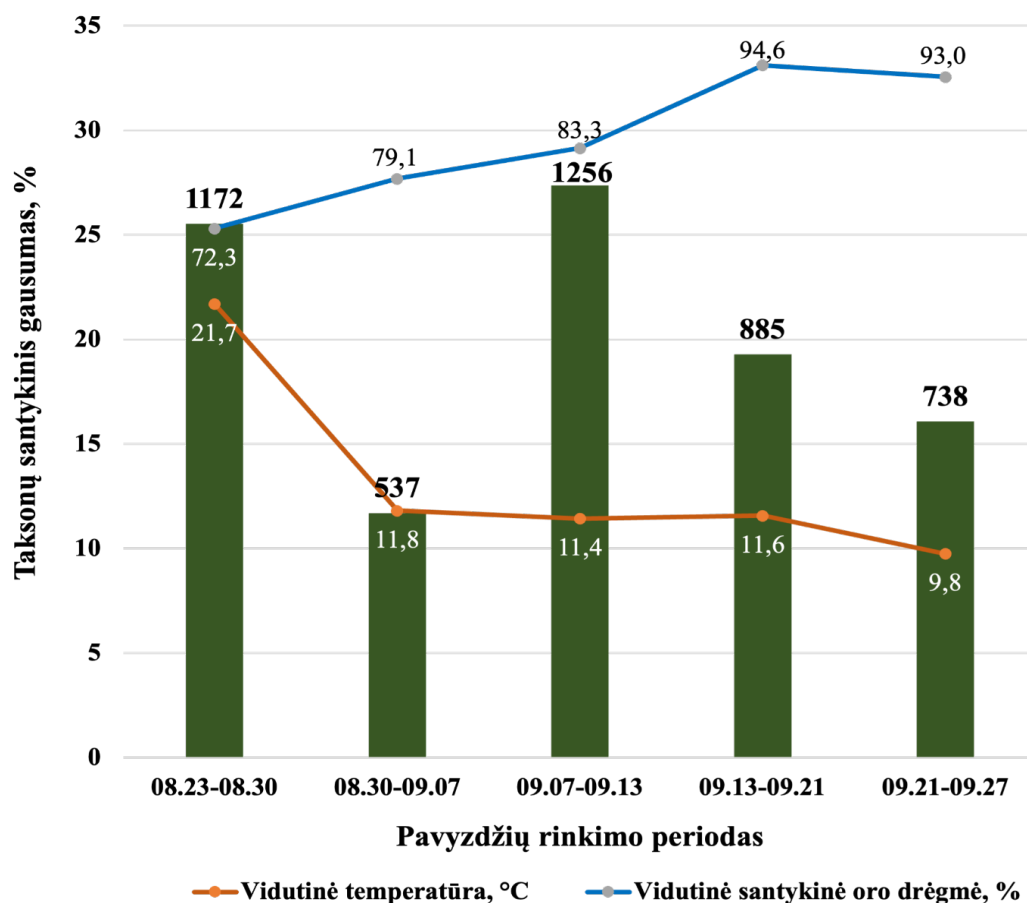
4 lentelė. Tyrimo objektuose surinktų meteorologinių duomenų (oro temperatūros (°C) ir santykinės oro drėgmės (%)) vidurkiai skirtingais sporų gaudymo periodais

Sporų gaudymo periodas	Tyrimo vieta					
	Dūkštų ažuolynas		Šilinės ažuolynas		Punios ažuolynas	
	Vidutinė temperatūra, °C	Vidutinė santykinė oro drėgmė, %	Vidutinė temperatūra, °C	Vidutinė santykinė oro drėgmė, %	Vidutinė temperatūra, °C	Vidutinė santykinė oro drėgmė, %
2022.08.23-08.30	21,7	72,9	21,5	71,9	22,0	72,3
2022.08.30-09.07	11,7	79,5	12,0	74,0	11,8	83,8
2022.09.07-09.13	10,9	84,8	12,1	77,1	11,3	87,9
2022.09.13-09.21	11,2	96,3	11,9	89,5	11,6	98,1
2022.09.21-09.27	9,3	94,9	10,3	87,2	9,7	97,1

Pastebėta, jog didžiausia sporų sklaida ažuolynuose nustatyta rugsėjo 7-13 dienomis, kuomet vidutinė oro temperatūra (visų tirtų vietovių vidurkis) siekė apie 11,4 °C, o santykinė oro drėgmė (visų tirtų vietovių vidurkis) – apie 83,8 % (**4 lentelė**). Tokios aplinkos sąlygos palankiausias buvo *Agaricomycetes* ir *Pucciniomycetes* – Šilinės ažuolyne, *Tremellomycetes* ir *Exobasidiomycetes* – Punios ažuolyne bei *Exobasidiomycetes* ir *Dothideomycetes* – Dūkštų ažuolyne (**2 priedas**). Kaip matome, skirtinguose medynuose dominavo iš esmės skirtingų klasių atstovai, tad aiškesnes tendencijas išžvelgti sudėtinga. Rugsėjo mėnesio pabaigoje (23-30 d. periodu), kuomet vidutinė oro temperatūra buvo aukščiausia iš visų tyrimo laikotarpių (21,7 °C), o vidutinė santykinė oro drėgmė – žemiausia (72,4 %) (**4 lentelė**), Šilinėje dominavo *Dothideomycetes*, *Agaricomycetes* ir *Leotiomycetes* klasių atstovai, o, lyginant su kitais medynais, sporų gausumu išsiskyrė *Mucoromycetes*, *Dacrymycetes* ir *Basidiobolomycetes* klasių atstovai. Tuo pačiu periodu Punioje dominavo *Exobasidiomycetes*, *Dothideomycetes* ir *Tremellomycetes* klasių atstovai, o, lyginant su kitais medynais, sporų gausumu išsiskyrė *Cystobasidiomycetes* ir *Entomophthoromycetes* klasių atstovai. Dūkštose dominavo *Agaricomycetes* ir *Dothideomycetes* klasių atstovai, o, lyginant su kitais medynais, santykiniu sporų gausumu išsiskyrė *Pucciniomycetes*, *Lecanoromycetes* ir *Mortierellomycetes* klasių atstovai (**2 priedas**).

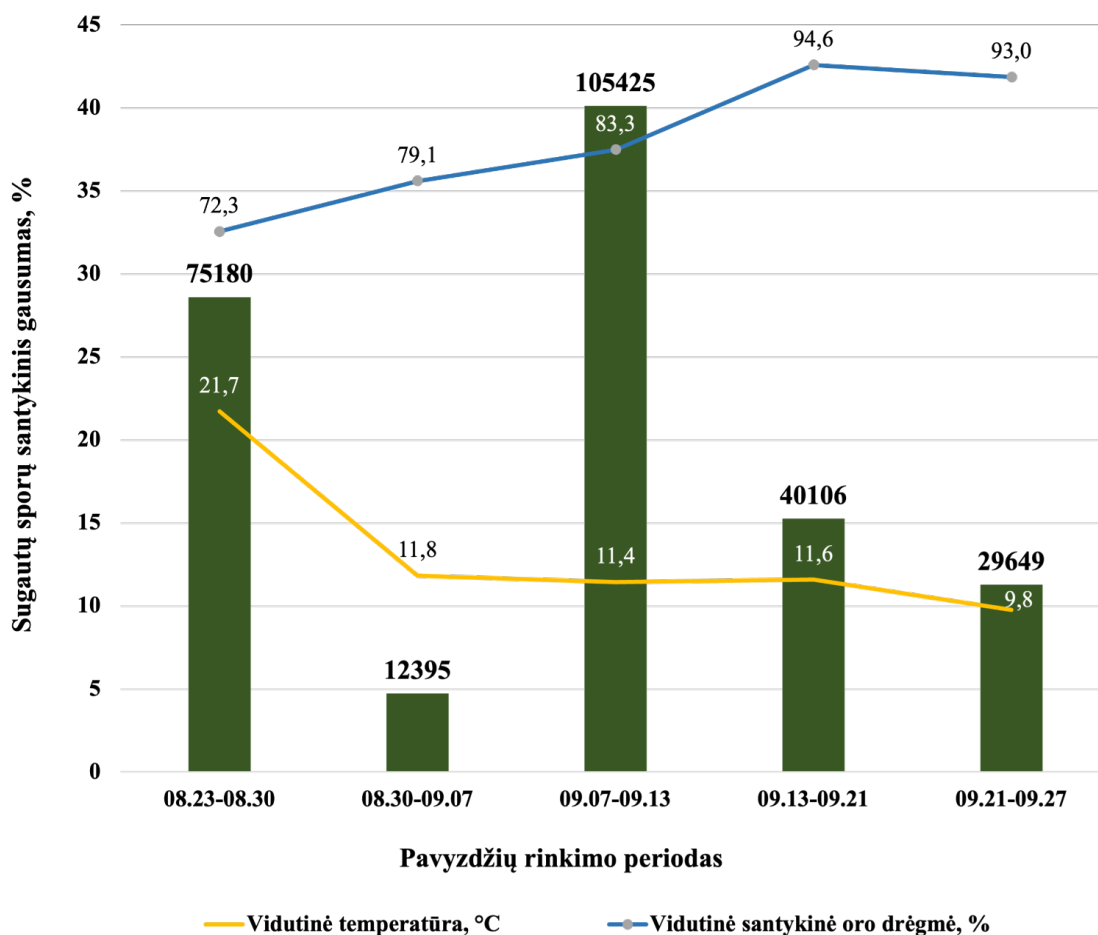
34 paveiksle pateikiama apibendrinta informacija apie tyrimo metu nustatytų grybų taksonų skaičių ir jų santykinį gausumą skirtingais periodais bei duotais periodais išmatuotus meteorologinius parametrus – vidutinę periodo oro temperatūrą bei santykinę oro drėgmę. Kaip matome, daugiausiai grybų taksonų visuose tirtuose ažuolynuose nustatyta rugsėjo 7-13 d. bei rugsėjo 23-30 d., o mažiausiai – rugsėjo 30 d. – rugsėjo 7 d. periodu, tad laiko eigoje ryškių tendencijų taksonų

gausumo kitimo aspektu nesimatė. Tuo tarpu oro temperatūra rudenėjant gana stabiliai mažėjo, o santykinė oro drėgmė – didėjo.



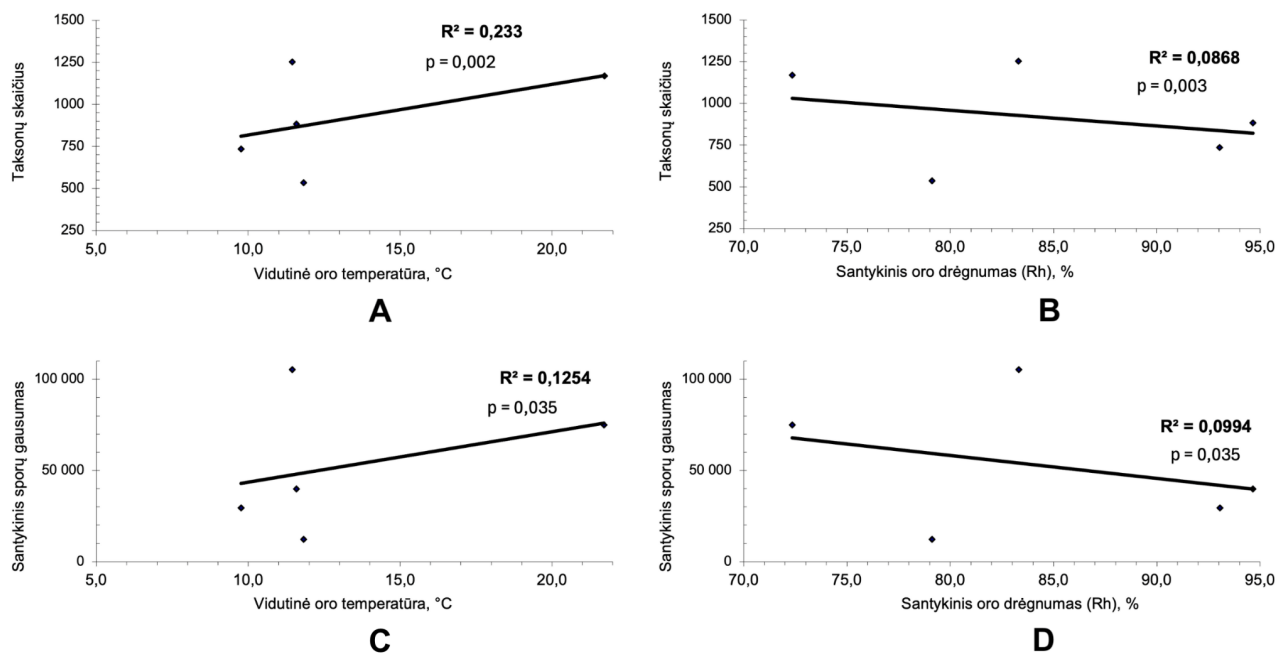
34 pav. Nustatytų taksonų skaičiaus priklausomybė nuo aplinkos veiksnių (vidutinės periodo oro temperatūros bei santykinės drėgmės), skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn. tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

35 paveiksle pateikiama apibendrinta analogiška informacija apie skirtingais periodais sugautų sporų santykinį gausumą bei duotais periodais išmatuotus meteorologinius parametrus. Kaip matome, situacija iš esmės labai panaši kaip ir taksonų gausumo atveju (**34 pav.**).



35 pav. Sugautų sporų santykinio gausumo priklausomybė nuo aplinkos veiksnių (vidutinės periodo oro temperatūros bei santykinės drėgmės), skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn. tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ažuolynuose (visų ažuolynų duomenys pateikiami bendrai)

Analizuojant visų trijų medynų duomenis bendrai, ryškios koreliacijos tarp taksonų skaičiaus ir vidutinės oro temperatūros bei santykinės oro drėgmės nepastebėta: nustatyta silpna teigiama (statistiškai patikima) Pearson'o koreliacija su oro temperatūra (**36 pav. A**) ir labai silpna neigiama (statistiškai patikima) koreliacija su santykinė oro drėgme (**36 pav. B**). Analogiškai, ryškios koreliacijos nepastebėta ir vertinant santykinio sporų gausumo priklausomybę nuo meteorologinių parametrų: nustatyta labai silpna teigiama (statistiškai patikima) koreliacija su oro temperatūra (**36 pav. C**) ir labai silpna neigiama (statistiškai patikima) koreliacija su santykinė oro drėgme (**36 pav. D**).



36 pav. Taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

3 priede pateikiami analogiški regresinės analizės rezultatai Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose – kiekvienam medynui atskirai. Šilinės ąžuolyne (**3 priedo 1 pav.**) tiek taksonų skaičiaus, tiek santykinio sporų gausumo koreliacija su vidutine oro temperatūra buvo labai silpna (nors statistiškai patikima), o su vidutine santykinė oro drėgme koreliacija buvo teigiama ir, atitinkamai, stipri arba labai stipri (abiem atvejais statistiškai patikima). Punios ir Dūkštų ąžuolynuose, tuo tarpu, taksonų skaičiaus koreliacija su vidutine oro temperatūra buvo teigiama, ryšys buvo silpnas ar vidutinio stiprumo (abiem atvejais statistiškai patikimas), o su vidutine santykinė oro drėgme koreliacija, priešingai nei Šilinėje, buvo silpnai neigiama (abiem atvejais statistiškai patikima) (**3 priedo 2 pav. A, B ir 3 priedo 3 pav. A, B**). Iš esmės analogiški rezultatai Punios ir Dūkštų ąžuolynuose gauti vertinant santykinio sporų gausumo koreliaciją su vidutine oro temperatūra bei drėgme, tik ryšys nebuvo statistiškai patikimas (visais atvejais $p > 0,05$) (**3 priedo 2 pav. C, D ir 3 priedo 3 pav. C, D**).

Siekiant įvertinti svarbiausių taksonominių grybų grupių – aukšliagybių (*Ascomycota*) ir papėdgybių (*Basidiomycota*) skyriaus bei pastarojo skyriaus agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasės – nustatytų taksonų skaičiaus bei santykinio sporų gausumo priklausomybę nuo nagrinėjamų meteorologinių parametrų visuose trijuose medynuose bendrai, taip pat atlikta regresinė analizė, kurios rezultatai pateikiami **4 priedo 1, 2, 3 paveiksluose**. Kaip matome, visais atvejais situacija labai panaši kaip ir **36 paveiksle**, kur nagrinėtos visos grybų taksonominės grupės kartu – tendencijos

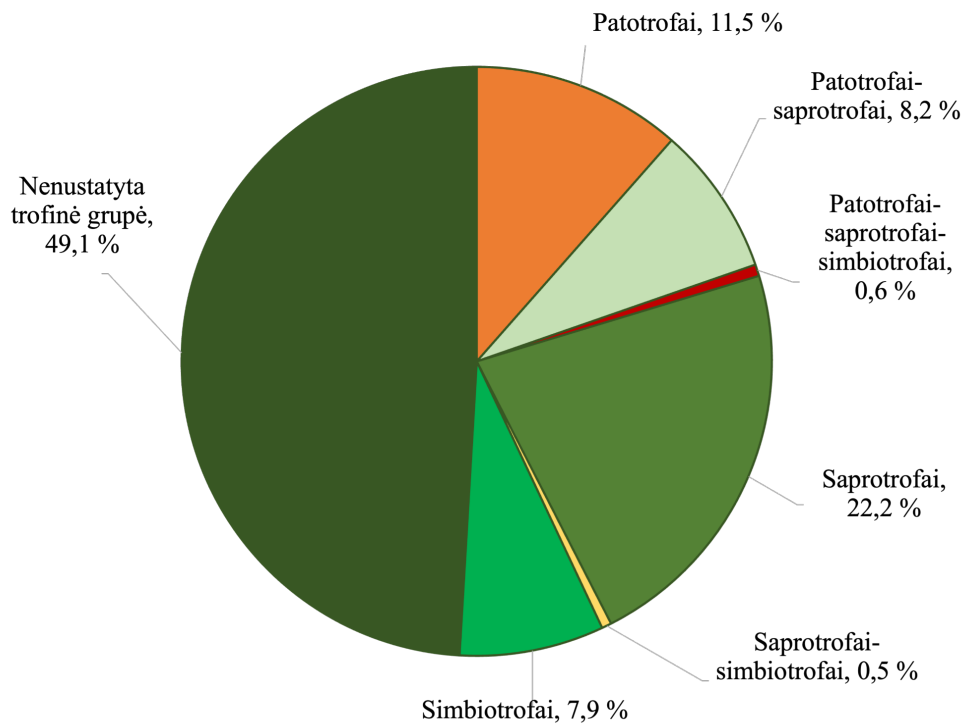
išliko panašios ir ryškios koreliacijos tarp taksonų skaičiaus/santykinio sporų gausumo ir vidutinės oro temperatūros (išskyrus aukšliagybius, kur užfiksuota vidutinio stiprumo statistiškai patikima koreliacija tarp nustatyto taksonų skaičiaus ir vidutinės oro temperatūros; **4 priedo 3 pav. A**) bei santykinės oro drėgmės nepastebėta.

4.4. Grybų taksonų pasiskirstymas pagal trofines grupes tirtuose medynuose

Darbo metu identifikuotų grybų taksonai į trofines grupes skirstyti remiantis FUNGuild duomenų bazėje (Nguyen *et al.*, 2016) naudojama klasifikacija (**5 priedas**):

- *Patotrofai* (obligatiniai) – šiai trofinei grupei priskirta 216 taksonų, iš kurių 149 – augalų patogenai, 67 – kitus organizmus (grybus, kerpes, gyvūnus ir kt.) parazituojantys grybai.
- *Patotrofai-saprotrofai* – priskirti 154 taksonai, iš kurių 109 gali funkcionuoti kaip augalų patogenai ir negyvos organinės medžiagos skaidytojai (saprotrofai), o 45 parazituoja kitus organizmus (grybus, kerpes, gyvūnus ir kt.) ir gali funkcionuoti kaip saprotrofai.
- *Patotrofai-saprotrofai-simbiotrofai* – priskirta 12 taksonų, iš kurių 8 gali funkcionuoti kaip augalų patogenai ir 4 – kaip gyvūnų parazitai; be to, tarp šių 12-os taksonų dvi identifikuotos rūšys gali formuoti mikorizę su orchidėjomis ir erikinių (*Ericaceae*) šeimos augalais, o 10 – be kita ko, žinomi kaip augalų endofitai. Visi šie taksonai taip pat gali funkcionuoti kaip negyvos organinės medžiagos skaidytojai (saprotrofai).
- *Saprotrofai* (obligatiniai) – priskirta 417 taksonų.
- *Saprotrofai-simbiotrofai* – priskirta 10 taksonų, iš kurių 7 – mikoriziniai grybai ir 3 – augalų endofitai. Visi šie taksonai taip pat gali funkcionuoti kaip negyvos organinės medžiagos skaidytojai (saprotrofai).
- *Simbiotrofai* (obligatiniai) – priskirti 149 taksonai, iš kurių 85 – mikoriziniai grybai, 34 – kartu su dumbliu formuojantys kerpės, 28 yra žinomi kaip augalų endofitai ir 2 – kaip epifitai.
- 923 taksonams trofinės grupės nustatyti nepavyko. Pagrindinės priežastys – grybo taksonas identifikuotas iki pernelyg stambios taksonominės grupės (platus trofinių grupių spektras duotoje grupėje) arba trūksta informacijos apie konkrečios rūšies (ar taksonominės grupės) ekologines savybes.

37 paveiksle pateikiamas visų šio darbo metu nustatytų taksonų pasiskirstymas pagal priskyrimą minėtoms trofinėms grupėms.



37 pav. Nustatytų grybų taksonų pasiskirstymas pagal trofines grupes tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

Kaip matome, tarp taksonų, kurie buvo priskirti trofinėms grupėms, vyravo saprotrofai (22,2 %), po jų sekė patotrofai (11,5 %), patotrofai-saprotrofai (8,2 %), simbiotrofai (7,9 %), patotrofai-saprotrofai-simbiotrofai (0,6 %) ir saprotrofai-simbiotrofai (0,5 %).

Kalbant apie identifikuotų grybų priskyrimą funkcinėms grupėms („gildijoms“; angl., *guilds*), išskirtos kelios svarbiausios, su augalais tiesiogiai susijusios, grupės: augalų *patogenai* (iš viso priskirti 266 taksonai (tai sudarė 27,8 % taksonų, kurie buvo priskirti trofinėms/funkcinėms grupėms); didžioji dauguma – aukšliagybių (*Ascomycota*) skyriaus atstovai; nemažą dalį taip pat sudarė papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriaus *Exobasidiomycetes* klasės atstovai), *mikoriziniai* grybai (iš viso priskirti 94 taksonai (9,8 %); visi – ektomikorizę formuojantys grybai; didžioji dauguma priklauso papėdgrybių skyriaus agarikomicetų (*Agaricomycetes*) klasei) ir *endofitiniai* grybai (iš viso priskirtas 41 taksonas (4,3 %); didžioji dauguma – aukšliagybių skyriaus atstovai). Tikėtina, kad endofitiniams grybams galima būtų priskirti ženkliai daugiau šio darbo metu nustatytų taksonų, tačiau daugelio mokslui žinomų rūšių ekologinės funkcijos dar nėra iki galo atskleistos, o endofitinių grybų rūšių sąrašas dar taip pat nėra išsamus (Rani *et al.*, 2022). Bendrai neapibrėžtų saprotrofų funkciją atliekančių grybų priskaičiuota 548 taksonai (tai sudarė net 57,2 % taksonų, kurie buvo priskirti trofinėms/funkcinėms grupėms).

4.5. Lietuvos Raudonosios knygos, invazinių bei Europos Sąjungoje (ES) karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių paplitimo dažnis

Tyrimo metu aptiktos dvi į Lietuvos RK (Rašomavičius, 2021) įtrauktos papėdgybių skyriaus rūšys – ažuolinė kepena (*Fistulina hepatica*) ir kurapkinis storplutis (*Xylobolus frustulatus*), tačiau abiejų grybų rūšių sporų santykinis gausumas nei viename ažuolyne nebuvo didelis. Ažuolinės kepenos sporų sugauta visuose trijuose ažuolynuose, gausiausiai – Šilinės ir Punios, rugsėjo mėnesio pabaigoje, o kurapkinio storplučio – tik Punios medyne, rugpjūčio mėnesio pabaigoje (pirmąją sporų gaudymo savaitę).

Remiantis Motiejūnaitės ir kt. (2017) pateikiamu Lietuvoje invazinėmis pripažintų grybų rūšių sąrašu, šio darbo metu pavyko aptikti (identifikuoti) tik dvi minėto sąrašo rūšis: Šilinės ir Punios ažuolynuose rugpjūčio mėnesio pabaigoje – rugsėjo mėnesio pradžioje sugauta invazinio aukšliagybio – uosinio uknolūno (*Hymenoscyphus fraxineus*) – sporų, tačiau jų santykinis gausumas buvo itin mažas (**1 priedas**). Kita rūšis – javinių žemės ūkio kultūrų patogenas, invazinis aukšliagybis pūslėtosios kūlės (*Ustilago maydis* (DC.) Corda); nedidelis kiekis šio grybo sporų pagauta tik Dūkštų ažuolyne 2022 m. rugsėjo 7-13 d. periodu (**1 priedas**). Visgi labai tikėtina, kad visuose trijuose tirtuose medynuose (Šilinėje ir Dūkštose – gausiai) aptiktas taksonas *Erysiphe* sp. 6175_22 (**1 priedas**) iš tiesų yra invazinis ažuolo miltligės sukėlėjas *E. alphitoides*, tačiau testuojamos sekos 100 % sutapimas su keletu kitų Genų Banko duomenų bazėje pateikiamų šios genties rūšių sekomis neleido šio taksono identifikuoti iki rūšies.

Europos Sąjungoje (ES) karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių (pagal 2019 m. lapkričio 28 d. Komisijos įgyvendinimo reglamento (ES) 2019/2072 (<https://eur-lex.europa.eu/>) II priedo A ir B dalyse pateikiamus sąrašus) šio darbo metu aptikta nebuvo.

Svarbu paminėti, jog dėl šiam darbui nustatytų griežtų identifikavimo reikalavimų skirtingiems taksoniniams lygiams (pvz., taksono priskyrimas rūšiai, kai identifikuojamos sekos sutapimas su referencine seka Genų Banke yra ne mažesnis kaip 99 %), tikėtina, kad ne viena saugoma, invazinė ar karantinine laikoma rūšis liko neidentifikuota. Tenka pripažinti, kad tikslesniam identifikavimui sutrukdė ir palyginti nedidelis šio darbo metu gautų DNR ITS regiono sekų ilgis.

5. REZULTATŲ APTARIMAS

Šio darbo metu nustatyta labai didelė oru ar su krituliais pernešamomis sporomis plintančių grybų taksonominė įvairovė trijuose geografiškai nutolusiuose Lietuvos ažuolynuose, kuriuose vyravo seni (200 metų ir vyresnio amžiaus) ažuolai, – nustatytas 1881 taksonas (identifikavus tą patį skaičių OTV). Atlikta išties labai išsami, žinias apie Lietuvos ažuolynų biologinę įvairovę papildanti studija, kuri savo apimtimi ir identifikuotų taksonų skaičiumi mūsų šalyje neturi precedento. Lyginant su kitų autorių miško vietovėse atliktais grybų bendrijų tyrimais (metagenomininės analizės būdu tiriant pasyviomis ar aktyviomis gaudyklėmis sugautų sporų pavyzdžius), nustatyta išties įspūdinga taksonominė grybų įvairovė. Pavyzdžiui, Redondo ir kt. (2020), tirdami grybų sporų įvairovę Švedijos spygliuočių ir lapuočių miškuose (kiekvienoje miškų kategorijoje tirta po 4 geografiškai nutolusius medynus) bei žemės ūkio naudmenų plotuose iš viso nustatė 2099 OTV, tačiau nesukonkretino, kiek iš viso OTV nustatyta miškuose. Labai tikėtina, kad Švedijos miškuose buvo nustatyta mažiau OTV nei šio tyrimo metu. Abrego ir kt. (2018) Suomijos miškuose atlikto grybų sporų taksonominės įvairovės tyrimo metu identifikavo 1021 grybų taksoną. Marčiulynas ir kt. (2023a), ištyrę 12 mėnesių trijuose geografiškai nutolusiuose Lietuvos medynuose (mišriuose miškuose) pasyviomis sporų gaudyklėmis rinktus sporų pavyzdžius, nustatė 805 OTV. Castaño ir kt. (2019) pietryčių Ispanijoje, pajūrinės pušies (*Pinus pinaster*) medyno ore sugautų sporų pavyzdžiuose nustatė 521 OTV. Taigi, pastarasis darbas leido atskleisti labai plačią grybų sporų įvairovę tirtuose ažuolynuose, šį faktą patvirtina ir aukštas rūšių (taksonų) įvairovę nusakantis Shannon'o indeksas (H) – 4,69. Pavyzdžiui, minėtoje Marčiulyno ir kt. (2023a), studijoje Shannon'o indekso vertė buvo ženkliai mažesnė – svyravo tarp 1,8 ir 3,4. Kitame, Lietuvos miškuose atliktame tyrime, nagrinėjusiam grybų įvairovę ažuolų kelmuose, Shannon'o įvairovės indeksas tarp skirtingų tyrimo vietų svyravo tarp 0,92 ir 2,26 (Marčiulynas, Menkis, 2024). Vienu išsamiausių kada nors atliktų oro mikobiotos tyrimų metu Fröhlich-Nowoisky ir kt. (2009) aptiko stulbinamą grybų rūšių įvairovę ir konstatavo, jog oro filtrais surinktų grybų rūšių įvairovė gali būti labai didelė ir ne mažiau turtinga nei dirvožemio ir augalų mikobiota, šių autorių atliktame tyrime Shannon'o indekso vertė siekė 5,2, taigi, tik nežymiai viršijo šiame darbe gautas reikšmes.

Kaip žinia, grybų sporos vėjo gali būti pernešamos dideliais atstumais (Abrego *et al.*, 2018, Leyronas *et al.*, 2018), tad “ore sklidančių” grybų bendrijos (taksonominė sudėtis) gali būti ženkliai persimaišiusios gana plačiose teritorijose, ypač ten, kur vėjų neriboja įvairios kliūtys. Miškuose vėjai gerokai silpnesni nei atvirose vietovėse, tad natūraliai sporos juose skrenda mažesniais atstumais. Aukščiau minėtų Redondo ir kt. (2020) tyrimo rezultatai parodė, jog grybų bendrijų sudėtis labiausiai priklauso nuo augmenijos tipo, o geografinis atstumas vaidina mažesnę vaidmenį. Pastaroji išvalga

buvo artima ir šiam – grybų sporų taksonominės įvairovę Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose vertinusiame darbu. Kokybinio Sorensen'o indekso (SIq) reikšmės lyginant grybų bendrijų rūšinės (taksonų) sudėties panašumą tarp atskirų medynų porų buvo labai panašios (svyravo nuo 0,60 iki 0,63). Visgi, kiti tyrimai rodo, kad didėjant geografiniam atstumui tarp tarp tiriamų objektų, grybų bendrijos taip pat linkę labiau išsiskirti. Pastarojo tyrimo metu atstumai tarp Šilinės, Punios ir Dūkštų medynų neviršijo 130 km: didžiausias atstumas buvo tarp Šilinės ir Dūkštų ąžuolynų (apie 130 km), tarp Šilinės ir Punios ąžuolynų – apie 95 km, o tarp Dūkštų ir Punios ąžuolynų – apie 65 km. Tuo tarpu Marčiulyno ir kt. (2023a) tyrime grybų (sporų) bendrijų Sorensen'o panašumo indeksai tarp trijų skirtingų medynų (atstumai tarp jų svyravo nuo 100 iki 290 km) turėjo ženkliai mažesnes vertes – svyravo nuo 0,22 iki 0,48. Abrego ir kt. (2018) Suomijos miškuose atlikti tyrimai taip pat parodė, kad didesniu kaip 100 km atstumu esančiuose objektuose surinktų ore skraidančių grybų (sporų) bendrijos gana ryškiai viena nuo kitos skyrėsi, tačiau lyginant mažesniu kaip 10 km atstumu vienas nuo kito esančius objektus, grybų bendrijų sudėtis skyrėsi mažai. Pastarojo darbo metu pastebėta, jog skirtinguose ąžuolynuose, skirtingais pavyzdžių rinkimo periodais dominavo iš esmės skirtingų klasių atstovai, todėl aiškesnes priklausomybės nuo geografinio atstumo tendencijas išvelgti gana sudėtinga. Čia reikia pažymėti, kad grybų plitimą ir įvairovę lemiantys aplinkos veiksniai yra daugiakomponenčiai ir veikiantys kartu, o priklausomybė nuo kitų aplinkos sąlygų nei temperatūra ar santykinis oro drėgnumas šiame darbe nebuvo nagrinėta.

Kadangi šis tyrimas buvo atliktas naudojant pasyvias sporų gaudyklės, ir duomenų literatūroje apie paprastojo ąžuolo medynuose atliktus analogiškus tyrimus (t. y., metagenominė grybų sporų taksonominės sudėties analizė) pasaulyje nepavyko rasti, į lyginamąsias analizes įtraukti naujausi mokslininkų atliktų grybų įvairovės tyrimai miškų vietovėse, taip pat ir tie, kurie grybų įvairovei ąžuolynuose atskleisti taikė ir kitokius tyrimo metodus, pvz., šiuose medynuose rastų vaisiakūnių analizė.

Pastarosios studijos rezultatus lyginant su kitais panašaus pobūdžio (mikologiniais, rūšių įvairovės) tyrimais išvelgiama daug panašumų, ypač taksonominių skyrių pasiskirstymo miško ekosistemose aspektu. Šiame darbe visi 1881 OTV buvo suskirstyti į 6 skyrius, iš kurių kiek daugiau nei pusę visų OTV (53,1 %) sudarė aukšliagybių skyriaus grybų taksonai, o papėdgrybių skyriaus taksonai taip pat sudarė ženkliai visų nustatytų taksonų dalį (44,3 %). Labai panašius duomenis gavo Marčiulynas ir kt. (2023a), metagenominės analizės būdu ištyrę Lietuvos mišriuose miškuose pasyviomis sporų gaudyklėmis rinktus sporų pavyzdžius: iš visų nustatytų OTV, 53,4 % sudarė aukšliagybiai ir 46,5 % – papėdgrybiai. Panašūs rezultatai gauti ir Redondo ir kt. (2020) grybų įvairovės spygliuočių ir lapuočių miškuose bei žemės ūkio naudmenų plotuose atliktame tyrime, Womack ir kt. (2015) grybų sporų taksonominės sudėties atmosferos sluoksnyje virš Amazonės

atogrąžų miško bei Chen ir kt. (2018) Kanadoje atliktuose oro ir kritulių mėginių tyrimuose. Abrego ir kt. (2018) Suomijos miškuose atlikę sporų taksonominės įvairovės tyrimą bei remdamiesi kitų autorių (Fröhlich-Nowoisky *et al.*, 2009, Pashley *et al.*, 2012, Womack *et al.*, 2015) darbais, priėjo išvados, kad miškingų vietovių oro mikrobiotoje didesnė yra papėdgrybių skyriaus atstovų įvairovė, tuo tarpu aukšliagrybių taksonominė įvairovė daugiau būdinga urbanizuotoms teritorijoms. Tai aiškinama aukšliagrybiams lengviau pakeliama didesne oro tarša ir augalinių nuokritų stoka šiose teritorijose. Visgi šio, Lietuvos ąžuolynuose atlikto tyrimo metu aukšliagrybių taksonominė įvairovė beveik visu tyrimo laikotarpiu (išskyrus paskutinį – vėsiausią ir drėgniausią sporų gaudymo periodą) buvo didesnė nei papėdgrybių. Aukšliagrybių sporų gausa ore ir didesnė taksonominė įvairovė taip pat siejama su sausais (t. y., mažos santykinės oro drėgmės) periodais (Elbert *et al.*, 2007). Pastarojo tyrimo rezultatai iš esmės patvirtina šį teiginį – didėjant vidutiniam santykiniam oro drėgnumui pastebėtas aukšliagrybių taksonų skaičiaus proporcijos mažėjimas, o papėdgrybių – didėjimas.

Kalbant apie nustatytų grybų taksonų priskyrimą taksonominėms klasėms, daugiausia šio darbo metu nustatyta *Agaricomycetes*, *Dothideomycetes*, *Sordariomycetes*, *Leotiomycetes*, *Tremellomycetes* ir *Eurotiomycetes* klasėms priskirtų grybų taksonų. Tokios pat klasės, pagal pasiskirstymo dažnumą, kartojosi ir Marčiulyno ir Menkio (2024) bei Marčiulyno ir kt. (2023a) Lietuvoje atliktuose metagenominiuose grybų įvairovės tyrimuose, taip pat, Kanados miškuose tirtuose oro ir kritulių mėginiuose (Chen *et al.*, 2018). Iš esmės panašius rezultatus gavo ir kiti grybų sporų taksonominę įvairovę tyrę autoriai (Fröhlich-Nowoisky *et al.*, 2009, Pashley *et al.*, 2012, Womack *et al.*, 2015; Abrego *et al.*, 2018, Redondo *et al.*, 2020).

Pastarajam Lietuvos ąžuolynuose atliktam darbui daugeliu aspektų labai artimas Marčiulyno ir kt. (2023a) Lietuvoje atliktas tyrimas, kurio metu metagenominiais tyrimais siekta išanalizuoti konkrečioms miško vietovėms būdingas grybų bendrijas ore (sporas), daugiausia dėmesio skiriant augalų patogenams. Marčiulyno ir kt. (2023a) tirtuose Labanoro, Lenkimų ir Dubravos miškuose labiausiai paplitę grybų taksonai buvo *Hannaella coprosmae* (Hamam. & Nakase) F.Y. Bai & Q.M. Wang, bei *Cladosporium macrocarpum* Preuss. Skirtinguose tyrimo objektuose fitopatogeniniai grybai sudarė nuo 1,6 % iki 14,6 % visų identifikuotų grybų taksonų, o tarp jų labiausiai paplitę buvo *Protomyces inouyei* Hennings ir *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll rūšys. Be kitų patogenų, autoriai aptiko tris augalų ligas sukeliančias *Fusarium* sp. rūšis (*F. lateritium* Wollenweber, *F. graminearum* Schwabe ir *F. sacchari* (E.J. Butler) W. Gams), kurios buvo tarp dešimties gausiausių fitopatogenų visose mėginių ėmimo vietose (Marčiulynas *et al.*, 2023a). Iš minėtoje studijoje nustatytų rūšių, šiame darbe taip pat aptikta *S. polyspora* (0,42 % visų nustatytų sekų), o antras taksonas, pagal santykinį sporų gausumą visuose medynuose, bendrai, buvo iki rūšies neidentifikuotas *Cladosporium* sp. 6175_14 (7,2 % visų nustatytų sekų); mieliagrybis *H. coprosmae*

(šiam darbe identifikuotas kaip *Bullera coprosmae* Hamam. & Nakase) gana dažnai pasitaikė visų medynų sporų pavyzdžiuose, o *F. lateritium* aptiktas negausiai tik Punios ąžuolyne. Įdomu pastebėti tai, kad Marčiulynas ir kt. (2023a) tirtuose pavyzdžiuose aptiko labai nedaug šio darbo metu itin gausiai pasitaikiusių *Exobasidiales* eilės grybų sporų, tik pavieniais aptiktos tokie ąžuolynuose gausiai pasitaikę taksonai kaip *Vishniacozyma victoriae*, *Melampsora* genties atstovai, labai dažnai mūsų šalyje sutinkamas ektomikorizinis papėdgrybis žeminis karpininkas (*T. terrestris*) bei saprotrofinis papėdgrybis pilkšvarudė mažasporė (*Baeospora myosura*). Bendrai, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose papėdgrybių skyriaus *Agaricomycetes* klasė buvo tiek turtingiausia taksonais (t. y., pasižymėjo didžiausia rūšine įvairove), tiek pirmavo ir pagal sugautų sporų santykinį gausumą; tuo tarpu Marčiulyno ir kt. (2023a) tyrime ši klasė nustatytų taksonų gausa nepasižymėjo.

Atsižvelgiant į tyrimui vykdyti pasirinktą laiką bei medžių amžių (beje, vieną iš atrankos kriterijų šiam darbui), galima palyginti šio darbo metu gautus rezultatus su Iršėnaitės ir Kutorgos (2006) atlikta grybų rūšinės sudėties analize ant stambių negyvos ąžuolo medienos liekanų įvairiuose Lietuvos ąžuolynuose panašiu metų laiku – rugpjūčio-spalio mėnesiais. Čia reikia paminėti, kad grybų apskaita atlikta remiantis vaisiakūnių paieška ir identifikavimu pagal morfologinius požymius. Aptariamo tyrimo metu identifikuotos 203 su negyva ąžuolo mediena susijusios grybų rūšys, kurių didžiąją dalį sudarė papėdgrybiai (75,4 %; likusią dalį sudarė aukšliagrybiai), tarp kurių dažniausiai aptiktos rūšys – *Hymenochaete rubiginosa* Dicks., *Hyphodontia quercina* (Pers.) J. Erikss., *Phanerochaete velutina* DC. ir *Schizopora paradoxa* (Schrad.) Donk (Iršėnaitė, Kutorga, 2006). Iš minėtų rūšių, Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose aptikta tik viena rūšis – *H. rubiginosa*, tačiau – negausiai (tarp trijų ąžuolynų kiek gausiau Punioje). Didžiausią santykinio sporų gausumo dalį medynuose (bendrai) sudarė *Exobasidiales* 6175_7 (*Basidiomycota*), o tarp identifikuotų iki rūšies – agarikomicetas *T. terrestris*. Tarp Iršėnaitės ir Kutorgos (2006) nustatytų aukšliagrybių dažniausios rūšys buvo vaisiakūnius formuojančios *Eriopezia caesia* (Pers.) Rehm, *Humaria hemisphaerica* F. H. Wigg., *Mollisia cinerea* Batsch ir *Nemania serpens* (Pers.) Gray, iš kurių tik pastaroji aptikta Šilinės, Punios ir Dūkštų tyrimo metu, tačiau vėlgi – negausiai. Šie rezultatai patvirtina kitų autorių (žr. Abrego *et al.*, 2018) padarytas išvadas, jog grybų sporų taksonominė įvairovė ore iš esmės menkai atspindi pagal vaisiakūnius nustatytą įvairovę.

Pagal Faticov ir kt. (2021) klimatas ir lokalsios meteorologinės sąlygos yra vieni pagrindinių veiksnių, formuojančių gyvų organizmų bendruomenes gamtoje. Šiame darbe taip pat buvo nagrinėta grybų taksonominės įvairovės ir santykinio sporų gausumo dinamika laiko gradientu bei priklausomybė nuo meteorologinių sąlygų (temperatūros ir santykinės oro drėgmės). Stępalska ir Wołek (2005) Lenkijoje, Krokuvos mieste balandžio-lapkričio mėnesiais atliko tyrimą, kuris atskleidė, jog koreliacija tarp sporų koncentracijos ore ir oro temperatūros buvo teigiama ir statistiškai

reikšminga (vienok, ryšys nebuvo statistiškai patikimas). Taip pat šie autoriai nustatė, kad santykinė oro drėgmė reikšmingai ir teigiamai koreliuoja su daugumos grybų sporų koncentracija ore. Lietuvos miškuose atlikto tyrimo metu Marčiulynas ir kt. (2023a) taip pat nustatė, kad aukštesnė oro temperatūra ir didėjantis drėgmės (kritulių) gausumas turi teigiamą (nors nelabai išreikštą) poveikį tiek grybų taksonų skaičiui, tiek santykiniam sporų gausumui, nors sezoniniškumo poveikis grybų bendrijų sudėčiai buvo mažiau išreikštas. Tuo tarpu Redondo ir kt. (2020) Švedijoje atlikto tyrimo metu gavo priešingus rezultatus – čia nustatyta neigiama koreliacija tarp temperatūros ir rūšių gausumo. Tiriant grybų sporų sklaidos priklausomybę nuo aplinkos sąlygų (temperatūros ir santykinės oro drėgmės) Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose (šis tyrimas), kiekviename iš medynų pastebėtos skirtingos taksonų skaičiaus ir sporų gausumo priklausomybės nuo vidutinės oro temperatūros bei santykinės oro drėgmės tendencijos: Šilinės ąžuolyne tiek taksonų skaičiaus, tiek santykinio sporų gausumo koreliacija su vidutine oro temperatūra buvo labai silpna, o su vidutine santykinė oro drėgmė – teigiama ir, atitinkamai, stipri arba labai stipri. Tuo tarpu Punios ir Dūkštų ąžuolynuose taksonų skaičiaus koreliacija su vidutine oro temperatūra buvo teigiama, o su vidutine santykinė oro drėgmė, priešingai nei Šilinėje, buvo silpnai neigiama. Analogiškai rezultatai Punios ir Dūkštų ąžuolynuose gauti vertinant santykinio sporų gausumo koreliaciją su vidutine oro temperatūra bei drėgmė, tik ryšys nebuvo statistiškai patikimas. Tokie gana prieštaringi rezultatai aiškintini tuo, jog veikiausiai grybų sporų sklaidą ore lygiagrečiai veikia keletas aplinkos veiksnių. Pavyzdžiui, Unterseher ir Tail (2006) svarbiais veiksniais grybų rūšių įvairovės ir gausumo dinamikai be oro temperatūros ir santykinės drėgmės taip pat išskyrė vėjo poveikį, vandens prieinamumą, substrato tipą ir jo būklę, Abrego ir kt. (2018) atkreipė dėmesį į pačių rūšių reprodukcinę fenologiją (pvz., priklausomybę nuo sezono ar paros laiko bei daugelį kitų veiksnių, į kuriuos šiame darbe nebuvo atsižvelgta.

Yra žinoma, jog augalų, įskaitant medžius, gyvenime grybai atlieka daugybę skirtingų funkcinių vaidmenų – nuo mikorizės ryšių su šaknimis, aprūpinant augalą svarbiomis maistinėmis medžiagomis bei mikroelementais, iki parazitizmo, kuomet patogeniniai grybai minta gyvaisiais augalo-šeimininko audiniais ir gali sukelti jo ligą ar net žūtį (Bitsadze *et al.*, 2018; Wahab *et al.*, 2023). Šio tyrimo metu gautus rezultatus – nustatytų grybų taksonų priskyrimą trofinėms/funkcinėms grupėms visų pirma norėjosi palyginti metagenominės analizės pagalba atskleistomis grybų bendrijomis ąžuolynuose, deja, apie išsamius sporų taksonominius tyrimus tokiuose medynuose nepavykus rasti duomenų, teko remtis medieną kolonizuojančių grybų įvairovės tyrimais. Marčiulyno ir Menkio (2024) atliktas tyrimas Kėdainių, Prienų ir Telšių rajonuose, kurio metu buvo tirta grybų įvairovė, sudėtis ir ilgalaikė dinamika įvairaus amžiaus (10-50 metų) ąžuolų kelmuose (medienoje), parodė, kad dažniausiai pasitaikantys grybai priklausė neapibrėžtų saprotrofų (32,3 %), medienos

saprotrofų (31,4 %) ir endofitų (24,6 %) funkcinėms grupėms. Kitame, Marčiulyno ir kt. (2023b) atlikto ąžuolo žaizdų mikobiotos tyrimo metu nustatyta, kad visuose žaizdų mėginiuose gausiausiai pasitaikė tos pačios grybų trofinės grupės kaip ir ankstesniame tyrime: neapibrėžti saprotrofai (37,9 %), medienos saprotrofai (24,2 %), tik gausiau pasireiškė augalų patogenai (14,2 %), aplenkę endofitų grupę (12,7 %). Visgi, Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose nustatytų taksonų pasiskirstymas funkcinėms grupėms buvo gerokai artimesnis analogišku būdu atliktam Marčiulyno ir kt. (2023a) tyrimui mišriuose miškuose (ne ąžuolynuose), kur tarp taksonų, kurie buvo priskirti funkcinėms grupėms, kaip ir šio darbo metu tirtuose ąžuolynuose, vyravo saprotrofai, po jų sekė patogeniniai grybai, o mikoriziniai grybai sudarė palyginti nedidelę sporų mikobiotos dalį.

Detaliau paanalizavus bendrą santykinę sporų gausumą visuose medynuose (Punios, Dūkštų ir Šilinės), išskirtinis dėmesys teiktas papėdgrybių skyriaus agarikomictų (*Agaricomycetes*) klasei. Lyginant su kitais medynais, Punios ąžuolyne aptikta didžiausia šios klasės atstovų taksonominė įvairovė. Taip pat šis medynas pasižymėjo didžiausia unikalių grybų taksonų dalimi. Verta pabrėžti, jog Punios šilo nemažą dalį užima botaninis-zoologinis draustinis ir griežtai saugomas gamtinis rezervatas su ypač turtinga biologine įvairove. Čia nemažą medynų dalį sudaro brandūs ąžuolynai (vyrauja 150-200 m. amžiaus ąžuolai, tačiau pasitaiko ir 400-600 metų sulaukusių ąžuolų) ir pušynai (vyrauja 110-200 m. amžiaus pušys, tačiau pasitaiko ir vyresnių nei 200 m. amžiaus pušų), kuriuose ypač gausu saugomų rūšių augalų, gyvūnų ir grybų. Visame Punios šile yra aptikta 115 įvairių organizmų rūšių, įrašytų į Lietuvos RK (Dargienė, 2018). Pagal Punios rezervato veiklą reglamentuojančius teisės aktus (<https://e-seimas.lrs.lt>) Punios šilo gamtiniame rezervate privaloma užtikrinti pirmykščių Lietuvos girių bruožus išlaikiusį gamtinį kraštovaizdį, apimant natūralias buveines, saugomas gyvūnų, augalų ir grybų rūšis, iš pastarųjų – ypač ąžuolinio pintenio (*Piptoporus quercinus*), ąžuolinės baktrosporos (*Bactrospora dryina*), skėtriosios briedragės (*Evernia divaricata*) ir labai gausias populiacijas draustinyje turinčiomis plačiosios platužės (*Lobaria pulmonaria*), skylėtosios menegacijos (*Menegazzia terebrata*), ąžuolinės kepenos (*Fistulina hepatica*), krockinio minkštenio (*Hapalopilus croceus*), karpotosios kempės (*Trametes gibbosa*) ir skaisčiosios raudonpintėlės (*Pycnoporellus fulgens*) rūšimis. Šio darbo metu Punios ąžuolyne aptiktos tik dvi į Lietuvos RK (Rašomavičius, 2021) įtrauktos papėdgrybių skyriaus rūšys – ąžuolinė kepena (*F. hepatica*) ir kurapkinis storplutis (*X. frustulatus*), ir abiejų šių grybų rūšių sporų santykinis gausumas nebuvo didelis. Reikia pabrėžti, jog dėl šiam darbui taikytų itin griežtų kriterijų rūšies taksonominiam lygmeniui (kai lyginamos sekos sutapimas su Genų Banko referencine seka buvo ne mažesnis nei 99 %), tikėtina, jog kai kurios saugomos rūšys liko neatpažintos ir buvo identifikuotos tik iki žemesnių taksonominių lygmenų.

Taip pat, veikiausiai dėl tos pačios priežasties nepavyko išsamiau atskleisti ir invazinių bei karantininiais laikomų organizmų sutinkamumo (įvairovės) Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose surinktų sporų pavyzdžiuose. Remiantis Motiejūnaitės ir kt. (2017) pateiktu Lietuvoje invazinėmis pripažintų grybų rūšių sąrašu, šio darbo metu pavyko aptikti tik dviejų minėto sąrašo grybų rūšių sporų: aukšliagybio uosinio uknolūno (*H. fraxineus*; santykinis gausumas medynuose buvo itin mažas) ir javinių žemės ūkio kultūrų patogeno aukšliagybio – pūslėtųjų kūlių (*U. maydis*; nedidelis kiekis šio grybo sporų pagauta tik Dūkštų ąžuolyne). Labai tikėtina, kad visuose trijuose tirtuose medynuose aptiktas (o Šilinėje ir Dūkštose – gausiai) taksonas *Erysiphe* sp. 6175_22 iš tiesų buvo invazinis grybas – ąžuolo miltligės sukėlėjas *E. alphitoides*, tačiau šio tyrimo metu gautos DNR sekos 100 % sutapimas su keleto kitų Genų Banko duomenų bazėje pateikiamų šios genties rūšių sekomis neleido šio taksono identifikuoti iki rūšies. ES karantininiais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių sporų taip pat neaptikta.

Svarbiausi iššūkiai (problemos), su kuriais teko susidurti atliekant šį tyrimą:

1. Grybų taksonų identifikavimas: Genų Banko duomenų bazėje yra publikuota nemažai netinkamai identifikuojamų organizmų taksonų rDNR sekų, kas ne tik atima daug laiko ieškant patikimų šaltinių, tačiau ir menkina gautų identifikavimo rezultatų patikimumą. Be to, palyginti nedidelis šio darbo metu gautų DNR ITS regiono sekų ilgis taip pat neigiamai atsiliepia rezultatų patikimumui. Ateities tyrimuose būtų pravartu rinktis kitą metagenominės sekoskaitos paslaugų teikėją, arba užsitikrinti aukštesnę teikiamų paslaugų kokybę (generuojamas ilgesnes DNR sekas).
2. Dėl šiam darbui nusistatytų (beje, panašiuose tyrimuose plačiai taikomų!) griežtų identifikavimo reikalavimų rūšies taksonominiam lygiui (sutapimas su Genų Banko referencine seka turi būti ne mažiau kaip 99,0 %), veikiausiai ne viena grybų rūšis (įskaitant saugomas, invazines ar karantininėmis laikomas rūšis) liko neidentifikuota, nors neretai pasitaikė atvejų, kuomet, vadovaujantis logika, seką su šiek tiek mažesniu nei 99,0 % sutapimo procentu galima būtų identifikuoti iki rūšies lygmens. Deja, lankstumas šiuo atveju nepriimtinas.
3. Grybų taksonų priskyrimas trofinėms grupėms: bemaž pusei nustatytų taksonų nepavyko nustatyti trofinės grupės FUNGuild duomenų bazėje. Pagrindinės priežastys – dėl taikytų griežtų taksonominių kriterijų taksonas identifikuotas iki pernelyg stambios taksonominės grupės (platus trofinių grupių spektras duotoje grupėje) arba trūksta informacijos apie konkrečios rūšies (ar taksonominės grupės) ekologines savybes. Tenka pripažinti, kad automatizuotoje FUNGuild duomenų bazėje taip pat

pasitaiko nemažai klaidų, o kiekvieno taksono tikrinimas „rankiniu būdu“ (t. y., ieškant informacijos įvairiuose šaltiniuose apie žinomas ekologines savybes) yra labai laikui imlus procesas. Taip pat paminėtina, kad grybų rūšių nomenklatūros tikslinimas yra nuolatinis procesas, todėl labai dažnai pasitaikė atvejų, kai skirtinguose šaltiniuose (įskaitant ir įvairias duomenų bazes) pateikiami skirtingi tos pačios rūšies pavadinimai. Tai gana ženkliai apsunkino gautų rezultatų analizę, palyginimą su kitų autorių darbais. Siekiant tikslumo iš esmės reikėtų analizuoti kiekvieno aptarinėjamo taksono nomenklatūrą, tikrinti sinonimus ir įvairius patikslinimus (pvz., pasitelkiant MycoBank (www.mycobank.org) duomenų bazėje pateiktą informaciją).

IŠVADOS

Tyrimo rezultatai leido padaryti tokias išvadas:

- 1) pasyviomis sporų gaudyklėmis ir sugautų sporų pavyzdžių DNR ITS regionų sekų metagenominės analizės pagalba atskleista labai turtinga taksonominė grybų įvairovė Lietuvos senuosiuose ąžuolynuose – nustatytas 1881 taksonas; visgi grybų taksonų (rūšių) įvairovė tirtuose medynuose dar nėra pilnai atskleista;
- 2) pagal nustatytų taksonų skaičių tirtuose ąžuolynuose gausiausias buvo aukšliagybių (*Ascomycota*) taksonominis skyrius (999 taksonai, 53,1 %), antras pagal gausumą – papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyrius (833 taksonai; 44,3 %), kiti grybų taksonominiai skyriai (*Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota* ir *Zoopagomycota*) nepasižymėjo taksonų gausumu (2,6 %);
- 3) pagal santykinę sporų (DNR sekų) gausumą grybų skyriai pasiskirstė kiek kitaip – daugiausia (62,8 %) sugeneruota papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriaus atstovų sekų, antroje vietoje su 35,0 % liko aukšliagybiai (*Ascomycota*), o likusių skyrių atstovų santykinis sporų (DNR sekų) gausumas sudarė vos 3,2 % nuo visų sugeneruotų DNR sekų; šie rezultatai iš esmės patvirtina kitų tyrėjų panašiuose tyrimuose gautus rezultatus;
- 4) tarp trijų geografiškai nutolusių paprastojo ąžuolo medynų nustatytų grybų bendrijų sudėtis (pagal apskaičiuotus Sorensen'o bendrijų panašumo indeksus) ir rūšinė įvairovė (pagal apskaičiuotus Shannon'o įvairovės indeksus) skyrėsi nereikšmingai; tam įtakos galėjo turėti palyginti nedidelis atstumas (65-130 km) tarp pasirinktų tyrimo objektų;
- 5) lyginant su kitais tirtais medynais (Šilinės ir Dūkštų ąžuolynais), Punios ąžuolyne aptiktas didžiausias grybų taksonų skaičius; be to, šis medynas pasižymėjo didžiausia unikalių grybų taksonų dalimi;
- 6) vertinant visus tirtus ąžuolynus bendrai, ryškios koreliacijos tarp taksonų skaičiaus (taip pat ir santykinio sporų gausumo) ir vidutinės oro temperatūros bei santykinės oro drėgmės nepastebėta; o atskiruose ąžuolynuose pastebėtos skirtingos (kartais gana prieštaringos) taksonų skaičiaus ir sporų gausumo priklausomybės nuo vidutinės oro temperatūros bei santykinės oro drėgmės tendencijos. Visgi akivaizdu, kad didėjant vidutiniam santykiniam oro drėgnumui mažėja oru plintančių aukšliagybių taksonų skaičius, o papėdgrybių – didėja;

- 7) tirtuose ąžuolynuose pagal trofines (funkcines) grupes vyravo saprotrofai, po jų sekė patogeniniai grybai (patotrofai), o mikoriziniai ir kiti simbiotrofams priskirtini grybai sudarė palyginti nedidelę sporų mikrobiotos dalį;
- 8) Lietuvos Raudonosios knygos (RK) bei invazinių grybų rūšių tirtuose medynuose aptikta labai nedaug (2 RK rūšys ir 2 invazinės rūšys – visos nedideliu gausumu), o Europos Sąjungoje (ES) karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų apskritai neaptikta. Reikia pabrėžti, jog dėl šiam darbui taikytų itin griežtų kriterijų rūšies taksonomiam lygmeniui nustatyti, tikėtina, jog kai kurios “ieškomos” rūšys liko neidentifikuotos.

SANTRAUKA

VILNIAUS UNIVERSITETAS
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS

Teodora Plepytė
Magistro baigiamasis darbas

GRYBŲ SPORŲ TAKSONOMINĖ ĮVAIROVĖ AŽUOLYNUOSE

Ažuolynai – tiek Lietuvai, tiek Europai svarbios miškų ekosistemos, pasižyminčios savitumu ir ypač turtinga biologine įvairove, kurią, siekiant tas ekosistemas išsaugoti, būtina išsamiai iširti. **Tyrimo tikslas** – metagenominių tyrimų pagalba atskleisti ir palyginti grybų sporų taksonominę įvairovę trijuose Lietuvos paprastojo ąžuolo (*Quercus robur* L.) medynuose, taikant laiko gradientą. **Uždaviniai:** 1) pasyviomis sporų gaudyklėmis surinkti sporų pavyzdžius Punios, Dūkštų ir Šilinės ąžuolynuose (saugomose teritorijose); 2) atlikti surinktų mėginių metagenominę analizę, pagal gautas ITS regiono DNR sekas atlikti grybų sporų taksonominį klasifikavimą; 3) palyginti grybų sporų taksonominę įvairovę tarp trijų geografiškai nutolusių paprastojo ąžuolo medynų; 4) nustatyti identifikuotų grybų sutinkamumo dėsningumus laiko gradiente ir besikeičiančių meteorologinių sąlygų įtakoje; 5) įvertinti Lietuvos Raudonosios knygos, invazinių bei ES karantiniais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių paplitimo dažnį tiriamuose medynuose.

Kiekviename tirtame ąžuolyne buvo įrengta ir 2022 m. rugpjūčio-rugsėjo mėn. tikrinta po 5 sporų gaudykles; iš viso per 5 savaites surinkti 75 pavyzdžiai. Atlikus metagenominę surinktų sporų ir bioinformatinę duomenų analizę, gautos DNR ITS regiono sekos priskirtos 1881 operatyviniams taksonominiams vienetams (OTV), kurie suskirstyti į 6 taksonominius grybų skyrius ir 36 klases. Iš visų 1881 OTV, 614 (32,6 %) pavyko identifikuoti iki rūšies lygmens, 374 (19,9 %) – iki genties. Iš 1881 OTV, aukšliagrybių (*Ascomycota*) taksonomiam skyriui priskirti 999 taksonai (53,1 %), papėdgrybių (*Basidiomycota*) – 833 taksonai (44,3 %), kitiems skyriams (*Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota* ir *Zoopagomycota*) priskirti tik 49 taksonai (2,6 %). Pagal santykinį sporų (DNR sekų) gausumą pirmoje vietoje atsidūrė papėdgrybiai, antroje – aukšliagrybai, o likusių skyrių atstovų santykinis sporų (DNR sekų) gausumas buvo nežymus; šie rezultatai iš esmės patvirtina kitų tyrėjų panašiuose tyrimuose gautus rezultatus.

Lyginant grybų bendrijas skirtinguose medynuose paaiškėjo, kad tarpusavyje jos patikimai reikšmingai nesiskyrė nei pagal bendrijų rūšinę sudėtį (tiek kokybiniu, tiek kiekybiniu aspektais), nei pagal rūšinės įvairovės, nei pagal rūšių išsidėstymo tolygumo indeksus; tam įtakos galėjo turėti palyginti nedidelis atstumas (65-130 km) tarp pasirinktų tyrimo objektų. Visgi pastebėta, kad Punios ąžuolynas išsiskyrė grybų rūšių (taksonų) turtingumu ir santykiniu čia sugautų sporų gausumu. Analizuojant visų duomenis bendrai, ryškios koreliacijos tarp taksonų skaičiaus ir vidutinės oro temperatūros bei santykinės oro drėgmės nepastebėta. Analogiškai, ryškios koreliacijos nepastebėta ir vertinant santykinio sporų gausumo priklausomybę nuo meteorologinių parametrų. Visgi nustatyta, kad didėjant vidutiniam santykiniam oro drėgnumui mažėja oru plintančių aukšliagybių taksonų skaičius, o papėdgrybių – didėja. Tirtuose ąžuolynuose pagal trofines (funkcines) grupes vyravo saprotrofai, po jų sekė patogeniniai grybai (patotrofai), o mikoriziniai ir kiti simbiotrofams priskirtini grybai sudarė palyginti nedidelę sporų mikrobiotos dalį.

Tyrimo metu aptiktos dvi į Lietuvos RK įtrauktos papėdgrybių skyriaus rūšys – ąžuolinė kepena (*Fistulina hepatica*) ir kurapkinis storplutis (*Xylobolus frustulatus*). Taip pat aptiktos dvi invazinės rūšys – uosinis uknolūnas (*Hymenoscyphus fraxineus*) ir pūslėtosios kūlės (*Ustilago maydis*). Europos Sąjungoje (ES) karantininiais organizmais laikomų (ar rekomenduojamų kontroliuoti) grybų rūšių neaptikta. Reikia pabrėžti, jog dėl šiam darbui taikytų itin griežtų kriterijų rūšies taksonominiam lygmeniui nustatyti, tikėtina, jog kai kurios “ieškomos” rūšys liko neidentifikuotos. Tokio pobūdžio ir tokio plataus masto tyrimas Lietuvos ąžuolynuose atliktas pirmą kartą; duomenų apie paprastojo ąžuolo medynuose atliktus analogiškus tyrimus pasaulyje taip pat nepavyko rasti.

SUMMARY

VILNIUS UNIVERSITY
LIFE SCIENCES CENTER

Teodora Plepytė
Master thesis

TAXONOMIC DIVERSITY OF FUNGAL SPORES IN OAK STANDS

Oak stands are important forest ecosystems for Lithuania and Europe, with their distinctive character and particularly rich biodiversity, which must be studied in detail if they are to be conserved. The aim of the present study was to reveal and compare the taxonomic diversity of fungal spores in three Lithuanian pedunculate oak (*Quercus robur* L.) stands using a time gradient and metagenomic approach. Objectives: 1) to collect spore samples in Punia, Dūkštos and Šilinė oak stands (protected areas) using passive spore traps; 2) to perform metagenomic analysis of the collected samples, and to perform taxonomic classification of fungal spores on the basis of the obtained DNA sequences of the ITS region; 3) to compare the taxonomic diversity of fungal spores among the three geographically distant stands of pedunculate oak; 4) to determine the patterns of occurrence of the identified fungi in a time gradient and under the influence of changing meteorological conditions; 5) to assess the frequency of occurrence of fungal species listed in the Lithuanian Red Data Book (RDB), invasive and organisms considered as quarantine species in the EU.

Five spore traps were installed in each oak stand and inspected between August and September 2022; a total of 75 samples were collected over 5 weeks. After metagenomic analysis of the collected spores and bioinformatic analysis of the obtained data, the resulting DNA ITS region sequences were assigned to 1881 operational taxonomic units (OTUs), which were divided into 6 taxonomic phyla and 36 classes of fungi. Of the 1881 OTUs, 614 (32,6 %) could be identified to species level and 374 (19,9 %) to genus level. Of the 1881 OTUs, 999 taxa (53,1 %) were assigned to *Ascomycota*, 833 taxa (44,3 %) to *Basidiomycota*, and only 49 taxa (2,6 %) were assigned to *Chytridiomycota*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota* and *Zoopagomycota*. In terms of relative abundance of spores (DNA sequences), *Basidiomycota* fungi ranked first, with *Ascomycota* fungi second, while the other phyla showed negligible relative abundance of spores, which generally confirms the results obtained by other researchers in similar studies.

Comparison of fungal communities in different stands showed that they did not differ significantly from each other in terms of species composition (both qualitatively and quantitatively), species richness, or evenness of species distribution, which may have been influenced by the relatively short distance (65-130 km) between the selected study sites. However, it was observed that the Punios stand was distinguished by the richness of fungal species (taxa) and the relative abundance of spores captured there. When analysing the data for the three stands as a whole, there was no significant correlation between the number of taxa and the average air temperature and relative humidity. Similarly, no significant correlation was observed when looking at the dependence of relative spore abundance on meteorological parameters. In the oak stands studied, saprotrophs dominated in terms of trophic (functional) groups, followed by pathogenic fungi (pathotrophs), while mycorrhizal and other symbiotrophic fungi accounted for a relatively low proportion of the spore mycobiota.

The survey revealed two *Basidiomycete* species of the Lithuanian RDB – *Fistulina hepatica* and *Xylobolus frustulatus*. Two invasive species were also detected – the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus fraxineus* and wheat pathogen *Ustilago maydis*. No fungal species considered as quarantine organisms (or recommended for control) in the European Union were found. It should be stressed that due to the very strict criteria applied for this work to determine the taxonomic level of a species, it is likely that some 'wanted' species remained unidentified. This is the first time that a study of this nature and scale has been carried out in Lithuanian oak stands; data on similar studies carried out in oak stands worldwide could not be found either.

PADĖKA

Šiame akademiniam etape aš ne tik susidūriau su iššūkiais, bet ir jaučiau didelį palaikymą iš žmonių, kurie manimi nuoširdžiai tikėjo ir padėjo visame šios įdomios kelionės etape.

Visų pirma, norėčiau išreikšti nuoširdžią padėką savo **Vadovui dr. Vaidotui Lygiui** (Gamtos tyrimų centras). Jo nepriekaištingas profesionalumas, išsamūs patarimai, išskirtinė kantrybė ir nuolatinis dėmesys mano darbui buvo labai svarbūs komponentai mano mokslinėms kompetencijoms ugdyti. Taip pat, padrašinantys žodžiai, mokymo metodai ir gebėjimas aiškiai perteikti sudėtingas koncepcijas padarė didelį įspūdį ir paliko neišdildomą žymę tiek mano akademiniam, tiek asmeniniam tobulėjime.

Antra, dėkoju dr. Adui Marčiulynei (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Miškų instituto Miško apsaugos ir medžioklėtyros skyrius) už Jo visokeriopą pagalbą, kuri buvo būtina mano baigiamojo darbo tyrimams atlikti.

Trečia, negaliu nepaminėti ir savo Šeimos, kuri buvo mano stiprybės ir įkvėpimo šaltinis. Jos beribis palaikymas, supratingumas, kantrybė ir meilė buvo ta šviesa, padėjusi man ne tik neprarasti motyvacijos, bet ir klestėti per visus šio svarbaus gyvenimo etapo išbandymus. Ačiū, kad buvote mano stiprus užnugaris sunkumuose ir tikras džiaugsmas sėkmėje.

LITERATŪRA

1. Abrego N., Norros V., Halme P., Somervuo P., Ali-Kovero H., Ovaskainen O., 2018. Give me a sample of air and I will tell which species are found from your region: molecular identification of fungi from airborne spore samples. *Molecular Ecology Resources*, 18(1), 511–524. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12755>
2. Agostinelli M., Cleary M., Martín J. A., Albrechtsen B. R., Witzell J., 2018. Pedunculate Oaks (*Quercus robur* L.) Differing in Vitality as Reservoirs for Fungal Biodiversity. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1758. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01758>
3. Aguayo J., Fourrier-Jeandel C., Husson C., Ioos R., 2018. Assessment of passive traps combined with high-throughput sequencing to study airborne fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(11), e02637-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02637-17>
4. Aime M. C., Matheny P. B., Henk D. A., Frieders E. M., Nilsson R. H., Piepenbring M., McLaughlin D. J., Szabo L. J., Begerow D., Sampaio J. P., Bauer R., Weiß M., Oberwinkler F., Hibbett D., 2006. An overview of the higher level classification of *Pucciniomycotina* based on combined analyses of nuclear large and small subunit rDNA sequences. *Mycologia*, 98(6), 896-905. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832619>.
5. Anees-Hill S., Douglas P., Pashley C. H., Hansell A., Marczylo E. L., 2022. A systematic review of outdoor airborne fungal spore seasonality across Europe and the implications for health. *Science of The Total Environment*, 818 (20), 151716. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151716>
6. Aplinkosaugos koalicija, 2024. *Biologinė įvairovė ir kraštovaizdis. Saugomos teritorijos* [žiūrėta 2024-05-06]. Prieiga per internetą https://www.akoalicija.lt/aplinkos_bukle/gamta
7. Banchi E., Ametrano C. G., Tordoni E., Stanković D., Ongaro S., Tretiach M., Pallavicini A., Muggia L., 2020. Environmental DNA assessment of airborne plant and fungal seasonal diversity. *Science of The Total Environment*, 738 (10), 140249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140249>
8. Bargali K., Joshi B., Bargali S. S., Singh S. P., 2015. Oaks and the Biodiversity They Sustain. *International Oaks*. 26, 65-76.
9. Berbee M. L., 2001. The phylogeny of plant and animal pathogens in the *Ascomycota*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59(4), 165-187. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0355>
10. Bitsadze N., Beruashvili M., Pavliashvili K., Khazaradze R., Jorjadze A., Tchabashvili G., Shanidze S., Kobakhidze N., 2018. Main oak species and fungi associated with oak trees described in Georgian mycological herbarium. *Annals of Agrarian Science*, 16(4), 432-435. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.06.004>
11. Blackwell M., 2011. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany*, 98(3), 426-438. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000298>
12. Boddy L., 2016. Fungi, ecosystems, and global change. *The Fungi (Third Edition)*, 11, 361-400. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.00011-6>

13. Branco S., 2019. Fungal diversity from communities to genes. *Fungal Biology Reviews*, 33(3-4), 225-237. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.06.003>.
14. Bruns T., 2006. Evolutionary biology: a kingdom revised. *Nature*, 443, 758-761. <https://doi.org/10.1038/443758a>.
15. Cairney J. W., Meharg A. A., 2002. Interactions between ectomycorrhizal fungi and soil saprotrophs: implications for decomposition of organic matter in soils and degradation of organic pollutants in the rhizosphere. *Canadian Journal of Botany*, 80(8), 803-809. <https://doi.org/10.1139/b02-072>.
16. Castaño C., Bonet J. A., Oliva J., Farré G., Martínez de Aragón J., Parladé J., Pera J., Alday J. G., 2019. Rainfall homogenizes while fruiting increases diversity of spore deposition in Mediterranean conditions. *Fungal Ecology*, 41, 279–288. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.07.007>.
17. Castaño C., Oliva J., Martínez de Aragón J., Alday J. G., Parladé J., Pera J., Bonet J. A., 2017. Mushroom emergence detected by combining spore trapping with molecular techniques. *Applied and Environmental Microbiology*, 83:e00600-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00600-17>.
18. Chao A., Ma K. H., Hsieh T. C., 2016. *iNEXT (iNterpolation and EXTrapolation) Online: Software for Interpolation and Extrapolation of Species Diversity*. [žiūrėta 2024-04-19]. Prieiga per internetą: http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/software_download/inext-online/.
19. Chen W., Hambleton S., Seifert K. A., Carisse O., Diarra M. S., Peters R. D., Lowe C., Chapados J. T., Lévesque C. A., 2018. Assessing Performance of Spore Samplers in Monitoring Aeromycobiota and Fungal Plant Pathogen Diversity in Canada. *Applied and environmental microbiology*, 84(9), e02601-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02601-17>.
20. Clemmensen K. E., Finlay R. D., Dahlberg A., Stenlid J., Wardle D. A., Lindahl B. D., 2015. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytologist*, 205(4), 1525-1536. <https://doi.org/10.1111/nph.13208>.
21. Cooke R. C., Whipps J. M., 1980. The evolution of modes of nutrition in fungi parasitic on terrestrial plants. *Biological Reviews*, 55, 341-362. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1980.tb00697.x>.
22. Copolovici L., Vaartnou F., Estrada M. P., Niinemets U., 2014. Oak powdery mildew (*Erysiphe alphitoides*)-induced volatile emissions scale with the degree of infection in *Quercus robur*. *Tree Physiology*, 34(12), 1399-1410. <https://doi:10.1093/treephys/tpu091>.
23. Cuadros-Orellana S., Leite L. R., Smith A., Medeiros J. D., Badotti F., Fonseca P. L. C., Vaz A. B. M., Oliveira G., Góes-Neto A., 2013. Assessment of fungal diversity in the environment using metagenomics: a decade in review. *Fungal Genomics & Biology*, 3(2), 1. <https://doi.org/10.4172/2165-8056.1000110>.
24. Dargienė R., 2018. Punios šilo gamtinių vertybių samprata ir apsaugos prioritetai. Kn.: Pakalnis R. (sud.), *Gamtos vertybės saugomose teritorijose*: 23-38. Vilnius: leidykla "Lututė". ISBN: 978-9955-37-208-0.

25. Daszak P., Cunningham A. A., Hyatt A. D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife – Threats to biodiversity and human health. *Science*, 287, 443-449. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.4>.
26. Delgado-Baquerizo M., Maestre F. T., Reich P. B., Jeffries T. C., Gaitan J. J., Encinar D., Berdugo M., Campbell C. D., Singh B. K., 2016. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature Communications*, 7(1), 10541. <https://doi.org/10.1038/ncomms10541>.
27. Duffy J. E., Godwin C. M., Cardinale B. J., 2017. Biodiversity effects in the wild are common and as strong as key drivers of productivity. *Nature*, 549(7671), 261-264. <https://doi.org/10.1038/nature23886>.
28. Dvorak M., Rotkova G., Botella L., 2016. Detection of airborne inoculum of *Hymenoscyphus fraxineus* and *H. albidus* during seasonal fluctuations associated with absence of apothecia. *Forests*, 7, 1. <https://doi.org/10.3390/f7010001>.
29. Eaton E. G. S. D. J., Caudullo G., Oliveira S., De Rigo D., 2016. *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: Jesús San-Miguel-Ayanz, Daniele de Rigo, Giovanni Caudullo, Tracy Houston Durrant, Achille Mauri (Eds.), *European atlas of forest tree species*: 160-163. Publication Office of the European Union, Luxembourg.
30. Elbert W., Taylor P. E., Andreae M. O., Pöschl U., 2007. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: Wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 7(17), 4569-4588. <https://doi.org/10.5194/acp-7-4569-2007>
31. Eliasson P., Nilsson S. G., 2002. ‘You should hate young oaks and young noblemen’: the environmental history of oaks in eighteenth-and nineteenth-century Sweden. *Environmental History*, 7(4), 659-677. <https://doi.org/10.2307/3986061>.
32. Eriksson L., Boberg J., Cech T. L., Corcobado T., Desprez-Loustau M. L., Hietala A. M., Jung M. H., Jung T., Lehtijarvi H. T. D., Oskay F., Slavov S., Solheim H., Stenlid J., Oliva J., 2019. Invasive forest pathogens in Europe: Cross-country variation in public awareness but consistency in policy acceptability. *Ambio*, 48(1), 1-12. doi: 10.1007/s13280-018-1046-7.
33. EUFORGEN, 2009. Distribution map of pedunculate oak (*Quercus robur*). EUFORGEN [žiūrēta 2024-03-19]. Prieiga per internetą: <https://www.euforgen.org/>.
34. Fajarningsih N. D., 2016. Internal Transcribed Spacer (ITS) as DNA barcoding to identify fungal species: a review. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 11(2), 37-44. <https://doi.org/10.15578/squalen.v11i2.213>.
35. Faticov M., Abdelfattah A., Roslin T., Vacher C., Hambäck P., Blanchet F. G., Lindahl B. D., Tack A. J. M., 2021. Climate warming dominates over plant genotype in shaping the seasonal trajectory of foliar fungal communities on oak. *New Phytologist*, 231(5), 1770-1783. <https://doi.org/10.1111/nph.17434>.
36. Fernandez C. W., Heckman K., Kolka R., Kennedy P. G., 2019. Melanin mitigates the accelerated decay of mycorrhizal necromass with peatland warming. *Ecology Letters*, 22(3), 498-505. <https://doi.org/10.1111/ele.13209>.
37. Fernandez C. W., Mielke L., Stefanski A., Bermudez R., Hobbie S. E., Montgomery R. A., Reich P. B., Kennedy P. G., 2023. Climate change-induced stress disrupts ectomycorrhizal

- interaction networks at the boreal-temperate ecotone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(34), e2221619120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2221619120>.
38. Fisher M. C., Henk D. A., Briggs C. J., *et al.*, 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484, 186–194. <https://doi.org/10.1038/nature10947>.
 39. Fröhlich-Nowoisky J., Pickersgilla D. A., Despresa V. R., Poschla U., 2009. High diversity of fungi in air particulate matter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31): 12814-12819. <https://doi.org/10.1073/pnas.081100310>.
 40. Gautam A. K., Verma R. K., Avasthi S., Sushma, Bohra Y., Devadatha B., Niranjana M., Suwannarach N., 2022. Current Insight into Traditional and Modern Methods in Fungal Diversity Estimates. *Journal of Fungi*, 8(3), 226. <https://doi.org/10.3390/jof8030226>.
 41. Griecius A., Matelis A., 1996. *Lietuvos grybai. Afiloforiečiai (Aphyllophorales)*, VI (2). Mokslo ir enciklopedijų leidykla, Vilnius, 232 p. ISBN 5-420-01328-2.
 42. Günthardt-Goerg M. S., Kuster T. M., Arend M., Vollenweider P., 2013. Foliage response of young central European oaks to air warming, drought and soil type. *Plant Biology*, 15, 185-197. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00665.x>.
 43. Gustafsson L., Franzén M., Sunde J., Johansson V., 2023. The non-native *Quercus rubra* does not substitute the native *Quercus robur* and *Q. petraea* as substrate for epiphytic lichens and bryophytes. *Forest Ecology and Management*, 549, 121482. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121482>.
 44. Guzman Q. J. A., Pinto-Ledezma J. N., Frantz D., Townsend P. A., Juzwik J., Cavender-Bares J., 2023. Mapping oak wilt disease using phenological observations from space. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.05.25.542318>.
 45. Hawksworth D. L., Lücking R., 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, 5(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016>.
 46. He M. Q., Zhao R. L., Liu D. M., Denchev T. T., Begerow D., Yurkov A., Kemler M., Millanes A. M., Wedin M., McTaggart A. R., Shivas R. G., Buyck B., Chen J., Vizzini A., Papp V., Zmitrovich I. V., Davoodian N., Hyde K. D., 2022. Species diversity of *Basidiomycota*. *Fungal Diversity*, 114(1), 281-325. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00497-3>.
 47. Heilmann-Clausen J., Barron E. S., Boddy L., Dahlberg A., Griffith G. W., Nordén J., Ovaskainen O., Perini C., Senn-Irlet B., Halme P., 2015. A fungal perspective on conservation biology. *Conservation Biology*, 29(1), 61-68. <https://doi.org/10.1111/cobi.12388>.
 48. Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F., Blackwell M., Cannon P. F., Eriksson O. E., Huhndorf S., James T., Kirk P. M., Lücking R., Lumbsch H. T., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D. J., Powell M. J., Redhead S., Schoch C. L., Spatafora J. W., Stalpers J. A., Vilgalys R., Aime M. C., Aptroot A., Bauer R., Begerow D., Benny G. L., Castlebury L. A., Crous P. W., Dai Y. C., Gams W., Geiser D. M., Griffith G. W., Gueidan C., Hawksworth D. L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R. A., Hyde K. D., Ironside J. E., Kõljalg U., Kurtzman C. P., Larsson K. H., Lichtwardt R., Longcore J., Miądlikowska J., Miller A., Moncalvo J. M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J. D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J. P., Schüßler A., Sugiyama J., Thorn R. G., Tibell L., Untereiner W. A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiss M., White M. M., Winka K., Yao Y. J., Zhang N., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509-547. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>.

49. Hyde K. D., Baldrian P., Chen Y., Chethana K. W. T., Hoog S. D., Doilom M., Farias A. R. G., Gonçalves M. F. M., Gonkhom D., Gui H., Hilário S., Hu Y., Jayawardena R. S., Khyaju S., Kirk P. M., Kohout P., Luangharn T., Maharachchikumbura S. S. N., Manawasinghe I. S., Mortimer P. E., Niego A. G. T., Phonemany M., Sandargo B., Senanayake I. C., Stadler M., Surup F., Thongklang N., Wanasinghe D. N., Bahkali A. H., Walker A., 2024. Current trends, limitations and future research in the fungi? *Fungal Diversity*, 1-71. <https://doi.org/10.1007/s13225-023-00532-5>.
50. Holt B. G., Lessard J. P., Borregaard M. K. *et al.*, 2013. An Update of Wallace's Zoogeographic Regions of the World. *Science*, 339, 74-78. <https://doi.org/10.1126/science.1228282>.
51. Ihrmark K., Bodeker I. T. M., Cruz-Martinez K., Friberg H., Kubartova A., Schenck J., Strid Y., Stenlid J., Brandström-Durling M., Clemmensen K. E., Lindahl B. D., 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region—evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 82(3), 666-677. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x>.
52. Iršėnaitė R., Kutorga E., 2006. Diversity of fungi on decaying common oak coarse woody debris. *Ekologija*, 4, 22-30. <https://vb.mab.lt/object/elaba:6213199/MAIN>.
53. Iršėnaitė R., Kutorga E., 2007. Wood-inhabiting fungi on pedunculate oak coarse woody debris in relation to substratum quantity and forest age. *Acta Mycologica*, 42(2), 169-178. <https://doi.org/10.5586/am.2007.018>
54. Yu T. E., Egger K. N., Peterson L. R., 2001. Ectendomycorrhizal associations – characteristics and functions. *Mycorrhiza*, 11, 167–177. <https://doi.org/10.1007/s005720100110>
55. Kanieski M. R., Longhi S. J., Soares R. C., 2018. Methods for biodiversity assessment: Case study in an area of Atlantic Forest in Southern Brazil. In: Şen B. (Ed.), *Selected Studies in Biodiversity*: London: IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.71824
56. Kesić L., Cseke K., Orlović S., Stojanović D. B., Kostić S., Benke A., Borovics A., Stojnić S., Avramidou E. V., 2021. Genetic Diversity and Differentiation of Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.) Populations at the Southern Margin of Its Distribution Range - Implications for Conservation. *Diversity*, 13(8), 371. <https://doi.org/10.3390/d13080371>.
57. Kyaschenko J., Clemmensen K. E., Karlton E., Lindahl B. D., 2017. Below-ground organic matter accumulation along a boreal forest fertility gradient relates to guild interaction within fungal communities. *Ecology Letters*, 20(12), 1546-1555. <https://doi.org/10.1111/ele.12862>.
58. Kowalski T., 1991. Oak decline: I. Fungi associated with various disease symptoms on overground portions of middle-aged and old oak (*Quercus robur* L.). *European Journal of Forest Pathology*, 21(3), 136-151. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1991.tb01418.x>
59. Kowsari M., Karimi E., 2023. A review on oak decline: The global situation, causative factors, and new research approaches. *Forest Systems*, 32(3), eR01. <https://doi.org/10.5424/fs/2023323-20265>.
60. Kutorga E., 2024. *Mikologija*. LNB Mokslo ir enciklopedijų leidybos centras, Vilnius. [žiūrėta 2024-04-30]. Prieiga per internetą <https://www.vle.lt/straipsnis/mikologija/>.
61. Lacey M. E., West J. S., 2006. The air spora: a manual for catching and identifying airborne biological particles. Springer, Dordrecht.

62. Laforest-Lapointe I., Paquette A., Messier C., Kembel S. W., 2017. Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships. *Nature*, 546(7656), 145-147. <https://doi.org/10.1038/nature22399>.
63. Landi M., Salerni E., Ambrosio E., D'Aguanno M., Nucci A., Saveri C., Perini C., Angiolini C., 2015. Concordance between vascular plant and macrofungal community composition in broadleaf deciduous forests in central Italy. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 8(3), 279. <https://doi.org/10.3832/ifor1199-008>.
64. Lauber C. L., Strickland M. S., Bradford M. A., Fierer N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2407-2415. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>.
65. Leyronas C., Bardin M., Berthier K., Duffaud M., Troulet C., Torres M., Villeneuve F., Nicot C. P., 2018. Assessing the phenotypic and genotypic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* in France. *European Journal of Plant Pathology*, 152, 933-944. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1493-9>.
66. Leuschner C., Ellenberg H., 2017. In: *Ecology of Central European non-forest vegetation: coastal to alpine, natural to man-made habitats: vegetation ecology of Central Europe*, 2(II), 1094. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-43048-5>.
67. Li Y., Steenwyk J. L., Chang Y., Wang Y., James T. Y., Stajich J. E., Spatafora J. W., Groenewald M., Dunn C. W., Hittinger C. T., Shen X. X., Antonis R., 2021. A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi. *Current Biology*, 31(8), 1653-1665. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.074>.
68. Lindahl B. D., Nilsson R. H., Tedersoo L., Abarenkov K., Carlsen T., Kjølner R., Kõljalg U., Pennanen T., Rosendahl S., Stenlid J., Kauserud H., 2013. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers—a user's guide. *New Phytologist*, 199(1), 288-299. <https://doi.org/10.1111/nph.12243>.
69. Lindahl B. D., Tunlid A., 2015. Ectomycorrhizal fungi-potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist*, 205(4), 1443-1447. <https://doi.org/10.1111/nph.13201>.
70. Lindhe A., Åsenblad N., Toresson H. G., 2004. Cut logs and high stumps of spruce, birch, aspen and oak – nine years of saproxylic fungi succession. *Biological Conservation*, 119(4), 443-454. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.01.005>.
71. Lutzoni F., Kauff F., Cox C. J., McLaughlin D., Celio G., Dentinger B., Padamsee M., Hibbett D., James T. Y., Baloch E., Grube M., Reeb V., Hofstetter V., Schoch C., Arnold A. E., Miadlikowska J., Spatafora J., Johnson D., Hambleton S., Crockett M., Shoemaker R., Sung G. H., Lücking R., Lumbsch T., O'Donnell K., Binder M., Diederich P., Ertz D., Gueidan C., Hansen K., Harris R. C., Hosaka K., Lim Y. W., Matheny B., Nishida H., Pfister D., Rogers J., Rossman A., Schmitt I., Sipman H., Stone J., Sugiyama J., Yahr R., Vilgalys R., 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American Journal of Botany*, 91(10), 1446-1480. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1446>.
72. Macháčová M., Nakládal O., Samek M., Baťa D., Zúmr V., Pešková V., 2022. Oak Decline Caused by Biotic and Abiotic Factors in Central Europe: A Case Study from the Czech Republic. *Forests*, 13(8), 1223. <https://doi.org/10.3390/f13081223>.
73. Marčiulynas A., Lynikienė J., Marčiulynienė D., Gedminas A., Menkis A., 2023a. Seasonal and Site-Specific Patterns of Airborne Fungal Diversity Revealed Using Passive Spore Traps

- and High-Throughput DNA Sequencing. *Diversity*, 15(4), 539. <https://doi.org/10.3390/d15040539>.
74. Marčiulynas A., Marčiulynienė D., Lynikienė J., Bakys R., Menkis, A., 2022. Fungal communities in leaves and roots of healthy-looking and diseased *Ulmus glabra*. *Microorganisms*, 10(11), 2228. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112228>.
 75. Marčiulynas A., Menkis A., 2023. The Release and Spread of Basidiospores of Red-Listed Wood-Decay Fungus *Fistulina hepatica* in Oak Stands. *Diversity*, 15(11): 1110. <https://doi.org/10.3390/d15111110>.
 76. Marčiulynas A., Sirgedaitė-Šėžienė V., Menkis A., 2023b. Fungi Inhabiting Stem Wounds of *Quercus robur* following Bark Stripping by Deer Animals. *Forests*, 14(10), 2077. <https://doi.org/10.3390/f14102077>.
 77. Marčiulynas, A., Menkis, A., 2024. Long-term Dynamics of Fungal Communities Inhabiting Decaying Stumps of *Quercus robur*. *Microbial Ecology*, 87, 27. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02334-3>.
 78. Martinez-Bracero M., Markey E., Clancy J. H., McGillicuddy E. J., Sewell G., O'Connor D. J., 2022. Airborne fungal spore review, new advances and automatisation. *Atmosphere*, 13(2), 308. <https://doi.org/10.3390/atmos13020308>.
 79. Mattos-Shiple K. M., Ford K. L., Alberti F., Banks A. M., Bailey A. M., Foster G. D., 2016. The good, the bad and the tasty: the many roles of mushrooms. *Studies in Mycology*, 85(1), 125-157. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.002>.
 80. Menkis A., Redr D., Bengtsson V., Hedin J., Niklasson M., Nordén B., Dahlberg A., 2022. Endophytes dominate fungal communities in six-year-old veteranisation wounds in living oak trunks. *Fungal Ecology*, 59, 101020. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.101020>.
 81. Millenium Ecosystem Assessment, 2005. *Millenium Ecosystem Assessment Synthesis Report*. Washington D.C., USA: Island Press.
 82. Miško kirtimų taisyklės, 2024. Taisyklės patvirtintos Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2010 m. sausio 27 d. įsakymu Nr. D1-79 (Galiojanti suvestinė redakcija nuo 2024-03-19). Žin. 2010, Nr. 14-676, i. k. 110301MISAK000D1-79. [žiūrėta 2024-04-15]. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.364764/asr>.
 83. Mitchell R. J., Bellamy P. E., Ellis C. J., Hewison R. L., Hodgetts N. G., Iason G. R., Littlewood N. A., Newey S., Stockan J. A., Taylor, A. F. S., 2019. Collapsing foundations: The ecology of the British oak, implications of its decline and mitigation options. *Biological Conservation*, 233, 316-327. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.03.040>.
 84. Mölder A., Meyer P., Nagel R. V., 2019. Integrative management to sustain biodiversity and ecological continuity in Central European temperate oak (*Quercus robur*, *Q. petraea*) forests: an overview. *Forest Ecology and Management*, 437, 324–339. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.01.006>.
 85. Moore D., 2024. *Classification of the fungi*. Britannica. UK, Encyclopædia Britannica, Inc. [žiūrėta 2024-04-30]. Prieiga per internetą <https://www.britannica.com/science/fungus/Outline-of-classification-of-fungi>.

86. Morales D., 2021. Oak trees (*Quercus* spp.) as a source of extracts with biological activities: A narrative review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 116-125. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.029>.
87. Motiejūnaitė J., 2002. Lietuvos grybai. *Lapiškosios ir krūmiškosios kerpės [Ascomycetes lichenisati. Species foliosae et fruticosae]* XIII (1). Valstiečių laikraštis, Vilnius, 319 pp.
88. Motiejūnaitė J., 2016. Lietuvos grybai. *Žiauberiškosios kerpės. [Mycota Lithuaniae, Fungi lichenisati]* XIII (2). Gamtos tyrimų centras, Vilnius. 456 pp. ISBN: 978-9986-443-88-9.
89. Motiejūnaitė J., 2024. *Kerpės*. LNB Mokslo ir enciklopedijų leidybos centras, Vilnius. [žiūrėta 2024-05-22]. Prieiga per internetą <https://www.vle.lt/straipsnis/kerpes/>.
90. Motiejūnaitė J., Markovskaja S., Kutorga E., Iršėnaitė R., Kasparavičius J., Kačergius A., Lygis V., 2017. Alien fungi in Lithuania: list of species, current status and trophic structure. *Botanica Lithuanica*, 23(2), 139-152. <https://doi.org/10.1515/botlit-2017-0016>.
91. Nam N. N., Hoang D. K. D., Kieu T. L. T., Nae Y. L., 2023. Metagenomics: An effective approach for exploring microbial diversity and functions. *Foods*, 12(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>.
92. Naranjo-Ortiz M. A., Gabaldón T., 2019. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>.
93. Navasaitis M., Ozolinčius R., Smaliukas D., Balevičienė J., 2003. *Lietuvos dendroflora*. Lututė, Kaunas. 575 pp. ISBN: 9955-575-35-2.
94. Nguyen N. H., Song Z., Bates S. T., Branco S., Tedersoo L., Menke J., Schilling J. S., Kennedy P. G., 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>.
95. Nicolaisen M., West J. S., Sapkota R., Canning G. G. M., Schoen C., Justesen A. F., 2017. Fungal Communities Including Plant Pathogens in Near Surface Air Are Similar across Northwestern Europe. *Frontiers in Microbiology*, 8 (8), 1729. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01729>.
96. Packham J. M., May T. W., Brown M. J., Wardlaw T. J., Mills A. K., 2002. Macrofungal diversity and community ecology in mature and regrowth wet eucalypt forest in Tasmania: a multivariate study. *Austral Ecology*, 27(2), 149-161. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2002.01167.x>.
97. Pielou E. C., 1966. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *Journal of Theoretical Biology*, 10, 370–383. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90133-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90133-0).
98. Pilskog H. E., Birkemoe T., Framstad E., Sverdrup-Thygeson A., 2016. Effect of habitat size, quality, and isolation on functional groups of beetles in hollow oaks. *Journal of Insect Science*, 16(1), 26. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev145>.
99. Pyšek P., Hulme P. E., Simberloff D., Bacher S., Blackburn T. M., Carlton J. T., Dawson W., Essl F., Foxcroft L. C., Genovesi P., Jeschke J. M., Kühn I., Liebhold A. M., Mandrak N. E., Meyerson L. A., Pauchard A., Pergl J., Roy H. E., Seebens H., Kleunen M., Vilà M., Wingfield M. J., Richardson, D. M., 2020. Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews*, 95(6), 1511-1534. <https://doi.org/10.1111/brv.12627>.

100. Rani S., Kumar P., Dahiya P., Maheshwari R., Dang A.S., Suneja P., 2022. Endophytism: A Multidimensional Approach to Plant–Prokaryotic Microbe Interaction. *Frontiers in Microbiology*, 13:861235. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.861235>.
101. Rašomavičius V. (vyr. red.), 2021. *Lietuvos Raudonoji knyga. Gyvūnai, augalai, grybai*. Vilnius: Lututė. ISBN 978-9955-37-229-5.
102. Redondo M. A., Berlin A., Boberg J., Oliva, J., 2020. Vegetation type determines spore deposition within a forest–agricultural mosaic landscape. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(6), f1aa082. <https://doi.org/10.1093/femsec/f1aa082>.
103. Roibu C. C., Sfeclă V., Mursa, A., Ionita M., Nagavciuc V., Chiriloaei F., Leșan I., Popa I., 2020. The climatic response of tree ring width components of ash (*Fraxinus excelsior* L.) and common oak (*Quercus robur* L.) from Eastern Europe. *Forests*, 11(5), 600. <https://doi.org/10.3390/f11050600>.
104. RStudio Team, 2020. *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, Boston: PBC. [žiūrėta 2024-03-25]. Prieiga per internetą: <http://www.rstudio.com>
105. Safonov M. A., 2006. Wood-inhabiting aphyllorphoroid fungi of the Southern Preurals (Russia). *Mycena*, 6, 57–66. UDC 582.287.23:581.9(234.853+470.56).
106. Santini A., Ghelardini L., De Pace C. *et al.*, 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe. *New Phytologist*, 197, 238-250. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04364.x>.
107. Scheffers B. R., Joppa L. N., Pimm S. L., Laurance W. F., 2012. What we know and don't know about Earth's missing biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(9), 501-510. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.05.008>.
108. Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L. *et al.*, (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241-6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>.
109. Schoch C. L., Sung G. H., López-Giráldez F., Townsend J. P., Miadlikowska J., Hofstetter V., *et al.*, 2009. The *Ascomycota* tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *Systematic Biology*, 58(2), 224-239. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syp020>.
110. Schopmeyer C.S., 1974. Seeds of woody plants in the United States. In: *Agriculture Handbook*: 450, 883. Washington DC: US Government Printing Office.
111. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2011. *Convention on Biological Diversity*. Montreal, Quebec: ICAO, Canada.
112. Sekimoto S., Rochon D. A., Long J. E., Dee J. M., Berbee M. L., 2011. A multigene phylogeny of *Olpidium* and its implications for early fungal evolution. *BMC Evolutionary Biology*, 11(331), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-331>.
113. Shannon C. E., 1948. The Mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal*, 27 (3), 623–656. DOI: 10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x
114. Slabbert E. L., Knight T. M., Wubet T., Kautzner A., Baessler C., Auge H., Roscher C., Schweiger O., 2022. Abiotic factors are more important than land management and biotic

- interactions in shaping vascular plant and soil fungal communities. *Global Ecology and Conservation*, 33, e01960. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01960>.
115. Sorensen T., 1948. A Method of Establishing Groups of Equal Amplitude in Plant Sociology Based on Similarity of Species Content and Its Application to Analyses of the Vegetation on Danish Commons. *Biologiske Skrifter/Kongelige Danske Videnskabernes Selskab*, 5, 1-34.
 116. Souza E. M., Granada C. E., Sperotto R. A., 2016. Plant Pathogens Affecting the Establishment of Plant-Symbiont Interaction. *Frontiers in Plant Science*, 21 (7), 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00015>.
 117. Spanu P. D., Panstruga R., 2017. Editorial: Biotrophic Plant-Microbe Interactions. *Frontiers in Plant Science*, 13 (8), 192. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00192>.
 118. Spanu P., Kämper J., 2010. Genomics of biotrophy in fungi and oomycetes - emerging patterns. *Current Opinion in Plant Biology*, 13 (4), 409-414. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.03.004>.
 119. Stępańska D., Wołek J., 2005. Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated. *Aerobiologia*, 21(1), 43-52. <https://doi.org/10.1007/s10453-004-5877-2>.
 120. Stone J. K., Polishook J. D., White J. F., 2004. Endophytic Fungi. In: Mueller G. M., Bills G. F., Foster M. S. (Eds.), *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*, 241-270. Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press. ISBN (Electronic): 9780080470269. <https://doi.org/10.1016/B978-012509551-8/50015-5>
 121. Sugiyama J., Hosaka K., Suh S. O., 2006. Early diverging *Ascomycota*: phylogenetic divergence and related evolutionary enigmas. *Mycologia*, 98(6), 996-1005. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832628>.
 122. Sunhede S., Vasiliauskas R., 2003. Hotade tickor på ek i Litauen [Threatened polypores on oak in Lithuania]. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 97(5), 252–265. ISSN 0039-646X (in Swedish with English abstract).
 123. Tanabe Y., Watanabe M. M., Sugiyama J., 2005. Evolutionary relationships among basal fungi (*Chytridiomycota* and *Zygomycota*): Insights from molecular phylogenetics. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 51(5), 267-276. <https://doi.org/10.2323/jgam.51.267>.
 124. Tingstad L., Grytnes J. A., Felde V. A., Juslén A., Hyvärinen E., Dahlberg A., 2018. The potential to use documentation in national Red Lists to characterize red-listed forest species in Fennoscandia and to guide conservation. *Global Ecology and Conservation*, 15, e00410. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2018.e00410>.
 125. Tremblay E. D., Duceppe M. O., Berube J. A., Kimoto T., Lemieux C., Bilodeau G. J., 2018. Screening for exotic forest pathogens to increase survey capacity using metagenomics. *Phytopathology*, 108(12), 1509-1521. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-18-0028-R>.
 126. Unterseher M., Tal O. (2006). Influence of small-scale conditions on the diversity of wood decay fungi in a temperate, mixed deciduous forest canopy. *Mycological Research*, 110(2), 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2005.08.002>.
 127. Valencia-A. S., 2020. Species delimitation in the genus *Quercus* (Fagaceae). *Botanical Sciences*, 99(1), 1-12. <https://doi.org/10.17129/botsci.2658>.

128. Valstybinė miškų tarnyba, 2022. *Lietuvos miškų ūkio statistika 2021*. Kaunas: Valstybinė miškų tarnyba [žiūrėta 2024-04-17]. Prieiga per internetą: <https://amvmt.lrv.lt/lt/atviri-duomenys-1/misku-statistikos-leidiniai/misku-ukio-statistika/2021-m-1/>.
129. Valstybinė saugomų teritorijų tarnyba prie Aplinkos ministerijos, 2024. *Dūkštų qžuolynas*. [žiūrėta 2024-04-25]. Prieiga per internetą: <https://saugoma.lt/lt/objektai/objektai-dukstu-azuolynas>.
130. Van der Heyden H., Dutilleul P., Charron J. B., Bilodeau G. J., Carisse O., 2021. Monitoring airborne inoculum for improved plant disease management. *Agronomy for Sustainable Development*, 41(40). <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00694-z>.
131. Vasiliauskas R., 1999. *Eglės (Picea abies (L.) P. Karsten), qžuolo (Quercus robur (L.)) bei uosio (Fraxinus excelsior L.) žaizdas kolonizuojančių grybų populiacijų biologija ir jų reikšmė miško ūkiui*. Habil. darbo santrauka. Vilniaus universitetas. Vilnius.
132. Wahab A., Muhammad M., Munir A., Abdi G., Zaman W., Ayaz A., Khizar C., Reddy S. P. P., 2023. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses. *Plants*, 12(17), 3102. <https://doi.org/10.3390/plants12173102>.
133. Walther G. R., 2010. Community and ecosystem responses to recent climate change. *Biological Sciences*, 365(1549), 2019-2024. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0021>.
134. White M. M., James T. Y., O'Donnell K., Cafaro M. J., Tanabe Y., Sugiyama J., 2006. Phylogeny of the *Zygomycota* based on nuclear ribosomal sequence data. *Mycologia*, 98(6), 872-884. <https://doi.org/10.3852/mycologia.98.6.872>.
135. White T. J., Bruns T., Lee S. J. W. T., Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322. Academic Press, Inc.
136. Whittaker R. H., 1969. New Concepts of Kingdoms of Organisms: Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, 163(3863), 150-160. <https://doi.org/10.1126/science.163.3863.150>.
137. Wijayawardene N. N., Bahram M., Sánchez-Castro I., Dai D-Q., Ariyawansa K. G. S. U., Jayalal U., Suwannarach N., Tedersoo L., 2021. Current Insight into Culture-Dependent and Culture-Independent Methods in Discovering Ascomycetous Taxa. *Journal of Fungi*, 7(9), 703. <https://doi.org/10.3390/jof7090703>.
138. Womack A. M., Artaxo P. E., Ishida F. Y., Mueller R. C., Saleska S. R., Wiedemann K. T., Bohannan B. J. M., Green J. L., 2015. Characterization of active and total fungal communities in the atmosphere over the Amazon rainforest. *Biogeosciences*, 12, 6337-6349, <https://doi.org/10.5194/bg-12-6337-2015>.
139. Worthen W. B., McGuire T. R., 1990. Predictability of ephemeral mushrooms and implications for mycophagous fly communities. *American Midland Naturalist*, 124(1), 12-21. <https://doi.org/10.2307/2426075>.
140. Zmitrovich I. V., Arefiev S. P., Kapitonov V. I., Shiryaev A. G., Ranadive K. R., Bondartseva M. A., 2023. Substrate Ecology of Wood-Inhabiting Basidiomycetes. In: Sridhar K. R., Desmukh S. K. (Eds.), *Ecology of Macrofungi*: 179-221. Boca Raton: CRC Press.

PRIEDAI

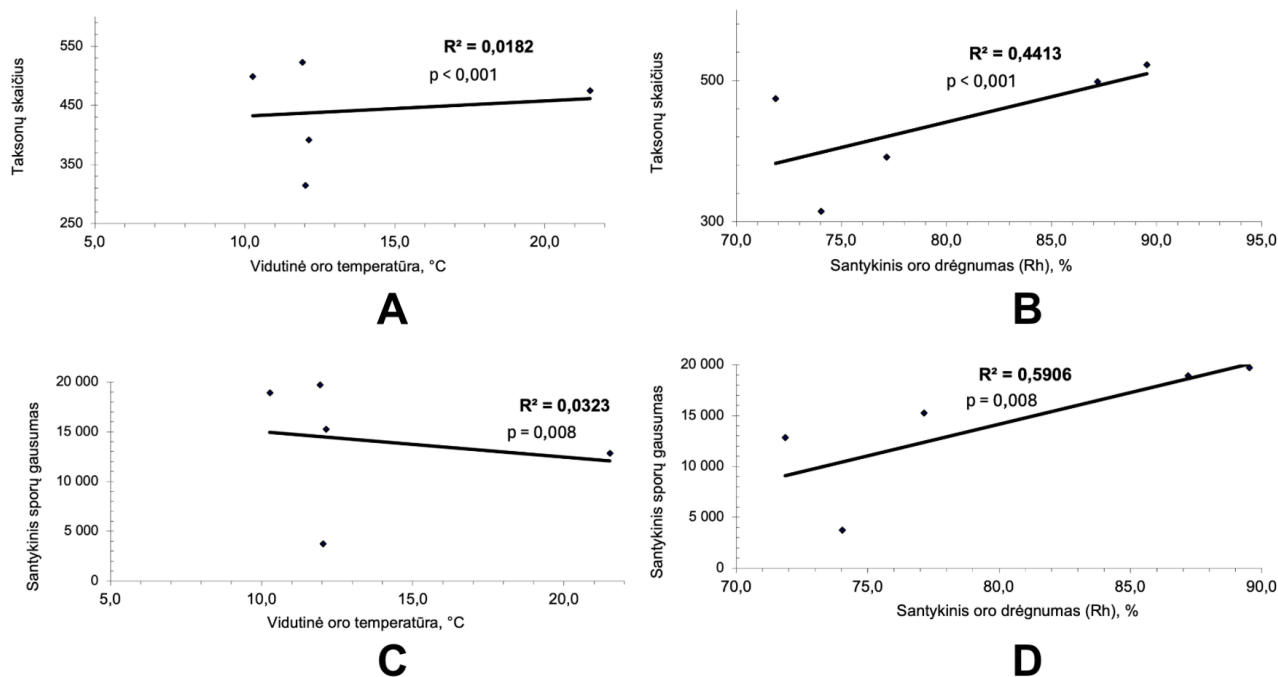
1 priedas

Internetinė nuoroda, nukreipianti į pirmąjį darbo priedą „Grybų taksonų identifikavimo rezultatai; pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinis gausumas ir nustatytų taksonų skaičius tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose penkių savaitių laikotarpiu“:
https://docs.google.com/1_priedas.

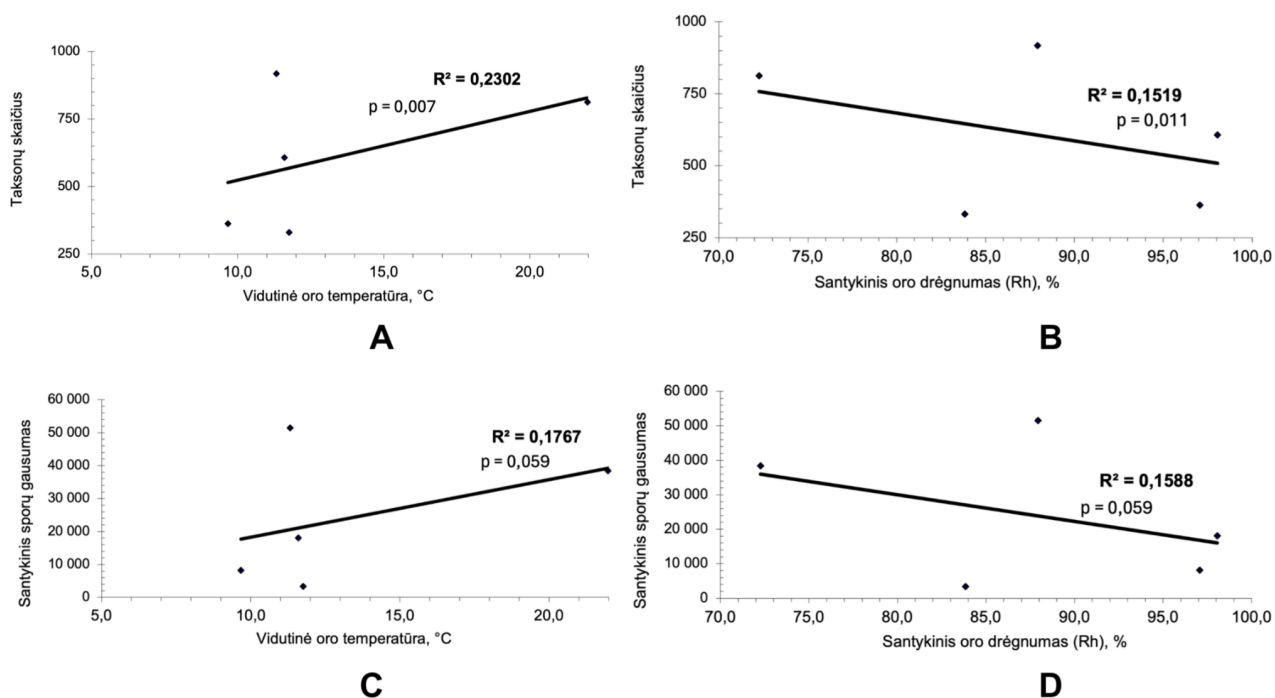
2 priedas

Internetinė nuoroda, nukreipianti į antrąjį darbo priedą „Pasyviomis sporų gaudyklėmis sugautų sporų santykinis gausumas ir nustatytų taksonų skaičius pagal grybų taksonomines klases tirtuose Šilinės, Punios ir Dūkštų ąžuolynuose penkių savaitių laikotarpiu“:
https://docs.google.com/2_priedas.

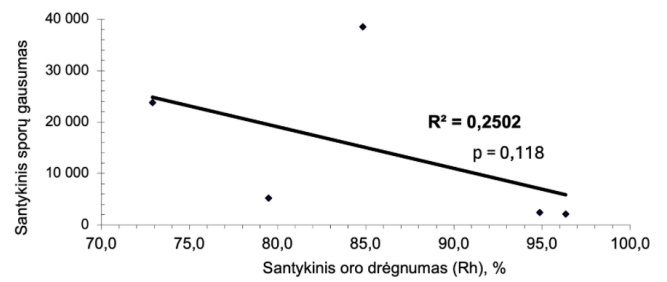
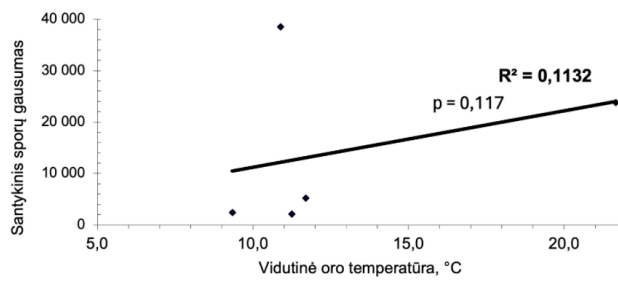
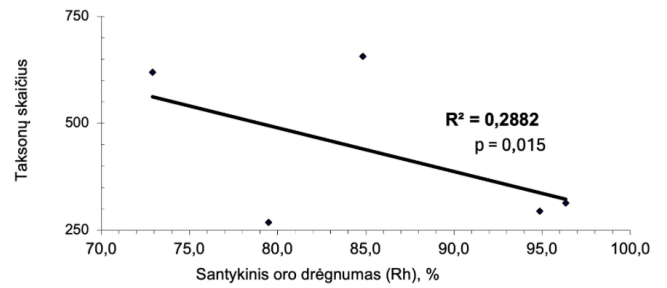
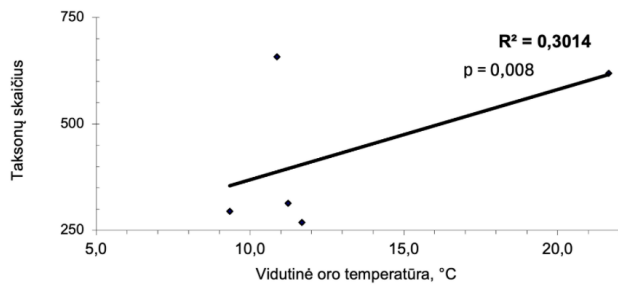
3 priedas



1 pav. Taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo Šilinės ąžuolyne

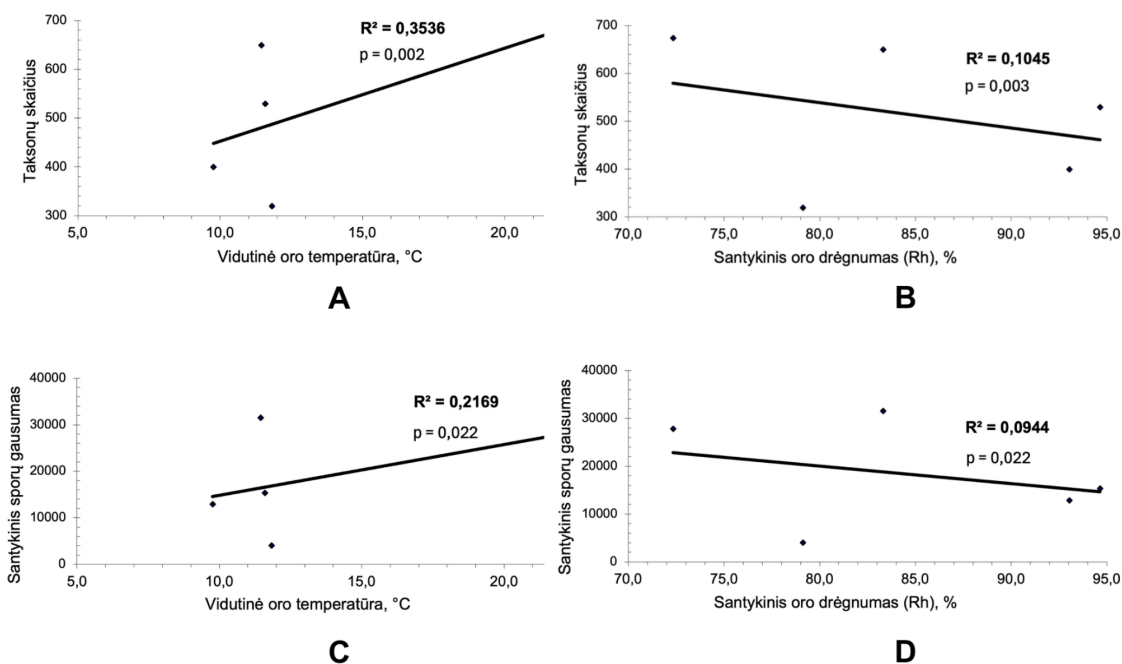


2 pav. Taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo Punios ąžuolyne

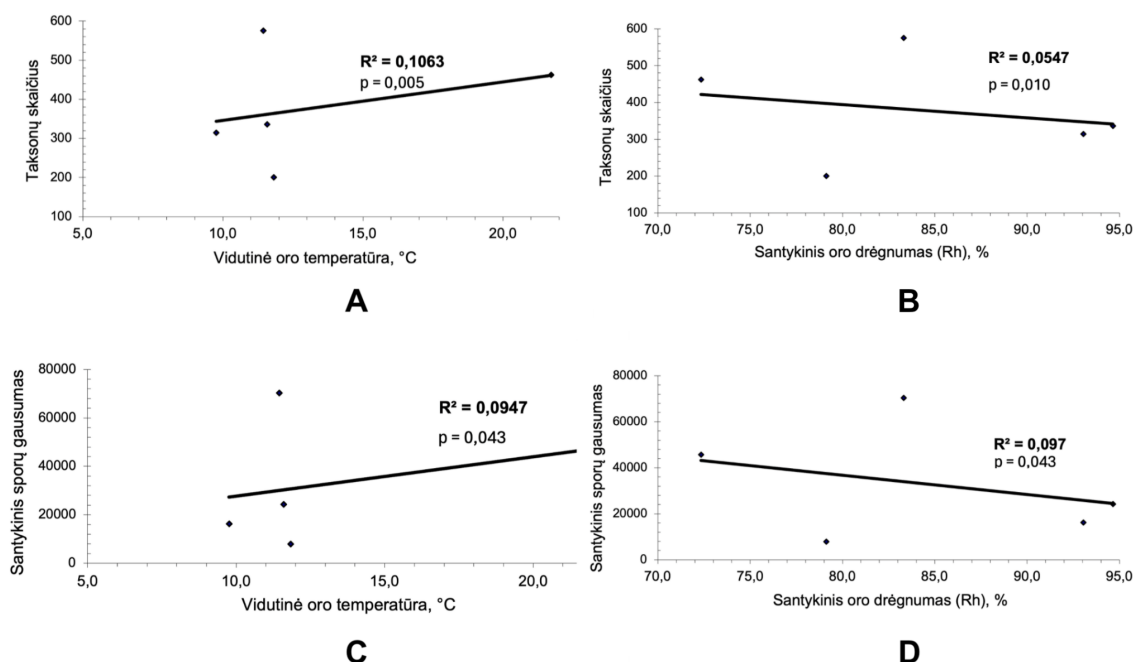


3 pav. Taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo Dūkštų ąžuolyne

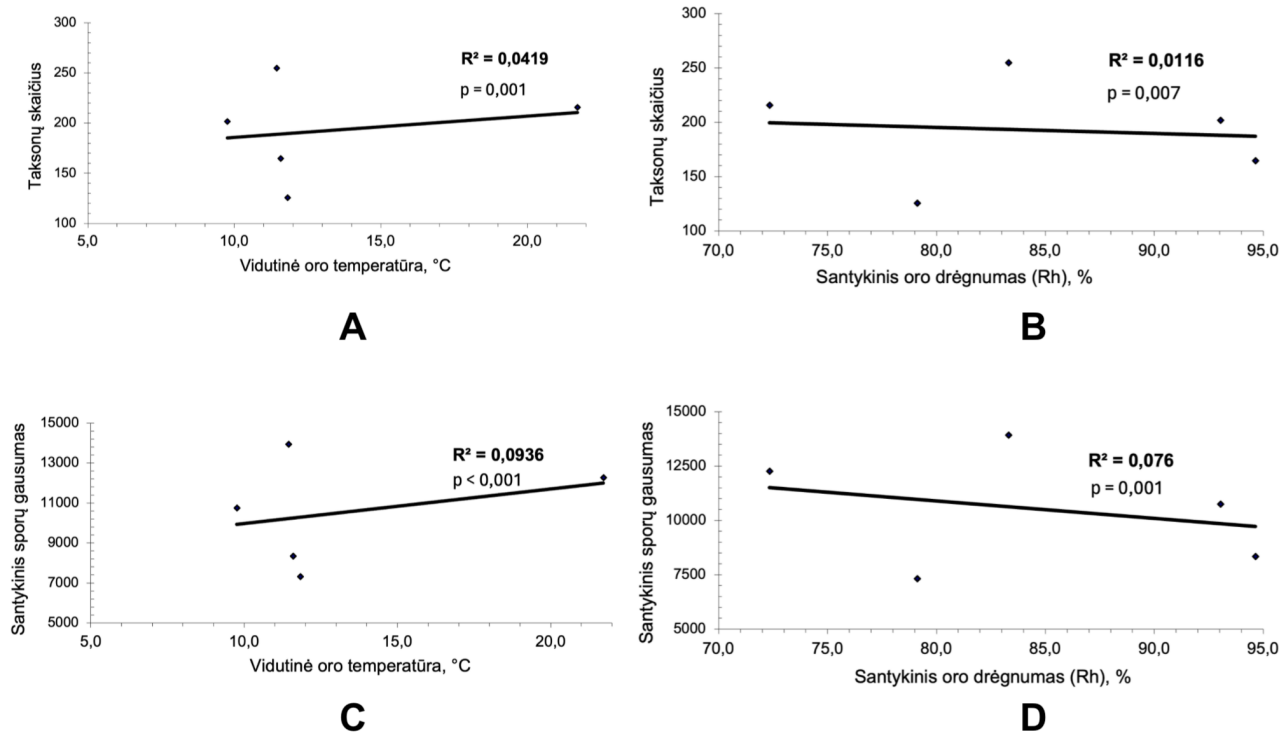
4 priedas



1 pav. Aukšliagybių (*Ascomycota*) skyriaus taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)



2 pav. Papėdgrybių (*Basidiomycota*) skyriaus taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)



3 pav. Agarikomicetų (*Agaricomycetes*) taksonų skaičiaus ir santykinio sporų gausumo priklausomybė nuo vidutinės oro temperatūros ir santykinio oro drėgnumo tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ąžuolynuose (visų ąžuolynų duomenys pateikiami bendrai)

5 priedas

Internetinė nuoroda, nukreipianti į penktąjį darbo priedą „Nustatytų grybų taksonų pasiskirstymas pagal trofines grupes tirtuose Dūkštų, Šilinės ir Punios ažuolynuose (visų ažuolynų duomenys pateikiami bendrai), pagal FUNGuild duomenų bazę“: https://docs.google.com/5_priedas.