



## **Inimtegevuse mõju ränivetikate kasvule Läänemeres**

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Evelyn Pil

Juhendajad: Sirje Sildever, TalTech Meresüsteemide Instituut, teadur

Maria Cecilia Sarmiento Guerin, TalTech Keemia ja Biotehnoloogia Intituut, vanemteadur

Lenne Nigul, TalTech Keemia ja Biotehnoloogia Intituut, insener

Õppekava: Rakenduskeemia, toidu- ja geenitehnoloogia

Tallinn 2022

## Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Evelyn Pil

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab bakalaureusetööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Sirje Sildever

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: [nimi]

[allkiri ja kuupäev]



## **Influence of anthropogenic activities to the growth of diatoms in the Baltic Sea**

Bachelor thesis

Student: Evelyn Pil

Supervisor: Sirje Sildever, Department of Marine Systems, researcher

Maria Cecilia Sarmiento Guerin, Department of Chemistry and Biotechnology, senior researcher

Lenne Nigul, Department of Chemistry and Biotechnology, engineer

Curriculum: Applied chemistry, food- and gene technology

Tallinn 2022

# Sisukord

LÜHENDITE JA MÕISTETE LOETELU .....	5
SISSEJUHATUS .....	6
1. Kirjanduse ülevaade .....	7
1.1 Läänemerri ja Soome laht .....	7
1.1.1 Eutrofeerumine .....	8
1.2 Fütoplankton .....	8
1.2.1 Ränavetikad .....	9
1.2.2 <i>Skeletonema marinoi</i> .....	9
2. Töö eesmärk .....	11
3. Meetodid .....	12
3.1 Proovide päritolu .....	12
3.2 Vetikate kultuuristamine .....	13
3.3 Molekulaarne liigituvastus .....	13
3.4 Statistiline analüüs .....	15
4. Tulemused .....	16
4.1 Eksperimentideks kasutava liigi identifitseerimine .....	16
4.2 Kasvueksperimentid .....	16
5. Arutelu .....	20
Kokkuvõte .....	22
<i>Abstract</i> .....	23
Tänuavalddused .....	24
Kasutatud kirjandus .....	25
Lisad .....	28
Lisa 1. Kromatogrammid .....	28
Lisa 2. Standardkõverad .....	31
Lisa 3. Kasvueksperimentide tulemuste statistiline analüüs R-s .....	32
Lisa 4. Paariviisilise statistilise analüüsi tulemus kõikide tüvede vahel .....	54
Lisa 5. Paariviisilise statistilise analüüsi tulemus samade tüvede vahel .....	55
Lisa 6. Paariviisilise statistilise analüüsi tulemus samade tüvede vahel ilma kontrollita .....	57

## **LÜHENDITE JA MÕISTETE LOETELU**

TAE - Tris- Atsetaat-Etüleendiamintetraäidikhape

PCR - polümeraasi ahelreaktsioon

HELCOM - Helsingi komisjon, Läänemere merekeskkonna kaitse komisjon

ANOVA - dispersioonanalüüs

## SISSEJUHATUS

Merekoskkonna üheks suurimaks probleemiks on alates 20. sajandi teisest poolest kujunenud eutrofeerumine ehk toitainete üleküllus. Eutrofeerumine toob kaasa veevaliteedi halvenemise, kuna suureneb vetikate biomass, mis läbi varjutamise või suurenenud hapnikunöndluse avaldab negatiivset mõju merepõhja taimestikule ja loomastikule. Lisaks sellele võib eutrofeerumine põhjustada muutusi esmaste tootjate liigilises koosseisus ning soodustada kiirekasvuliste ja toksiine tootvate liikide kasvu. Läänemeres toimus suurim toitainete kontsentratsiooni tõus 20. sajandi teisel poolel, kuid alates 2000. aastatest on merre jõudvate toitainete osakaal vähenenud. Peamisteks toitainete reostuse allikateks on põllumajanduses kasutatavad väetised, merre jõudev ebapiisavalt puhastatud heitvesi, laevadelt pärit heitvesi, kalakasvatused ja ka kütuste põletamisel atmosfääri jõudvad toitained.

Merekoskkonnas on olulisteks esmasteeks tootjateks fotosünteesivad mikroskoopilised üherakulised vetikad ja bakterid ehk fütoplankton. Ränivetikad, dinoflagellaadid ja tsüanobakterid on peamised klassid, millesse kuuluvad mikroorganismid moodustavad fütoplanktoni. Nendesse erinevatesse klassidesse kuuluvad liigid omavad erinevat mõju meres toimuvatele biogeokeemilistele protsessidele läbi nende elutegevuse tulemusena tekkiva orgaanilise aine lagundamise ja settimise, millel on omakorda laiem mõju merekoskkonna seisundile. Näiteks ränivetikate ja tsüanobakterite domineerimisel kevadistes ja suvistes õitsengutes jõuab merepõhja palju orgaanilist ainet, kus selle lagunemisel suureneb hapnikutarve. See võib viia hapnikuvaeguseni merepõhjas ja omada sealäbi negatiivset mõju merepõhja kooslustele.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks on hinnata, kas erineva vanusega settekihtidest pärit mikroskoopiliste vetikate kasv on eutrofeerumise- eelse, eutrofeerumise tippheetke ja tänapäevaste toitainete kontsentratsioonide juures oluliselt erinev. Töö hüpoteesiks on, et vanematest settekihtidest pärit vetikatüved kasvavad madalamate toitainete kontsentratsioonide juures paremini kui noorematest settekihtidest pärit vetikatüved, kuna noorematest settekihtidest pärit vetikatüved on pärit kõrgemate toitaine kontsentratsioonidega keskkonnast. Saadud teave aitab aru saada, kas ja kuidas on eutrofeerumine mõjutanud mikroskoopiliste vetikate võimet inimtekkeliste muutustega kohaneda.

Hüpoteesi testimiseks kasutati ränivetikate hulka kuuluvat globaalse levikuga liiki *Skeletonema marinoi*. Läänemeres on ta üks arvukamaid ja tavalisemaid ränivetikaliike, kes on eriti oluline just kevadise vetikaõitsengu ajal, kui toodetakse enamus uuest orgaanilisest ainest Läänemeres.

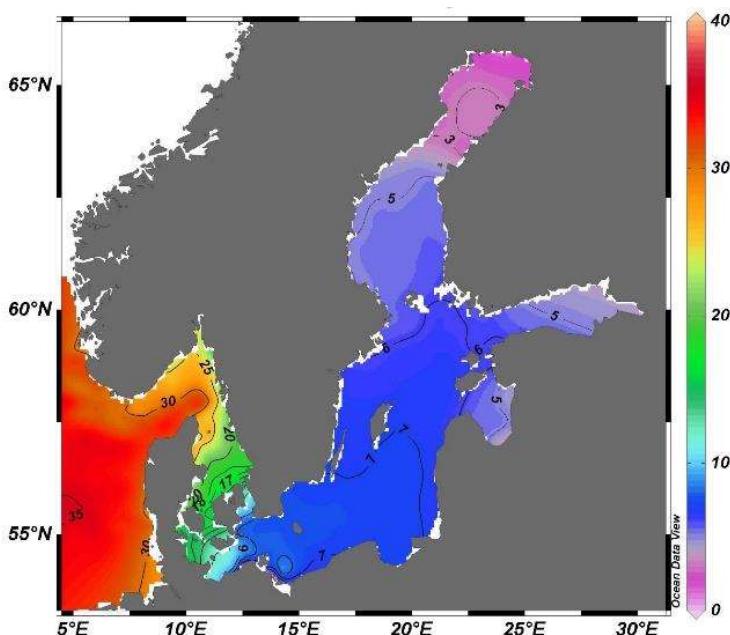
# 1. Kirjanduse ülevaade

## 1.1 Läänemeri ja Soome laht

Läänemeri on üks suurimaid riimveealasid maailmas (HELCOM, 2018). Riimveeliste vee kogude soolsus on kõrgem kui mageveekogudel, kuid madalam kui meredel ja ookeanidel. Läänemeri on Atlandi ookeani sisemeri, mida ühendavad Põhjamerega madalad Taani väinad. Läänemere soolsus on kõikuv, näiteks on Kattegatis soolsus kuni  $20\text{ g kg}^{-1}$ , kuid Botnia ja Soome lahtedes langeb see 3-4  $\text{g kg}^{-1}$  (Joonis 1; Leppäranta ja Myberg, 2009). Soome laht asub Läänemere kirdeosas ja lahe soolsus on mõjutatud Läänemere avaosast lahte jõudvast soolasest veest ning magevee sissevoolust peamiselt lahe idaosas asuvatest jõgedest. Soome lahe ruumala on  $1\ 103\ \text{km}^3$ , moodustades 5% kogu Läänemere ruumalast, lahte ümbrisseva vesikonna pindala on  $420\ 990\ \text{km}^2$ , moodustades 20% kogu Läänemere vesikonnast. (Alenius, Myrberg ja Nekrasov, 1998)

Riimveelisuse ja soolsusgradiendi tõttu elab Läänemeres vähem erinevaid liike kui mage- või merevees, kuna mitte-optimaalne soolsus põhjustab organismidele stressi (Pinet, 2019). Läänemeres leiduvad liigid on segu mere- ja magevee liikidest, kes saavad riimveelises keskkonnas hakkama. Madala soolsusega vetes domineerivad magevee liigid, eriti jõgede suudmealadel ja rannikuvetes (HELCOM, 2022).

Keskmine vee viibeaeg Läänemeres on 30 aastat ning tänu pikale veevahetusajale on Läänemeri tundlik nii looduslike kui inimtekkelite häiringute suhtes. Läänemeri on ümbritsetud 14 riigiga ning Läänemere vesikonnas elab kuni 90 miljonit inimest (HELCOM, 2018). Tänu tihedale inimasustusele ja intensiivsele toitainete reostusele on Läänemere peamiseks keskkonnaprobleemiks eutrofeerumine ja sellest tulenevalt ka hapnikuvaeste ja -vabade alade teke merepõhjas (Carstensen *et al.*, 2014).



Joonis 1. Läänemere keskmene pinnakihi (0-5 m) soolsus ( $\text{g kg}^{-1}$ ; ICES, 2022 andmete põhjal). Värvid näitavad soolsust.

### **1.1.1 Eutrofeerumine**

Eutrofeerumine ehk toitainete üleküllus põhjustab veekogus esmaste tootjate, näiteks mikro- ja makrovetikate ning tsüanobakterite massvohamist (Ferreira *et al.*, 2011). Suurenev esmane tootmine vähendab veekogu läbipaistvust ehk valguse hulka, mis jõuab suurenenud orgaanilise aine sisalduse tõttu veekogu põhja. Orgaaniline aine settib veekogu põhja, kus toimub selle lagundamine, mis omakorda suurendab hapniku tarbimist merepõhjas, mis võib põhjustada hapnikuvaegust (Ferreira *et al.*, 2011). See suurendab settest vabanevat fosforihulka, mis omakorda toetab tarbijate kasvu (Murray *et al.*, 2019). Läänemeres suurenesid peamiste esmaste tootjate kasvu soodustavate toitainete, lämmastiku- ja fosforikontsentratsioonid 20. sajandi teisel poolel vastavalt neli ja kahekса korda (Danielsson, Papush ja Rahm, 2008; Gustafsson *et al.*, 2012).

Soome lahes on eutrofeerumine suurem kui teistel Läänemere basseinidel, kuna lahte jõuab nii Läänemere avaosa põhjakihist pärit hapnikuvaene ja kõrge fosforikontsentratsiooniga vesi kui ka mitme suurema linna puhastatud heitvesi (Lips *et al.*, 2017). Läänemerre jõudvate toitainete kontsentratsioonid on perioodil 1994-2008 oluliselt vähenenud (HELCOM, 2011; Kuliński *et al.*, 2022) ning ka Soome lahte jõudvate toitainete kontsentratsioonid on vahemikus 1994-2010 vähenenud (Knuutila *et al.*, 2017). Samas ei ole eutrofeerumise negatiivne mõju vähenenud, kuna setetest vabaneb jätkuvalt fosforit, mis soodustab tsüanobakterite suviseid õitsenguid, mis omakorda suurendavad hapnikutarvet merepõhjas ja seeläbi fosfori vabanemist (Kuliński *et al.*, 2022). Lisaks lämmastiku ja fosfori kontsentratsioonide suurenemisele 1970. ja 1980. aastatel on vähenenud vees lahustunud räni kontsentratsioonid (Danielsson, Papush ja Rahm, 2008). Räni on vaja ühe olulise mikrovetikate rühma, ränivetikate, kesta ehitusmaterjalina. Vähenenud räni kontsentratsioonid võivad muuta fütoplanktoni liigilist kooslust, kuna eelise saavad liigid, kes räni ei vaja ning see võib omakorda mõjutada toitainete ringlust ja hapnikutarvet merepõhjas läbi selle, kas surnud organismide lagundamine toimub veepinna lähedal või merepõhjas (Spilling *et al.*, 2018).

## **1.2 Fütoplankton**

Fütoplankton ehk mikroskooplised fotosünteesivad üherakulised vetikad ja bakterid, on veekogudes olulised esmased tootjad. Neid leidub kõigis maailma ookeanides ja meredes, kus on piisavalt valgust ja toitaineid. Tavaliselt domineerivad mikrovetikad hästi segunenud rannikuvetes ja süvavee kerkepiirkondades, kus tänu toitainete kõrgele kontsentratsioonile on esmane tootmine kõrge. See omakorda toetab järgnevate toiduahela lülide suurt arvukust, näiteks kalarikkad Peruu, California, Kanaari ja Benguela süvaveekerke tsoonid. (Benoiston *et al.*, 2017)

Fütoplankton toodab enam kui 45% kogu planeedi esmasesest tarbijatele kättesaadavast orgaanilisest ainest (Pierella Karlusich, Ibarbalz ja Bowler, 2020). Samuti on fütoplankton oluline bioloogilise süsinikupumba komponent, mille abil süsinikdioksiid ( $\text{CO}_2$ ) eemaldatakse atmosfäärist ja ärastatakse sügaval ookeani põhja kuni milleeniumiks (Falkowski, 2012).

Fütoplanktoni moodustavad erinevatesse taksonoomilistesse rühmadesse kuuluvad liigid. Eukarüootidest võib peamiste rühmadena välja tuua ränivetikad ja dinoflagellaadid. Prokarüootidest on domineerivaks pikotsüanobakterid, näiteks perekondadest *Prochlorococcus* ja

*Synechoccus*. Suurem osa fütoplanktoni hulka kuuluvatest organismidest on üherakulised, kuid rakud võivad moodustada omavahel ühendatud kette (ränivetikad), kolooniaid või elada sümbioosis teiste liikidega. Esimesed teated fütoplanktonist pärinevad 17. sajandi teisest poolest peale mikroskoobi leiutamist ja kasutuselevõttu. Meres leiduvat fütoplanktonit hakati uurima 18. sajandi teisel poolel kui looduseuurijad hakkasid osalema merereisidel. (Pierella Karlusich, Ibarbalz ja Bowler, 2020) Tänaseni on mikroskoop põhilise meetod fütoplanktoni liikide tuvastamiseks ja seireks (Karlson, Cusack ja Bresnan, 2010). Viimase aja tõusev trend on molekulaarsete meetodite kasutamine, kuna need aitavad mikroorganisme veel täpsemalt tuvastada kui morfoloogilised tunnused seda võimaldavad (Pierella Karlusich, Ibarbalz ja Bowler, 2020).

### **1.2.1 Ränivetikad**

Ränivetikad viivad läbi umbes viiendiku Maal toimuvast fotosünteesist. Ränivetikad toodavad meres aastaga sama koguse orgaanilist süsinikku, kui kõik maapealsed vihmametsad kokku. Ränivetikad on hästi adapteerunud üle elama pikki perioode, kus valgus ja toitained on limiteeritud ja tihti domineerivad nad kevadistes õitsengutes, kuna nad kasvavad soodsates tingimustes kiiremini kui teised fütoplanktoni liigid, kuniks räni ei ole limiteeritud. Samuti leidub neid kõrgetel laiuskraadidel ja polaarsetes keskkondades, eriti piki mere-jää äärt, kus teisi fotosünteesivaid organisme on vähe, muutes Arktika ja Lõuna ookeani ökosüsteemid nendest sõltuvaks. (Benoiston *et al.*, 2017)

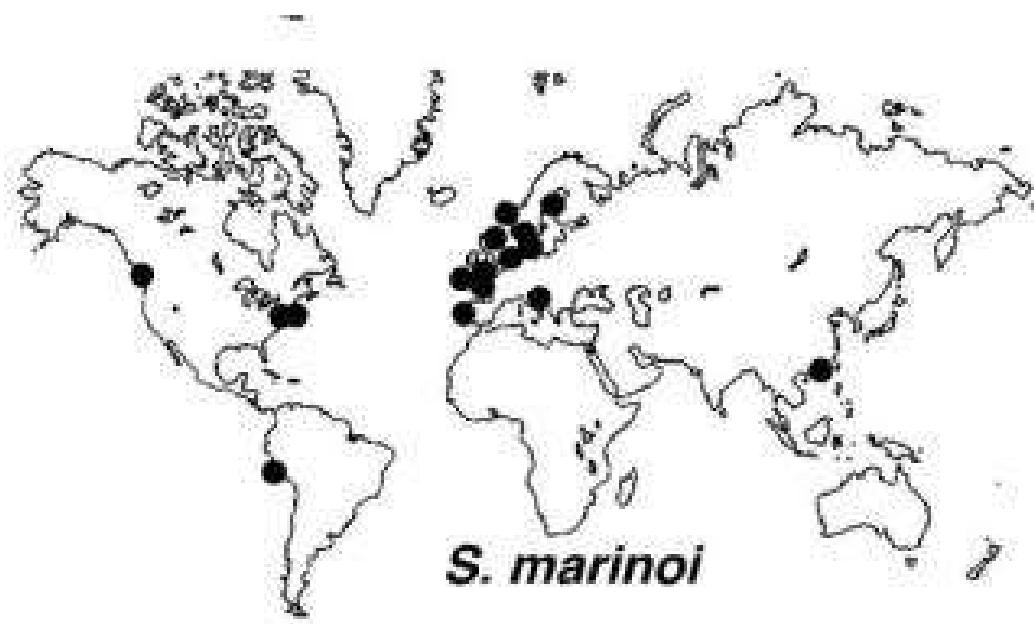
Ränivetikate toodetav süsinik kasutatakse kiirelt ära ja see on aluseks kogu mere toiduvõrgustikule. Osa nende poolt toodetud orgaanilisest ainest settib põhja, kus see seondub aja jooksul setete ja kivimitega (Armbrust, 2009). Ränivetikad on teiste mikrovetikate hulgas unikaalsed, kuna neid ümbritseb kaheosaline räniest kest, mis tähendab, et lisaks peamistele toitainetele: lämmastikule ja fosforile, vajavad nad oma elutegevuseks ka räni. Madalad räni kontsentratsioonid merevees vähendavad nende konkurentsvõimet võrreltes teiste peamiste mikrovetika rühmadega. Tänu hästi säilivatele ränikestadele on ränivetikaid kasutatud ka minevikus valitsenud keskkonnatingimuste uurimiseks (Clarke *et al.*, 2006; Ellegaard *et al.*, 2006; Olli *et al.*, 2008).

Ränivetikate liigilise mitmekesisuse uurimine ajas ja ruumis on oluline mõistmaks keskkonnaparameetrite ja nendega seotud looduslike või inimtekkeliste muutuste mõju ränivetikatele ning sealöbi kogu mereökosüsteemile (Malviya *et al.*, 2016). Ränivetikad on keskkonnas hõlpsasti kultuuristatavad, nende kasvatamine on lihtne ja ei nõua kulukaid söötmeid ega kalleid instrumente, samuti saab neid transportida väikestes kogustes ja paljundada soovitud koguseksi. Seega on nad potentsiaalselt tööstuslikult kasutatavad, näiteks biomineraliseerimisel, nanomaterjalitehnoloogias, optiliste ja immuun-biosensoritena, filtritena, immuundiagnostikas, söödana mereviljeluses ja biokütusena. (Mishra *et al.*, 2017)

### **1.2.2 *Skeletonema marinoi***

*Skeletonema* perekond koosneb 18 erinevast liigist (WoRMS Editorial Board, 2022). Läänemeres esineb kolm *Skeletonema* perekonda kuuluvat liiki: *S. marinoi* (Sarno & Zingzone, 2005), *S. subsalsum* (Cleve-Euler Bethge, 1928) ja *S. potamus* (C.I Weber Hasle, 1976), (Hällfors, 2004). Neid saab eristada elektronmikroskoobi abil ja samuti molekulaarselt. Kõik teadaolevad *Skeletonema*

perekonda kuuluvad liigid on laialt levinud, näiteks leidub mõningaid liike nii lähispolaar- kui ka parasvöötme aladel, samas kui mõnedel liikidel on subtropiline kuni troopiline leviala (Kooistra *et al.*, 2008).



**Joonis 2.** *Skeletonema marinoi* levik maailmas. Leiukohad tähistatud mustade täidetud ringidega (muudetud Kooistra *et al.*, 2008 põhjal)

Kooistra ja teised (2008) ülevaate põhjal on *Skeletonema marinoi* liiki leitud kõige rohkematest proovivõtpunktidest, nii põhja- kui lõunaosa parasvöötimest (**Joonis 2**). Madalamatel laiuskraadidel on neid leitud talviti või süvavee kerke aladel, samas kõrgematel laiuskraadidel pigem kevadel või suve alguses. *Skeletonema marinoi* on esimene rakukette moodustav ränivetika liik, kelle genoom on täies mahus sekveneeritud. Praeguseks on genoomis 22 400 geeni, milles 79% kodeerivad teadmata funktsiooniga valke (Johansson *et al.*, 2019). Kuna *S. marinoi* moodustab puhkestaadiume, mis settivad merepõhja ja võivad anoksilistes setetes püsida üle 100 aasta, siis saab neid taaselustada erinevatest ajaperiodidest geneetiliste ja fenotüüpiliste muutuste mikroevolutsioniliste uuringute jaoks (Godhe ja Härnström, 2010). Seega on ta hea geneetiline mudel rakukette moodustavatele ränivetikatele (Johansson *et al.*, 2019). *Skeletonema marinoi*-d on kasutatud katseorganismina mitmetes varasemates töödes, näiteks on uuritud tema puhkestaadiumite geneetilist mitmekesisust erinevatel aastaaegadel (Saravanan ja Godhe, 2010) ning viidud läbi kasvukeksperimente erinevate soolsustingimustele, temperatuuri, valgustingimustele ja CO<sub>2</sub> kontsentratsioonide juures (Balzano, Sarno ja Kooistra, 2011; Kaeriyama *et al.*, 2011; Kremp *et al.*, 2012).

## **2. Töö eesmärk**

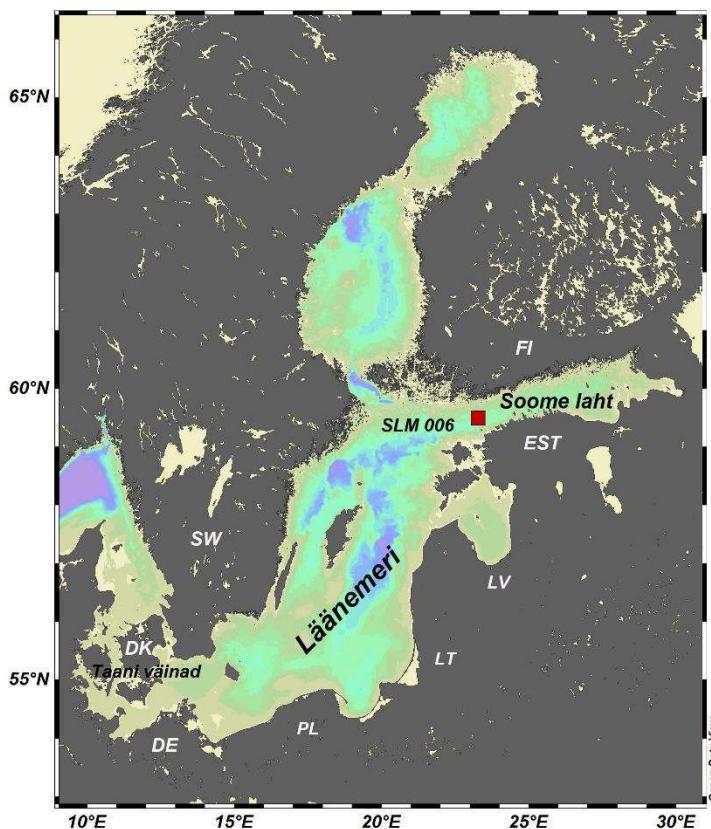
Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli hinnata, kas erinevatest settekihtidest pärit *Skeletonema marinoi* tüvede kasv on erinevate toitainete kontsentratsioonide juures statistiliselt oluliselt erinev. Eksperimentideks kasutatavad toitainete kontsentratsioonid vastavad eutrofeerumise-eelsetele, eutrofeerumise tippketke ja tänapäevasele toitainete kontsentratsioonidele Läänemeres.

Töö hüpoteesiks on, et vanematest settekihtidest pärit vetikatüved kasvavad madalamate toitainete kontsentratsioonide juures paremini kui noorematest settekihtidest pärit vetikatüved, kuna noorematest settekihtidest pärit vetikatüved on pärit kõrgemate toitainete kontsentratsioonidega keskkonnast.

### 3. Meetodid

#### 3.1 Proovide päritolu

Lõputöös kasutatud vetikatüved on isoleeritud ja kultuuristatud Soome lahest pärit sette läbilõikest. Läbilõige võeti 2020. aastal proovivõtu punktist SLM-006 (**Joonis 3**), mis asub 20 km Osmussaarest põhja pool ( $59^{\circ}26'32.1''N$   $23^{\circ}20'09.5''E$ , veesügavus 101 m). Proovivõtu koht on valitud Soome lahe varasema geoloogilise uuringu põhjal (Suuroja, 2016). Proovid koguti Tallinna Tehnikaülikooli uurimislaeva „Salme“ pardalt kasutades proovivõtuseadet „GEMAX“, mis võimaldab võtta kuni 1 m pikkuseid sette läbilõikeid. Läbilõige lõigati ühe sentimeetri paksusteks kihtideks, mis orgaanikasisalduse põhjal rööbitati samast jaamast varasemalt võetud dateeritud sette läbilõikega (Suuroja, 2016). Orgaanikasisalduse määramine toimus nagu Suuroja (2016) poolt kirjeldatud. Proovivõtt, läbilõike viilutamine, orgaanikasisalduse määramine ja läbilõigete rööbitamine toimus TTÜ Geoloogia ja Meresüsteemide instituutide töötajate poolt. Bakalaureusetöös kasutatud neli settekihti pärisnevad varasemalt dateeritud läbilõike põhjal hinnanguliselt aastatest 2020 (0-1 cm), 1950 (18-19 cm), 1910 (24-25 cm) ja 1882 (32-32 cm). Kihid valiti iseloomustamaks erineva eutrofeerumise tasemega perioode: eutrofeerumise-eelne (enne 1950.aastaid), eutrofeerumise tipphetk (1970) ja tänapäevased tingimused (2020).



**Joonis 3.** Läänemere kaart koos proovivõtukohaga (märgitud punase ristkülikuga)

## 3.2 Vetikate kultuuristamine

Erinevatelt sügavustelt pärit setteproovidest kaaluti 5 g setet 50 ml tuubidesse (02-572-3001, Nerbe Plus GmbH & Co. KG). Settega tuubi lisati 50 ml Soome lahe mereveel põhinevat modifitseeritud F/2 söödet, millele oli lisatud räni (Guillard ja Ryther, 1962; Guillard, 1975; **Tabel 1**) ja segati raputades. Saadud toitainelahuse ja sette segu pipeteeriti rakukulturiplaatidele (92148, TPP Techno Plastic Products AG). Rakukulturiplaadid märgistati proovide koodidega ja isoleeritud rakud pandi kasvama 15°C kliimaruumi 12:12 h valgus: pimedus tsükliga, valgustugevus 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , soolsus 6 g kg $^{-1}$ . Mõnepäevaste vahedega kontrolliti isoleeritud rakke mikroskoobiga (Olympus X51, Olympus Corporation) kuni kasvu tuvastamiseni või kuni 30 päeva. Kasvu tuvastamisel isoleeriti üksikud vetikaketid F/2 söötmesse klonaalsete vetikakultuuride saavutamiseks nagu kirjeldatud Godhe ja teiste (2016) poolt. Vetikakettide isoleerimine ja kultuuristamine viidi läbi MSI töötajate poolt. Klonaalseid mitte-akseenilisi vetikakultuure kasvatati 40 ml koekulturipladelites (90026, TPP Techno Plastic Products AG) F/2 söötmes. Vetikakultuuride säilitamiseks külvati kultuurid iga kolme nädala tagant ümber uude F/2 söödet sisaldavasse kultuuripudelisse.

## 3.3 Molekulaarne liigituvastus

Kuna erinevaid *Skeletonema* liike ei ole võimalik valgusmikroskoobi abil välimuse põhjal usaldusväärselt eristada ning Läänenmeres on esindatud 3 erinevat *Skeletonema* liiki, kontrolliti kõikide eksperimentides kasutatud tüvede liigilist kuuluvust ka 18S ribosomaalse RNA järjestuse fragmendi põhjal. Eksponentiaalselt kasvavast kultuurist eraldati rakud söötmost, kasutades tsentrifuugimist (MPW-352R, MPW Med. Instruments). Üks ml proovi tsentrifuugiti 8 min 10000 rpm, seejärel eraldati proovist 800  $\mu\text{l}$  supernatanti välvides pipettotsaga tuubiseinale kinnitunud rakukogumi häirimist ning järgi jäanud 200  $\mu\text{l}$  proovi tsentrifuugiti 2 min 10000 rpm. Allesjäänud 200  $\mu\text{l}$  supernatanti eemaldati pipetiga ja saadud rakukogumit hoiustati -20 °C, kuni DNA eraldamiseni.

DNA eraldati Chelexiga järgides varasemalt avaldatud protokolli (Nagai jt. 2012; Tanabe, jt. 2016). Selle kohaselt lisati sügavkülmutatud rakkudele 500  $\mu\text{l}$  5% Chelexi lahust, misjärel kuumutati rakke 97 °C 20 min. Eraldatud DNA-d kasutati koheselt PCR-ks ja PCR-st ülejäänud DNA-d hoiustati -20 °C juures.

PCR-ks kasutati praimereid SSU-F1289 (TGGAGYGATTGTCTGGTTATTCCG) ja SSU-R1772 (TCACCTACGGAAACCTTGTACG) (Tanabe et al., 2016) ning ensüümi ja PCR-i kokteili komplekti HOT FIREpol (Solis BioDyne). Ühe proovi jaoks kasutati 4  $\mu\text{l}$  HOT FIREpol, 0,5  $\mu\text{l}$  praimereid, 10  $\mu\text{l}$  DNA/RNA-vaba vett ja 5  $\mu\text{l}$  DNAd. PCR-reaktsiooni maht ühe proovi kohta oli 20  $\mu\text{l}$ . PCR esimeseks etapiks oli ühekordne ensüümi aktivatsioon 95 °C juures. Sellele järgnesid 25-30 tsüklit: denaturatsioon 95 °C juures (10-20s), praimerite hübridisatsioon 62 °C juures (30-60 s), elongatsioon 72 °C juures (2 min). Viimases etapis pikendati amplifitseeritud DNA fragmente 72 °C juures 5 min.

PCR tulemusi kontrolliti geel-elektroforeesiga. Valmistati 150 ml 0.8% geeli, kasutades agarooosi ja Tris-Atsetaat-Etüleendamiintetraäädikhape (TAE) puhvit. Värvaineeks lisati etiidium bromiidi (Naxo

Smart Mix, Naxo OÜ) ja proovide laadimisel geelile laadimispuhvrit (6 x TriTrack DNA Loading Dye, Thermo Fisher). Geeli jooksutati 120 V juures kuni 20 min. Proovid, mille amplikon oli suurusvahemikus (475 bp), sekveneeriti kasutades Sangeri meetodit tellimustööna TÜ Genoomika instituudis Genoomika tuumiklaboris. Saadud sekventsid kromatogrammid (**Lisa 1**) visualiseeriti kasutades Chromas tarkvara (v. 2.6.6 Technelysium Pty Ltd) Visuaalse hinnangu põhjal kvaliteetseid sekventse kasutati võrdluseks NCBI nukelotiidi andmbaasis olevate DNA järjestustega kasutades BLAST otsingut. Liigilise tuvastamise kriteeriumitega kasutati sekventsi protsendelist indentiteeti ( $\geq 98\%$  *S. marinoi*).

Tüvedega kihtides 0-1 cm, 18-19 cm, 24-25 cm ja 32-33 cm viidi läbi kasvueksperimentid kolmes erinevas toitainete kontsentratsiooniga söötmes ja kontroll-söötmes (F/2; **Tabel 1**). Eksperimentaalse soötmete toitainekontsentratsioonid põhinevad HELCOM'i andmebaasis olevatel mõõtmisandmetel (andmed vahemikus 2001-2019; HELCOM 2022) ja modelleeritud toitainete kontsentratsioonide põhjal (1882, 1910, 1970; Gustafsson *et al.*, 2012). Kokku kasutati kasvueksperimentides 11 erinevatest toitetingimustest pärit vetikatüve (**Tabel 2**) ning iga tüve kasvatati kõigis tingimustes kolmes korduses. Kokku oli erinevaid eksperimentaalseid kultuure ja kontroll-kultuure 132.

**Tabel 1** Eksperimentaalse soötmete toitainekontsentratsioonid

Erinevatele eutrofeerumise tasemetele vastavad söötmed	NaNO <sub>3</sub> (μmol/L)	K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (μmol/L)	SiO <sub>4</sub> (μmol/L)	Söötme Redfieldi suhe
<b>1. 2001-2019</b>	6.85	0.61	11.69	N:P 11:1, N:Si 0.6:1
<b>2. 1970dad</b>	10.0	1	10.0	N:P 10:1, N:Si 1:1
<b>3. 1910dad</b>	3.0	0.5	3.0	N:P 6:1, N: Si 1:1
<b>Kontroll</b>	528	21.6	70.6	N:P 24:1, N:Si 7:1

Enne kasvueksperimentide algust aklimatiseriti tüvesid eksperimentaalsetes ja kontrollsöötmetes 7 päeva. Peale aklimatiserumisperioodi lõppu loendati rakkude arv kultuuris, kasutades Sedgewick-Rafteri kambrit (Paul Marienfeld GmbH & Co.) ja Olympus X51 mikroskoopi. Saadud tulemuste põhjal arvutati välja kultuurikogus, mida eksperimentaalsetesesse tingimustesse pipeteerida, et saavutada kõikide kultuuride ja tingimuste puhul sama rakkude arvukus (3000 raku/ml). Selleks kasutati järgnevat valemit: (soovitud rakkude arv eksperimendis /

eksperimentaalse kultuuri maht)\* rakkude arv algses kultuuris. Eksperimentaalse kultuuri maht oli 50 ml.

Rakkude arvukuse suurenemist jälgiti igapäevaselt katse perioodil, mõõtes *S. marinoi* rakkude fotosünteetiliste pigmentide fluorescentsi. Fluorescentsi ja rakkude arvukuse vahelise seose leidmiseks valmistati standardkõverad (**Lisa 2**) kasutades lahjendusi vahemikus 1:1 kuni 1:10. Standardkurvide põhjal leiti fluorescentsi ja rakkude arvukuse vahel lineaarne seos ( $y=ax+b$ ; **Lisa 2**). Fluorescentsi mõõdeti kasutades spektrofotomeetrit (TECAN Infinite M200 PRO, programm Magellan 7.3). Fluorescentsi valgusspektrid olid 450 nm ja 750 nm, mõõtmised toimusid kaevu pinnalt. Eksperimentides toimuvate muutuste jälgimiseks mõõdeti kõigist kultuuridest iga päev vahemikus 18-19 fluorescentsi 1 ml kultuurist, mis pipeteeriti kaevuplaatidele (92048 TPP Techno Plastic Products AG). Eksperimentid kestsid kuni rakkude arvukus enam ei suurenenud kolme päeva jooksul.

### 3.4 Statistiline analüüs

Kasvueksperimentide tulemuste statistiliseks analüüsiks kasutati maksimaalset rakkude arvu igas proovis. Esmalt testiti andmete normaaljaotust Shapiro-Wilk testiga ja varieeruvust eksperimentide vahel Levene testiga. Kui andmed olid normaalselt jaotunud ja varieeruvus eksperimentide vahel homogeenne, kasutati eksperimentide vaheliste erinevuste statistiliseks hindamiseks ühesuunalist dispersioonianalüüs (ANOVA). Kui andmed ei vastanud ANOVA eeldustele nagu andmete normaaljaotus või ühetaoline faktori mõju sõltuvale tunnusele, siis kasutati mitte-parameetrist Kruskal-Wallis-e testi. Statistikiliselt olulise tulemuse puhul ( $p < 0.05$ ) kasutati konkreetsete eksperimentide vaheliste erinevuste välja selgitamiseks järeltestidena ANOVA puhul Tukey ja Kruskal-Wallis-e puhul Dunn'i teste. Järeltestide statistilise olulisuse hindamisel kasutati automaatselt korrigeeritud p-väärtusi, et vältida mitmete testide üheaegsest tegemisest tulenevat suurenevat valepositiivse tulemuse saamise tõenäosust. Statistikilised testid viidi läbi kasutades RStudiot (v. 1.2.5033, RStudio Team 2020) ja erinevaid pakette ("car", „dplyr“, „FSA“; Fox ja Weisberg, 2019; Wickham, jt. 2021; Ogle, jt. 2021). Tulemused (**Lisa 3**) visualiseeriti karp-vurruud diagrammidena kasutades paketti „ggpubr“ (Kassab, 2020) ja cowplot (Wilke, 2020).

## 4. Tulemused

### 4.1 Eksperimentideks kasutava liigi identifitseerimine

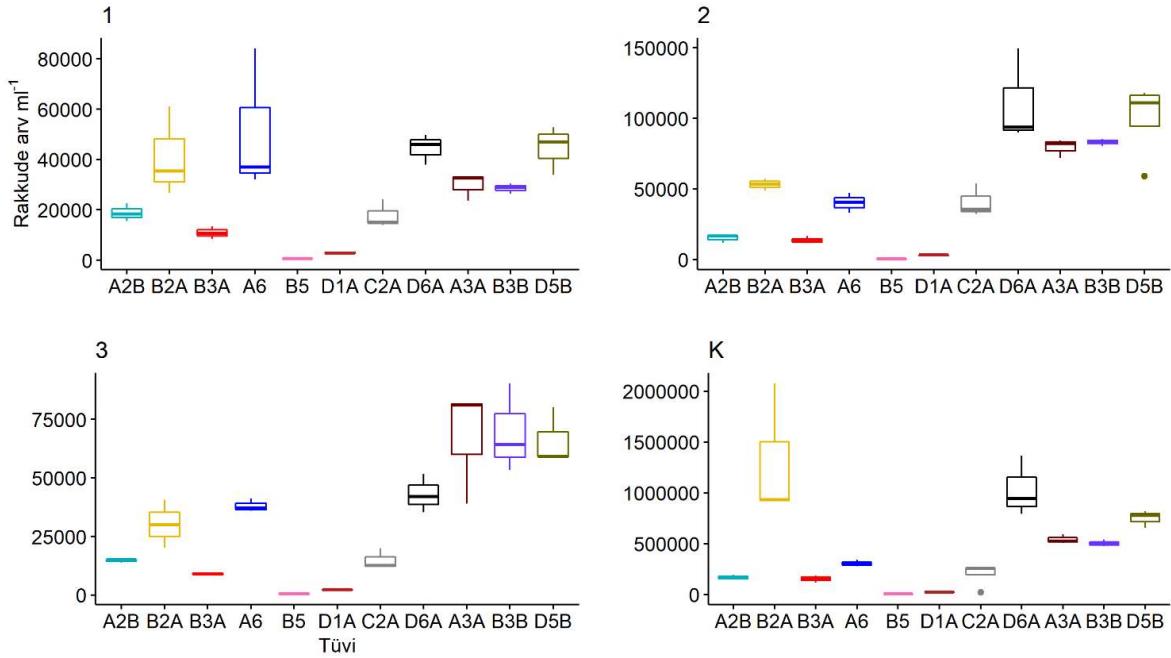
Vetikatüvede identifitseerimisel 18S rRNA geeni fragmendi põhjal tuvastati, et kõik eksperimentideks kasutatavad tüved olid *Skeletonema marinoi* (**Tabel 2**).

**Tabel 2.** Ülevaade töös kasutatud vetikatüvedest

Tüvi	Settekihi sügavus (cm)	Hinnanguline päritoluasta referentsläbilöike põhjal	Andmebaasi vaste 18S markeri põhjal
A2B	0-1	2020	<i>Skeletonema marinoi</i>
B2A	0-1	2020	<i>Skeletonema marinoi</i>
B3A	0-1	2020	<i>Skeletonema marinoi</i>
A6	18-19	1950	<i>Skeletonema marinoi</i>
B5	18-19	1950	<i>Skeletonema marinoi</i>
D1A	24-25	1910	<i>Skeletonema marinoi</i>
C2A	24-25	1910	<i>Skeletonema marinoi</i>
D6A	24-25	1910	<i>Skeletonema marinoi</i>
A3A	32-33	1882	<i>Skeletonema marinoi</i>
B3B	32-33	1882	<i>Skeletonema marinoi</i>
D5B	32-33	1882	<i>Skeletonema marinoi</i>

### 4.2 Kasvueksperimendid

Kasvueksperimentides kasutatud tüved erinesid oma kasvupotentsiaalilt olenemata söötme toitainete kontsentratsioonilt (**Joonis 4**). Tüvedest, mis on pärit sügavuselt 0-1 cm, oli kasvukõverate analüüsimise põhjal kõige suurema rakkude arvukusega kõigis söötmetes tüvi B2A ja kõige madalama rakkude arvukusega tüvi B3A. Setetest 18-19 cm sügavuselt pärinevatest tüvedest kasvas tüvi A6 kõigis toitainelahustes paremini kui B5. Erinevust kasvupotentsiaalis oli näha ka 24-25 cm sügavuselt pärit tüvede puhul, näiteks saavutas tüvi D6A kõigis söötmetes suurema rakkude arvukuse kui D1A. Kõige sügavamast settekihist (32-33 cm) pärit vetikatüved saavutasid kõigis söötmetes mitmete teistest kihtidest pärit tüvedega võrreldes suurema maksimaalse rakkude arvukuse. Eriti suure maksimaalse rakkude arvukuse saavutasid nad 1970.ndaid aastaid ehk eutrofeerumise tippketke toitaine kontsentraatsioone jälgendavas söötmes (**Joonis 4**, paneel 2)



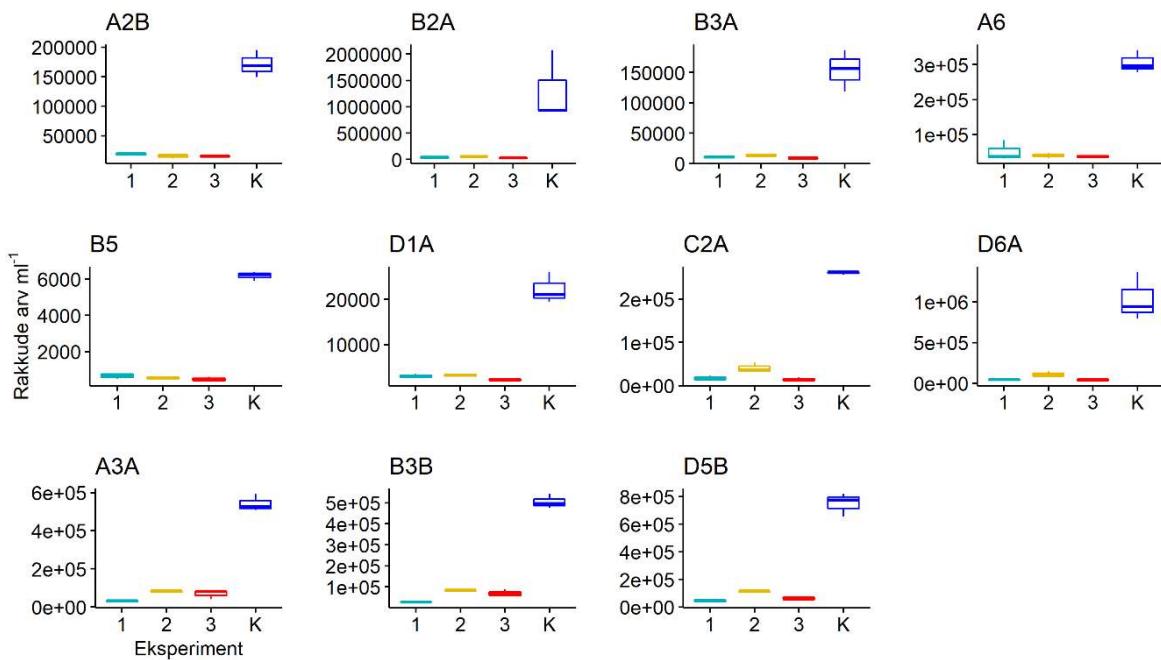
**Joonis 4.** Erinevate *S. marinoi* tüvede maksimaalne rakkude arvukus ( $n=3$ ) erinevates toitainete kontsentratsioonidega kasvukeksperimentides. 1: 2001-2019; 2: 1970.ndad, 3: 1910.ndad, K: kontroll-sööde. X-telj näitab erinevaid tüvesid, Y-telj maksimaalset rakkude arvu  $\text{ml}^{-1}$ . Y-telje skaala jaotused on alamjoonistel vahel erinevad.

Kõikides eksperimentides erinesid rakkude maksimaalsed arvukused üksteisest statistiliselt olulisel määral ( $p < 0.05$ ; **Tabel 3**). Tüvede maksimaalsed rakkude arvukused erinesid kõige rohkem eksperimentides 1 ja 2, kus statistiliselt oluline erinevus leiti vastavalt 14 ja 11 tüve puhul (**Lisa 4**). Esimeses eksperimendis oli näiteks tüvel A6 (18-19 cm) statistiliselt oluliselt suurem maksimaalne rakkude arv kui tüvedel B3A (0-1 cm), B5 (18-19 cm), D1A (24-25 cm), C2A (24-25 cm; **Lisa 4**). Samas eksperimendis oli samast settekihist pärit tüvel B5 statistiliselt oluliselt väiksem rakkude arvukus kui tüvedel B2A (0-1 cm), D6A (24-25cm) ja D5B (32-33 cm; **Lisa 4**). Eksperimendis 3 ja kontrolllahuses oli statistiliselt olulised erinevused rakkude arvukuses tuvastatavad väiksema arvu tüvede puhul (**Lisa 4**). Eksperimendis 3 näitasid statistiliselt oluliselt suuremaid maksimaalseid rakkude arvukusi tüvedel A3A, B3B ja D5B, kes on pärit eurofeerumisele eelnevast ajast (1886.aastast, 32-33 cm).

**Tabel 3.** Köikide tüvede maksimaalse rakkude arvukuse võrdlus kolme erineva toitainete kontsentratsiooniga eksperimendis ja kontroll-söötmes. Statistikiliselt olulised ( $p<0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedamas kirjas.

Eksperiment	Sapiro-Wilk (W/p väärustus)	Levene'i test (F/p väärustus)	ANOVA (F/p väärustus)	Kruskal-Wallis ( $X^2/p$ value) df=10
Eksperiment 1	0.94/ <b>0.08</b>	0.96/0.50	7.48/ <b>4.49e-05</b>	
Eksperiment 2	0.93/ <b>0.03</b>	0.88/0.57		31.35/ <b>0.0005</b>
Eksperiment 3	0.91/ <b>0.01</b>	0.85/0.59		30.04/ <b>0.001</b>
Kontroll	0.84/ <b>0.002</b>	0.93/0.53		31.56/ <b>0.0005</b>

Ühe tüve piires olid rakkude maksimaalsed arvukused erinevates eksperimentides suhteliselt sarnased, kuid kontroll-söötme maksimaalsete rakkude arvust madalamad (**Joonis 5**). Maksimaalne rakkude arvukus erines enamustel tüvedel erinevate söötmete korral statistiliselt oluliselt ( $p<0.05$ ; **Tabel 4**), mis oli tingitud kontroll-söötmeaga võrreldes statistiliselt oluliselt ( $p<0.05$ ) madalamast maksimaalsete rakkude arvust eksperimentides (**Lisa 5**). Mõnede tüvede puhul oli näha suuremaid erinevusi maksimaalses rakkude arvukuses erinevate eksperimentide puhul (**Joonis 5**). Need tüved (D1A, C2A, D6A, A3A, B3B, D5B) on pärit eutrofeerumise- eelsetest settekihtidest (**Tabel 2**) ning kui statistilisest analüüsist välja jätkuva kontroll-söötmete kõrged maksimaalsed rakkude arvukused, näitasid enamus nendest tüvedest ka statistiliselt olulist erinevust eksperimentide vahel (**Tabel 5**). Iga tüve kohta tehtud järeltestid näitasid, et oluliselt kõrgemad maksimaalsed rakkude arvukused olid kõigi tüvede puhul eksperimentis 2 (**Lisa 6**), mis esindab eutrofeerumise tippketke toitainete kontsentraatsioone.



**Joonis 5.** Erinevate *S. marinoi* tüvede maksimaalne rakkude arvukus ( $n=3$ ) erinevates toitainete kontsentraatsioonidega kasvueksperimentides. 1: 2001-2019; 2: 1970.ndad, 3: 1910.ndad, K: kontroll-sööde

**Tabel 4.** Kõikide tüvede maksimaalse rakkude arvukuse võrdlus kolme erineva toitainete kontsentraatsiooniga eksperimendis ja kontroll-söötmes. Statistikiliselt olulised ( $p<0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedamas kirjas.

Tüvi	Sapiro-Wilk (W/p väärtus)	Levene'i test (F/p väärtus)	Kruskal-Wallis ( $X^2$ /p value) df=3
A2B	0.62/ <b>0.0002</b>	2.83/0.11	8.44/ <b>0.04</b>
B2A	0.59/ <b>0.0001</b>	0.99/0.44	8.08/ <b>0.04</b>
B3A	0.63/ <b>0.0002</b>	3.44/0.07	8.44/ <b>0.04</b>
A6	0.65/ <b>0.0003</b>	0.86/0.50	6.28/0.10
B5	0.60/ <b>0.0001</b>	0.65/0.60	7.82/ <b>0.05</b>
D1A	0.64/ <b>0.0002</b>	1.74/0.23	9.46/ <b>0.02</b>
C2A	0.64/ <b>0.0002</b>	0.46/0.72	9.67/ <b>0.02</b>
D6A	0.66/ <b>0.0003</b>	2.1/0.18	9.36/ <b>0.02</b>
A3A	0.66/ <b>0.0003</b>	0.87/0.49	9.66/ <b>0.02</b>
B3B	0.67/ <b>0.0004</b>	1.61/0.26	9.46/ <b>0.02</b>
D5B	0.65/ <b>0.0003</b>	1.82/0.22	10.42/ <b>0.01</b>

**Tabel 5.** Kõikide tüvede maksimaalse rakkude arvukuse võrdlus kolme erineva toitainete kontsentraatsiooniga eksperimendis. Statistikiliselt olulised ( $p<0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedamas kirjas.

Tüvi	Sapiro-Wilk (W/p väärtus)	Levene'i test (F/p väärtus)	ANOVA (F/p väärtus)	Kruskal-Wallis ( $X^2$ /p value) df=3
A2B	0.98/0.95	0.38/0.70	1.56/0.30	
B2A	0.92/0.45	0.83/0.49	3.32/0.12	
B3A	0.92/0.403	0.57/0.59	3.58/0.11	
A6	0.66/ <b>0.0001</b>	0.73/0.53		0.22/0.89
B5	0.95/0.74	0.46/0.65	1.63/0.27	
D1A	0.94/0.59	0.55/0.60	5.96/ <b>0.04</b>	
C2A	0.85/0.103	0.63/0.57	9.14/ <b>0.02</b>	
D6A	0.82/0.05	0.51/0.63	8.65/ <b>0.02</b>	
A3A	0.80/ <b>0.02</b>	0.53/0.61		5.95/0.05
B3B	0.85/0.08	2.02/0.21	19.7/ <b>0.002</b>	
D5B	0.89/0.21	0.12/0.89	39.63/ <b>0.0003</b>	

## 5. Arutelu

Käesolevas lõputöös uuriti, kuidas mõjutavad eurofeerumise-eelsed, eurofeerumise tippketkele vastavad ja tänapäevased toitainete kontsentratsioonid erinevatest settekihtidest pärít *Skeletonema marinoi* tüvede kasvu. Peamiste tulemustena saab tuua välja, et erinevatel *S. marinoi* tüvel on väga erinev kasvupotentsiaal ning vanematest settekihtidest pärít tüved kasvasid oluliselt paremini madalamate toitainete kontsentratsioonidega söötmetes kui noorematest settekihtidest pärít tüved.

Kremp ja teised (2012) toovad välja, et ränivetikate ühe liigi erinevad tüved võivad olla väga erinevalt mõjutatud keskkonnas esinevatest stressoritest, nagu näiteks temperatuur, CO<sub>2</sub> tase ja toitainete kontsentratsioonid. Seda põhjustab liigisisene varieeruvus genotüübisse ja fenotüübisse (Godhe *et al.*, 2017). Ka kasvukiirus on üks parameeter, mis võib oleneda liigisisestest erinevustest (Godhe, *et al.*, 2017). Käesolevas töös tuvastati eri settekihtidest pärít tüvede vahel statistiliselt oluline varieeruvus rakkude maksimaalses arvukuses. Varasemast kasvuesperimentist dinoflagellaatidega on teada, et lämmastiku limitatsioon mõjutab rakkude kasvu kövasti rohkem kui fosfori limitatsioon (Vanucci *et al.*, 2012). See võib selgitada paljude noorematest kihtidest pärít tüvede madalamaid rakkude arvukusi eurofeerumise- eelseid tingimusi jälgendavas söötmes, kuna söötmes oli lämmastik vörreldes fosforiga limiteeritud.

Töö hüpotees sai kinnitatud, kuna köige vanemast settekihist (32-33 cm) pärít tüved saavutasid olulisest suurema maksimaalse rakkude arvukuse vörreldes teistest kihtidest pärít tüvedega eksperimentis number 3. Võib eeldada, et noorematest settekihtidest pärít tüved on harjunud kõrgemate toitainete kontsentratsioonidega ja eksperimentis number 3 oli toitaineid vähem ja esines ka lämmastiku limitatsioon.

Võimalik põhjus, miks noorematest settekihtidest pärít vetikatüved ei kasvanud statistiliselt oluliselt halvemini madalates toitainete kontsentratsioonides, võib tuleneda asjaolust, et kultuurid ei olnud akseenilised, st. sisaldasid baktereid. Bakterid ja ränivetikad vahetavad omavahel vitamiine, rauda ja teisi mikroelemente, samuti lahustunud fosforit ja lämmastikku. See aitab ränivetikatel hakkama saada rasketes tingimustes. (Amin, Parker ja Armbrust, 2012) Näiteks mõjutab toitainete limitatsioon ränivetikate toodetavate polüsahhariidide kogust, mis on toiduks bakteritele. Kui keskkond on N-limiteeriv, siis suureneb polüsahhariidide tootmine, mis omakorda soosib bakterite kasvu ja nende poolt toodetud vetikatele vajalike ühendite sünteesimist (Penna *et al.*, 1999). Mikrovetikate rakkude lüsumisel vabaneb keskkonda orgaanilist lämmastikku, mida saab kasutada NH<sub>4</sub><sup>+</sup> taastootmiseks, mis omakorda on mikrovetikate eelistatuum lämmastikuallikas (Orefice *et al.*, 2019). Võib järeldada, et kuigi erinevates eksperimentides olid toitaineekogused erinevad, siis uuematest settekihtidest pärít *S. marinoi* rakkude maksimaalne arvukus ei olnud eri söötmete vahel oluliselt erinev, kuna nendega koos-eksisteerivad bakterid tootsid neile kasvuks vajalikke aineid ning lisaks võisid vetikad kasutada teiste rakkude lüsumise puhul vabanevaid toitaineid.

Eutrofeerumise tipphetkel oli lämmastikku ja räni võrdselt, mistõttu ei olnud kumbki limiteerivaks ja *S. marinoi* sai kasvupotentsiaali suuremas mahus realiseerida. Tänapäevastes tingimustes võis kasvule saada limiteerivaks lämmastiku kontsentratsioon, kuna seda oli vähem kui räni ja fosforit.

Madalam toitainekontsentratsioon ei olnud kasvu pidurdavaks ka noorematest settekihtidest pärit tüvede (0-1 cm, 18-18 cm) puhul. See võib olla seetõttu, et *S. marinoi* on väga tolerantne liik, mis suudab kasvada väga erinevas keskkonnas ilma suuremate muutusteta ja on väga laia sobivate kasvutingimuste spektriga (Balzano, Sarno ja Kooistra, 2011). Tõenäolisem on aga, et *S. marinoi* vahetas bakteritega toitained ja taaskasutas surnud rakkudest pärit lämmastikku (Amin, Parker ja Armbrust, 2012; Orefice *et al.*, 2019).

Käesoleva töö tulemuste põhjal saab järeldada, et *S. marinoi* saab hästi hakkama erinevates toitainete kontsentratsioonides ning ka tugevalt eutrofeerunud keskkonnas. Töö tulemused kinnitavad varasemalt leitud, et suurenenud toitainete kontsentratsioonide tõttu kiireneb ränavetikate kasv. Kui toitainete üleküllus Läänemeres ei vähene, siis jätkub hapnikuvaeste tsoonide teke, mille üheks tekkepõhjuseks on merepõhja settinud ränavetikate lagundamise tagajärvel suurenev hapnikutarbimine. Ränavetikate merepõhja settimine mõjutab lämmastiku ja fosfori ringlust läbi suurenenud hapnikutarbe, mis soodustab denitrifikatsiooni ja vähendab setete võimet siduda fosforit. (Spilling *et al.*, 2018)

## Kokkuvõte

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli hinnata, kas erinevatest settekihtidest pärit *Skeletonema marinoi* tüvede kasv on erinevate toitainete kontsentratsioonide juures statistiliselt oluliselt erinev. Selle jaoks kasutati neljalt erinevalt sügavuselt (0-1 cm, 18-19 cm, 24-25 cm ja 32-33 cm) pärit settekihtidest eraldatud *S. marinoi* tüvesid. Need sügavused vastavad aastatele 2020, 1950, 1910 ja 1886, mis esindavad tänapäevaseid, eutrofeerumise tippketke ja eutrofeerumiseelseid Läänemeres valitsevaid toitainete kontsentratsioone. Tüved identifitseeriti 18S rRNA geeni fragmendi põhjal.

Settekihtidest pärinevaid tüvesid kasvatati erinevate toitainete kontsentratsioonidega kasvusöötmetes, et hinnata toitainete kontsentratsioonide mõju *S. marinoi* kasvule. Kokku kasutati 132 erinevat eksperimentaalset kultuuri.

Kõigis eksperimentides kasutatud tüvel oli erinev kasvupotentsiaal, olenemata sellest, kas nad päribesid eutrofeerumis-eelsest, eutrofeerumise tippketkest või tänapäevastest tingimustest. Kõigis söötmetes saavutasid kõige kõrgema maksimaalse rakkude arvukuse kõige sügavamast kasvukihist (32-33 cm, 1886. aasta) pärit vetikad. Kõige suurema arvukuse saavutasid nad 1970ndatel aastatel ehk eutrofeerumise tippketke toitainete kontsentratsioone jäljendavas söötmes.

Töö hüpotees, et vanematest settekihtidest pärit vetikatüved kasvavad madalamate toitainete kontsentratsioonidega söötmetes paremini, kui noorematest settekihtidest pärit vetikatüved, sai kinnitust, kuna kõige vanemast settekihist 32-33 cm (1886) pärit tüved saavutasid kõige madalama toitainete kontsentratsiooniga kasvusöötmes statistiliselt oluliselt suurema rakkude arvukuse.

## **Abstract**

The aim of this Bachelor's thesis was to evaluate whether the growth of a cosmopolitan diatom *Skeletonema marinoi* from different sediment layers is significantly different between pre-eutrophication, maximum eutrophication, and modern conditions. The hypothesis of this thesis was that the algal strains from the older sediment layers grow better in a medium with lower nutrient concentrations than algal strains from younger sediment layers.

Strains from four sediment layers (0-1 cm, 18-19 cm, 24-25 cm and 32-33 cm) dated to 2020, 1950, 1910, 1886 were used. The strains were identified as *S. marinoi* based on the 18S rRNA gene.

Strains from the sediment layers were grown in growth media with three different nutrient concentrations to assess the effect of eutrophication on the growth of *S. marinoi*. This resulted in a total of 132 experimental cultures.

Statistical analysis following the growth experiments showed that all strains had different growth potential, regardless of their origin. Algae from the deepest sediment layer (32-33 cm, 1886) reached the highest maximum cell numbers in all experimental conditions with their highest maximum cell numbers in the media that mimicked the nutrient concentrations from the peak of eutrophication in the 1970s.

The hypothesis of this thesis was confirmed as strains from the deepest (32-33 cm, 1886) layer achieved higher maximum numbers of cells in the media with the lowest nutrient concentration, which was also statistically significant.

## **Tänuavalused**

Keäesoleva bakalaureusetöö autor soovib eelkõige tänada TalTech Meresüsteemide Instituudi teadurit Sirje Sildeveri suurepärase juhendamise ja toe eest töö valmimisel. Samuti suured tänusõnad ka kaasjuhendajatele keemia- ja biotehnoloogia instituudist Maria Cecilia Sarmiento Guerinile ja Lenne Nigulile.

Lisaks aitasid töö valmimisele kaasa Kristian Pärt, rakenduskeemia, toidu- ja geenitehnoloogia esimese kursuse tudeng, ja meresüsteemide ning keemia ja biothenoloogia instituutide töötajad.  
Aitäh teile!

Töö autor soovib ka keelekorrektuuri eest tänada Merili Pili, Mia Petersoni, Maarja Lippu, Aileen Umalit, Anne-Mari Vainurat ja Helen Paisi.

## Kasutatud kirjandus

- Alenius, P., Myrberg, K. and Nekrasov, A. (1998) 'The physical oceanography of the Gulf of Finland: A review', *Boreal Environment Research*, 3(2), pp. 97–125.
- Amin, S. A., Parker, M. S. and Armbrust, E. V. (2012) 'Interactions between Diatoms and Bacteria', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(3), pp. 667–684. doi: 10.1128/mmbr.00007-12.
- Armbrust, E. V. (2009) 'The life of diatoms in the world's oceans', *Nature*, 459(7244), pp. 185–192. doi: 10.1038/nature08057.
- Balzano, S., Sarno, D., Kooistra, W. H. C. F. (2011) 'Effects of salinity on the growth rate and morphology of ten *Skeletonema* strains', *Journal of Plankton Research*, 33(6), pp. 937–945. doi: 10.1093/plankt/fbq150.
- Benoist, A. S. et al. (2017) 'The evolution of diatoms and their biogeochemical functions', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1728). doi: 10.1098/rstb.2016.0397.
- Carstensen, J. et al. (2014) 'Deoxygenation of the baltic sea during the last century', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(15), pp. 5628–5633. doi: 10.1073/pnas.1323156111.
- Clarke, A. L. et al. (2006) *Long-term trends in eutrophication and nutrients in the coastal zone. Limnol. Oceanogr.*, 51(1, part 2), 2006, 385–397. doi: 10.4319/lo.2006.51.1\_part\_2.0385
- Danielsson, Å., Papush, L., Rahm, L. (2008) 'Alterations in nutrient limitations - Scenarios of a changing Baltic Sea', *Journal of Marine Systems*, 73(3–4), pp. 263–283. doi: 10.1016/j.jmarsys.2007.10.015.
- Ellegaard, M. et al. (2006) 'Multi-proxy evidence of long-term changes in ecosystem structure in a Danish marine estuary, linked to increased nutrient loading', *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68(3–4), pp. 567–578. doi: 10.1016/j.ecss.2006.03.013.
- Falkowski, P. (2012) 'The power of phytoplankton', *Nature*, 483, pp. 7–10. <https://doi.org/10.1038/483S17a>
- Ferreira, J. G. et al. (2011) 'Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive', *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. Elsevier Ltd, 93(2), pp. 117–131. doi: 10.1016/j.ecss.2011.03.014.
- Fox, J. and Weisberg, S. (2019) *An R Companion to Applied Regression, Third Edition*. Thousand Oaks CA: Sage. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/> [01.06.2022]
- Godhe, A., Härnström, K. (2010) 'Linking the planktonic and benthic habitat: Genetic structure of the marine diatom *Skeletonema marinoi*', *Molecular Ecology*, 19(20), pp. 4478–4490. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04841.x.
- Godhe, A., et al. (2016) 'Physical barriers and environmental gradients cause spatial and temporal genetic differentiation of an extensive algal bloom' *Journal of Biogeography*, 43: 1130–1142. <https://doi.org/10.1111/jbi.12722>

Godhe, A., Rynearson, T. (2017) 'The role of intraspecific variation in the ecological and evolutionary success of diatoms in changing environments'. *Philosophical Transactions Royal Society B* 372: 20160399. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0399>

Gustafsson, B. G. et al. (2012) 'Reconstructing the development of Baltic Sea eutrophication 1850-2006', *Ambio*, 41(6), pp. 534–548. doi: 10.1007/s13280-012-0318-x.

Hälfors, G. (2004) 'Checklist of Baltic Sea Phytoplankton Species Helsinki', *Baltic Sea environment proceedings no. 95*, (95), p. 210. <https://helcom.fi/wp-content/uploads/2019/10/BSEP95.pdf> [01.06.2022]

HELCOM (2011) 'Fifth Baltic Sea Pollution Load Compilation (PLC-5). Baltic Sea Environment Proceedings No. 128', *Baltic Sea Environment Proceedings*, (128), p. 217. <http://www.helcom.fi/lists/publications/bsep128.pdf> [01.06.2022]

HELCOM (2018) 'State of the Baltic Sea- Second HELCOM holistic assessment, 2011-2016', *Baltic Sea Environment Proceedings* 155, 155, pp. 4–7. <http://stateofthebalticsea.helcom.fi/pressures-and-their-status/hazardous-substances/> [01.06.2022]

HELCOM (2022) 'The nature of the Baltic Sea'.

[http://archive.iwlearn.net/helcom.fi/environment2/nature/en\\_GB/nature/index.html](http://archive.iwlearn.net/helcom.fi/environment2/nature/en_GB/nature/index.html) [01.06.2022]

Johansson, O. N. et al. (2019) 'Skeletonema marinoi as a new genetic model for marine chain-forming diatoms', *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/s41598-019-41085-5.

Kaeriyama, H. et al. (2011) 'Effects of temperature and irradiance on growth of strains belonging to seven *Skeletonema* species isolated from Dokai Bay, southern Japan', *European Journal of Phycology*, 46(2), pp. 113–124. doi: 10.1080/09670262.2011.565128.

Karlson, B., Cusack, C., Bresnan, E. (Toim.) (2010) *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris: UNESCO. doi: <https://doi.org/10.25607/OPB-1371>.

Knuutila, S. et al. (2017) 'Nutrient inputs into the Gulf of Finland: Trends and water protection targets', *Journal of Marine Systems*. Elsevier B.V., 171, pp. 54–64. doi: 10.1016/j.jmarsys.2016.09.008.

Kooistra, W. H. C. F. et al. (2008) 'Global Diversity and Biogeography of *Skeletonema* Species (Bacillariophyta)', *Protist*, 159(2), pp. 177–193. doi: 10.1016/j.protis.2007.09.004.

Kremp, A. et al. (2012) 'Intraspecific variability in the response of bloom-forming marine microalgae to changed climate conditions', *Ecology and Evolution*, 2(6), pp. 1195–1207. doi: 10.1002/ece3.245.

Kuliński, K. et al. (2022) 'Biogeochemical functioning of the Baltic Sea', *Earth System Dynamics*, 13(1), pp. 633–685. Available at: <https://esd.copernicus.org/articles/13/633/2022/>.

Leppäranta, M., Myberg, K. (2009) *Physical Oceanography of the Baltic Sea*. Springer-Praxis, Saksamaa, 1-401.

Lips, U. et al. (2017) 'Wind-driven residual circulation and related oxygen and nutrient dynamics in the Gulf of Finland (Baltic Sea) in winter', *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. Elsevier Ltd, 195, pp. 4–15. doi: 10.1016/j.ecss.2016.10.006.

Malviya, S. et al. (2016) 'Insights into global diatom distribution and diversity in the world's ocean', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(11), pp. E1516–E1525. doi: 10.1073/pnas.1509523113.

Mishra, M. et al. (2017) 'All new faces of diatoms: Potential source of nanomaterials and beyond', *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL), pp. 1–8. doi: 10.3389/fmicb.2017.01239.

Murray, C. J. et al. (2019) 'Past, present and future eutrophication status of the Baltic Sea', *Frontiers in Marine Science*, 6(JAN), pp. 1–12. doi: 10.3389/fmars.2019.00002.

Olli, K. et al. (2008) 'Diatom stratigraphy and long-term dissolved silica concentrations in the Baltic Sea', *Journal of Marine Systems*, 73(3–4), pp. 284–299. doi: 10.1016/j.jmarsys.2007.04.009.

Orefice, I. et al. (2019) 'Role of nutrient concentrations and water movement on diatom's productivity in culture', *Scientific Reports*. Springer US, 9(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/s41598-018-37611-6.

Penna, A. et al. (1999) 'Influence of nutrient ratios on the in vitro extracellular polysaccharide production by marine diatoms from the Adriatic Sea', *Journal of Plankton Research*, 21(9), pp. 1681–1690. doi: 10.1093/plankt/21.9.1681.

Pierella Karlusich, J. J., Ibarbalz, F. M., Bowler, C. (2020) 'Exploration of marine phytoplankton: From their historical appreciation to the omics era', *Journal of Plankton Research*, 42(6), pp. 595–612. doi: 10.1093/plankt/fbaa049.

Saravanan, V., Godhe, A. (2010) 'Genetic heterogeneity and physiological variation among seasonally separated clones of *Skeletonema marinoi* (Bacillariophyceae) in the Gullmar Fjord, Sweden', *European Journal of Phycology*, 45(2), pp. 177–190. doi: 10.1080/09670260903445146.

Spilling, K. et al. (2018) 'Shifting diatom-dinoflagellate dominance during spring bloom in the Baltic Sea and its potential effects on biogeochemical cycling', *Frontiers in Marine Science*, pp. 1–17. doi: 10.3389/fmars.2018.00327.

Suuroja, S. (2016) 'Projekti "Hinnangu andmine merekeskkonna ökosüsteemipõhiseks korraldamiseks Soome lahe merepõhja ja setete näitel (SedGOF)" aruanne' [https://www.kik.ee/sites/default/files/uuringud/aruanne\\_sedgof\\_30.06.2016.pdf](https://www.kik.ee/sites/default/files/uuringud/aruanne_sedgof_30.06.2016.pdf) [01.06.2022]

Vanucci, S. et al. (2012) 'Nitrogen and phosphorus limitation effects on cell growth, biovolume, and toxin production in *Ostreopsis cf. ovata*', *Harmful Algae*. Elsevier B.V., 15, pp. 78–90. doi: 10.1016/j.hal.2011.12.003.

Wilke, C. O. (2020) 'cowplot: Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for "ggplot2". R package version 1.1.1.' <https://cran.r-project.org/package=cowplot> [01.06.2022]

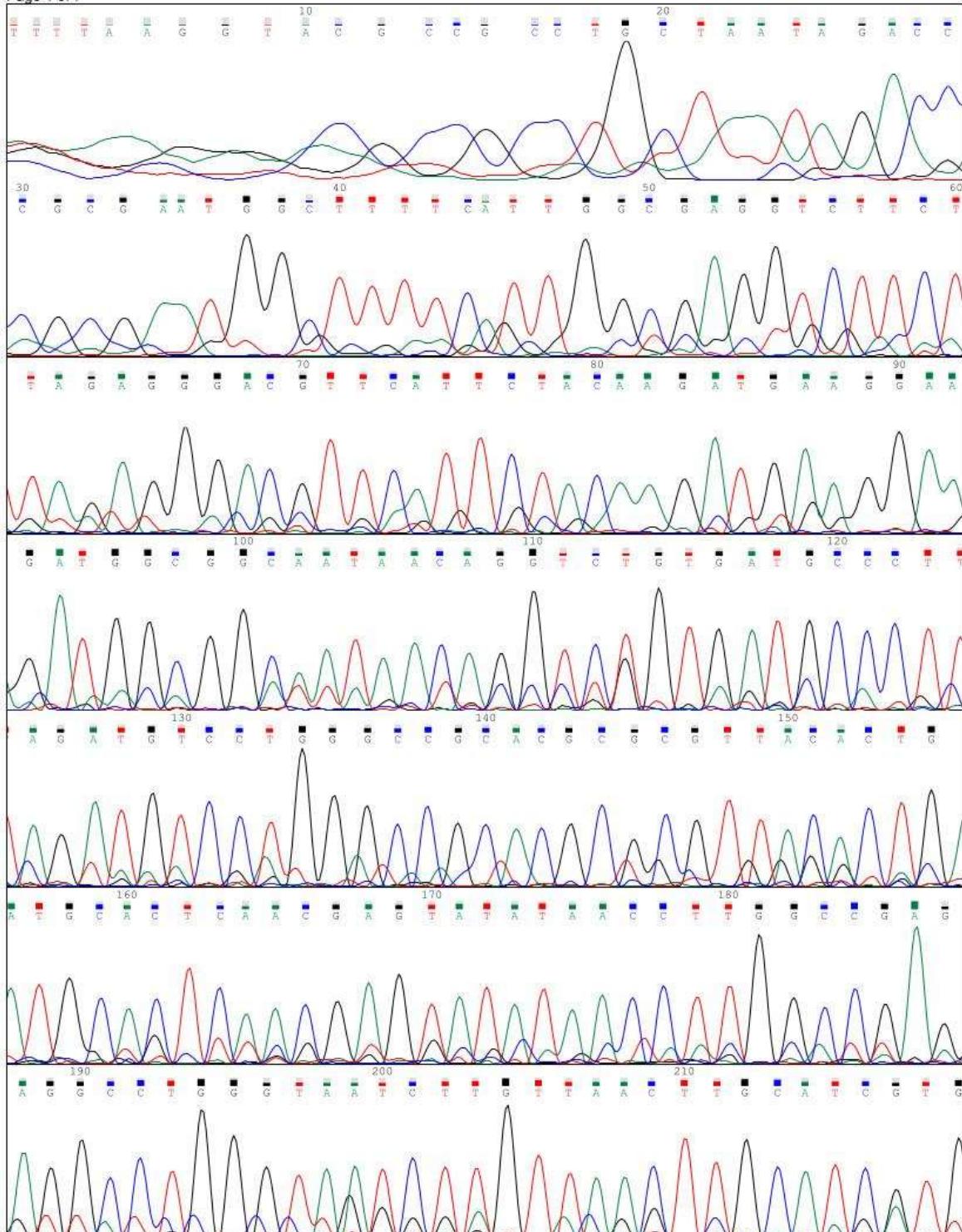
WoRMS Editorial Board (2022). World Register of Marine Species. <https://www.marinespecies.org> [01.06.2022]

# Lisad

## Lisa 1. Kromatogrammid

Tüvi A2B kromatogramm

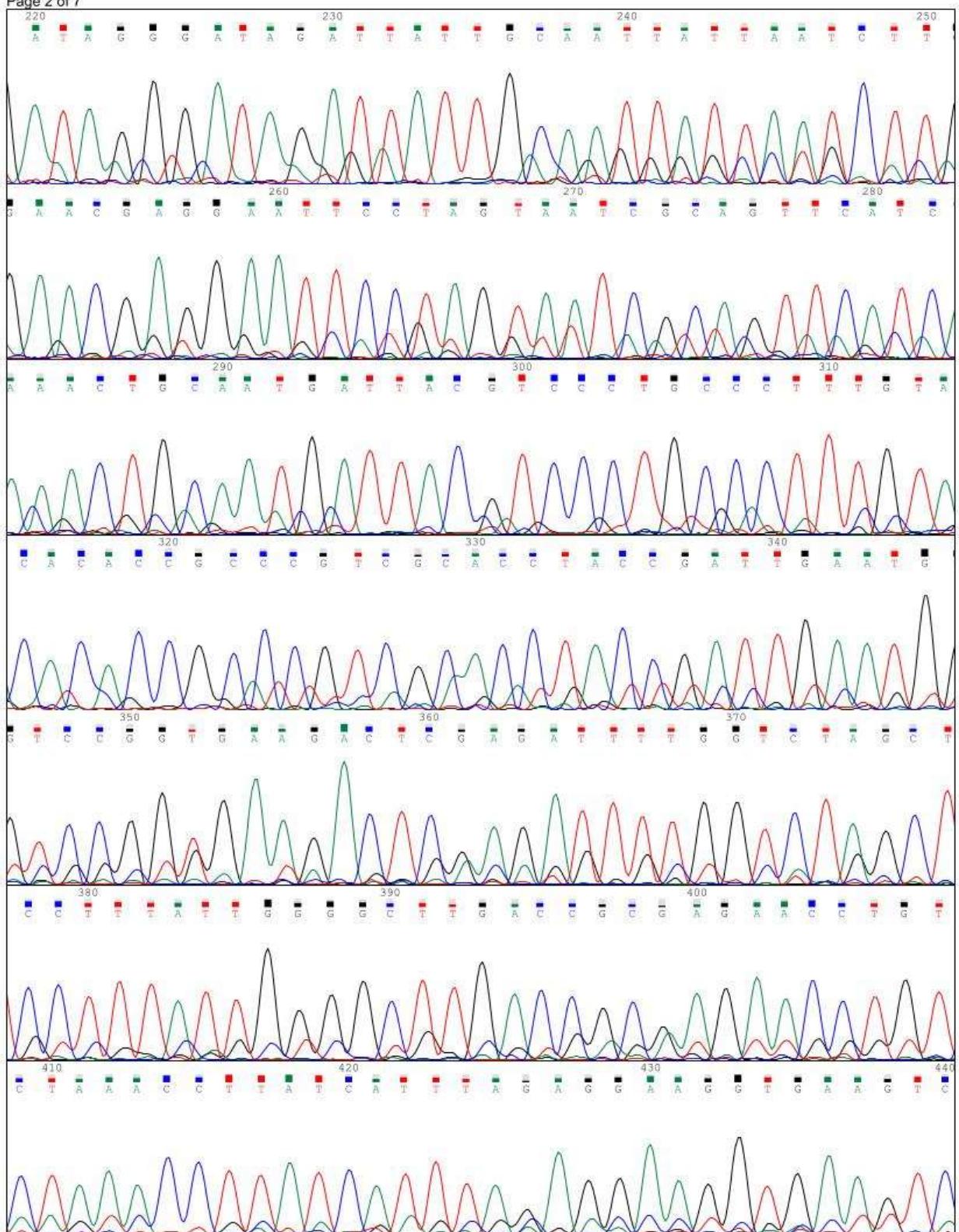
File: 6\_1\_SSU-F1289\_(F)\_C03\_A2B.ab1   Run Ended: Dec 30, 2021, 13:42:10  
Sample: 6\_1\_SSU-F1289\_(F)   Lane: 27   Base spacing: 14.28  
Signal G:4219 A:4210 T:4294 C:3942  
845 bases in 16300 scans  
Page 1 of 7



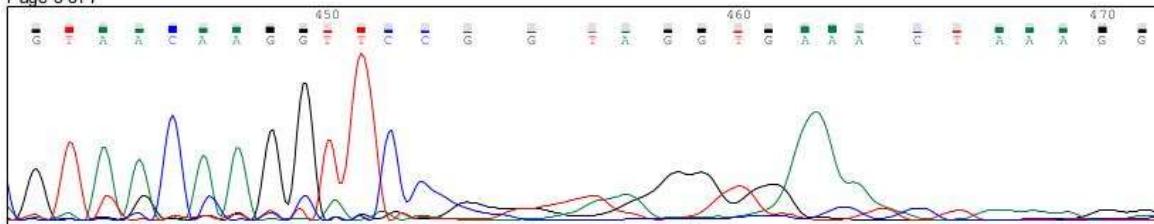
File: 6\_1\_SSU-F1289\_(F)\_C03\_A2B.ab1  
Sample: 6\_1\_SSU-F1289\_(F)  
Page 2 of 7

Run Ended: Dec 30, 2021, 13:42:10  
Lane: 27 Base spacing: 14.28

Signal G:4219 A:4210 T:4294 C:3942  
845 bases in 16300 scans



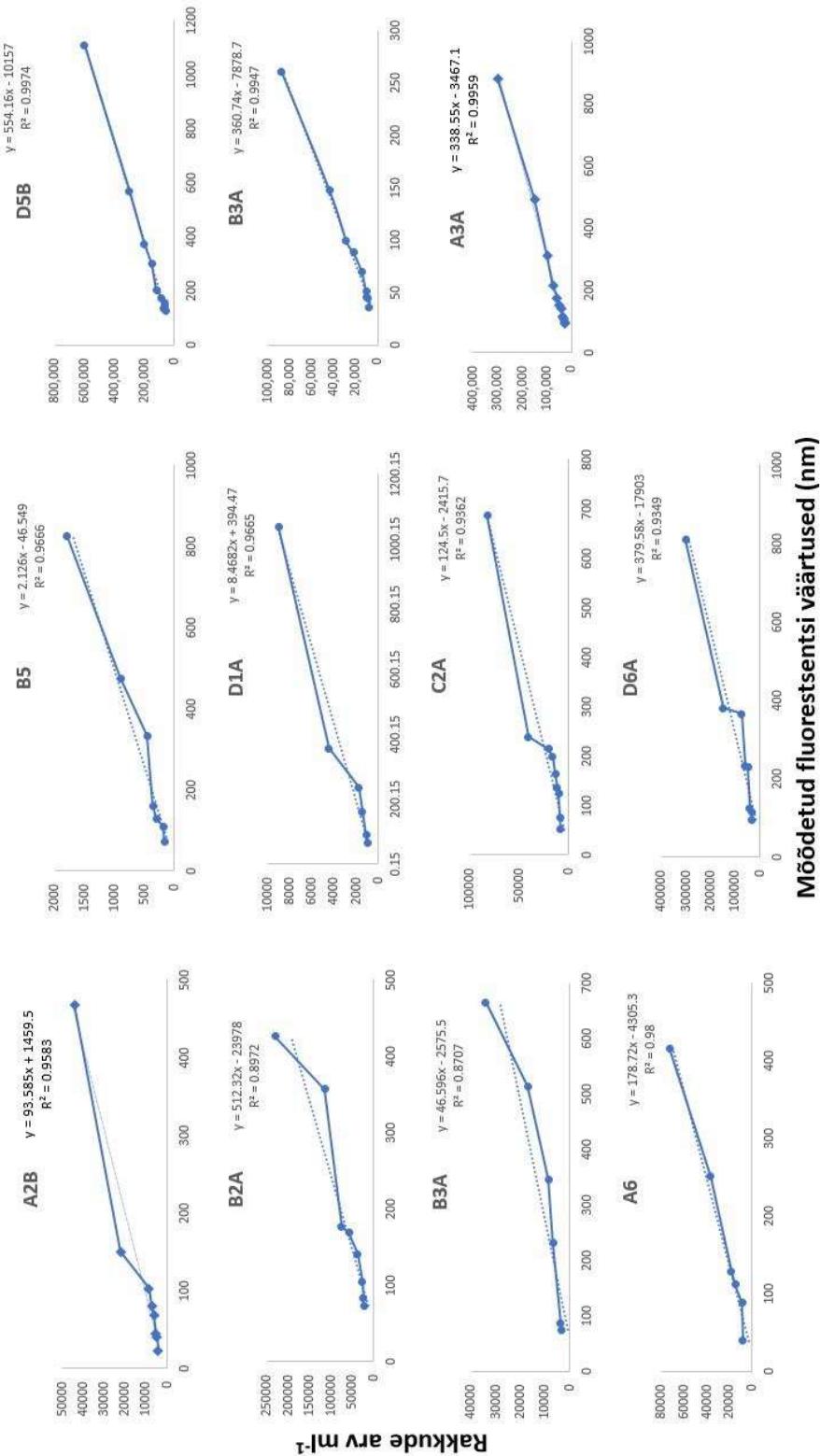
File: 6\_1\_SSU-F1289\_(F)\_C03\_A2B.ab1 Run Ended: Dec 30, 2021, 13:42:10 Signal G:4219 A:4210 T:4294 C:3942  
Sample: 6\_1\_SSU-F1289\_(F) Lane: 27 Base spacing: 14.28 845 bases in 16300 scans  
Page 3 of 7



Ülejäänud tüvede kromatogrammid leitavad OneDrive kaustast: [Tüvede sekventsid](#)

## Lisa 2. Standardkõverad

Standardkõverad; X-teljel mõõdetud fluoresentsi väärtsused (nm), Y-teljel rakkude arv  $\text{ml}^{-1}$



### Lisa 3. Kasvukeksperimentide tulemuste statistiline analüüs R-s

```
setwd("C:\\\\Users\\\\Evelyn\\\\Dropbox\\\\Loputoo")
getwd()
## [1] " C:/Users/Evelyn/Dropbox/Loputoo "
library(openxlsx)
Exdata<-read.xlsx("Growth experiments_spring 2022_SLM_SM_input to
R.xlsx")

#Tüvede andmed
Strain1<-Exdata[c(1:12),]
Strain2<-Exdata[c(13:24),]
Strain3<-Exdata[c(25:36),]
Strain4<-Exdata[c(37:48),]
Strain5<-Exdata[c(49:60),]
Strain6<-Exdata[c(61:72),]
Strain7<-Exdata[c(73:84),]
Strain8<-Exdata[c(85:96),]
Strain9<-Exdata[c(97:108),]
Strain10<-Exdata[c(109:120),]
Strain11<-Exdata[c(121:132),]

#Tüvede andmed ilma kontrollita
Strain11<-Exdata[c(1:8),]
Strain21<-Exdata[c(13:20),]
Strain31<-Exdata[c(25:32),]
Strain41<-Exdata[c(37:44),]
Strain51<-Exdata[c(49:57),]
Strain61<-Exdata[c(61:69),]
Strain71<-Exdata[c(73:80),]
Strain81<-Exdata[c(85:92),]
Strain91<-Exdata[c(97:105),]
Strain101<-Exdata[c(109:117),]
Strain111<-Exdata[c(121:129),]

#Eksperimentide andmed
Exp1<-
Exdata[c(1:3,13:15,25:27,37:39,49:51,61:63,73:75,85:87,97:99,109:111,121
:123),]
Exp2<-
Exdata[c(4:6,16:18,28:30,40:42,52:54,64:66,76:78,88:90,100:102,112:114,1
24:127),]
Exp3<-
Exdata[c(7:9,19:21,31:33,43:45,55:57,67:69,79:81,91:93,103:105,115:117,1
27:129),]
ExpK<-
Exdata[c(10:12,22:24,34:36,46:48,58:60,70:72,81:84,94:96,106:108,118:120
,130:132),]

Exp1$Strain<-as.factor(Exp1$Strain.ID)
Exp2$Strain<-as.factor(Exp2$Strain.ID)
Exp3$Strain<-as.factor(Exp3$Strain.ID)
```

```

ExpK$Strain<-as.factor(ExpK$Strain.ID)

Strain1$Experiment<-as.factor(Strain1$Experiment)
Strain2$Experiment<-as.factor(Strain2$Experiment)
Strain3$Experiment<-as.factor(Strain3$Experiment)
Strain4$Experiment<-as.factor(Strain4$Experiment)
Strain5$Experiment<-as.factor(Strain5$Experiment)
Strain6$Experiment<-as.factor(Strain6$Experiment)
Strain7$Experiment<-as.factor(Strain7$Experiment)
Strain8$Experiment<-as.factor(Strain8$Experiment)
Strain9$Experiment<-as.factor(Strain9$Experiment)
Strain10$Experiment<-as.factor(Strain10$Experiment)
Strain11$Experiment<-as.factor(Strain11$Experiment)

Strain11$Experiment<-as.factor(Strain11$Experiment)
Strain21$Experiment<-as.factor(Strain21$Experiment)
Strain31$Experiment<-as.factor(Strain31$Experiment)
Strain41$Experiment<-as.factor(Strain41$Experiment)
Strain51$Experiment<-as.factor(Strain51$Experiment)
Strain61$Experiment<-as.factor(Strain61$Experiment)
Strain71$Experiment<-as.factor(Strain71$Experiment)
Strain81$Experiment<-as.factor(Strain81$Experiment)
Strain91$Experiment<-as.factor(Strain91$Experiment)
Strain101$Experiment<-as.factor(Strain101$Experiment)
Strain111$Experiment<-as.factor(Strain111$Experiment)

library(dplyr)
#Sapiro-Wilk test normaaljaotusele vastavuse testimiseks
with(Exdata, shapiro.test(Max..value[Experiment == "1"]))
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Max..value[Experiment == "1"]
## W = 0.94292, p-value = 0.08262
with(Exdata, shapiro.test(Max..value[Experiment == "2"]))
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Max..value[Experiment == "2"]
## W = 0.92758, p-value = 0.02988
with(Exdata, shapiro.test(Max..value[Experiment == "3"]))
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Max..value[Experiment == "3"]
## W = 0.90997, p-value = 0.009763
with(Exdata, shapiro.test(Max..value[Experiment == "K"]))
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Max..value[Experiment == "K"]
## W = 0.84365, p-value = 0.0002476

```

```

shapiro.test(Strain1$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain1$Max..value
## W = 0.62187, p-value = 0.0001642
shapiro.test(Strain2$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain2$Max..value
## W = 0.59837, p-value = 0.000104
shapiro.test(Strain3$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain3$Max..value
## W = 0.62758, p-value = 0.000184
shapiro.test(Strain4$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain4$Max..value
## W = 0.65297, p-value = 0.000308
shapiro.test(Strain5$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain5$Max..value
## W = 0.60091, p-value = 0.0001092
shapiro.test(Strain6$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain6$Max..value
## W = 0.64149, p-value = 0.0002434
shapiro.test(Strain7$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain7$Max..value
## W = 0.63944, p-value = 0.0002335
shapiro.test(Strain8$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain8$Max..value
## W = 0.6562, p-value = 0.0003293
shapiro.test(Strain9$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##

```

```

## data: Strain9$Max..value
## W = 0.66208, p-value = 0.0003722
shapiro.test(Strain10$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain10$Max..value
## W = 0.66914, p-value = 0.0004319
shapiro.test(Strain11$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain11$Max..value
## W = 0.97815, p-value = 0.9532
shapiro.test(Strain11$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain11$Max..value
## W = 0.97815, p-value = 0.9532
shapiro.test(Strain21$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain21$Max..value
## W = 0.92301, p-value = 0.4547
shapiro.test(Strain31$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain31$Max..value
## W = 0.91662, p-value = 0.403
shapiro.test(Strain41$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain41$Max..value
## W = 0.65702, p-value = 0.0007288
shapiro.test(Strain51$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain51$Max..value
## W = 0.95477, p-value = 0.7423
shapiro.test(Strain61$Max..value)
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Strain61$Max..value
## W = 0.941, p-value = 0.5924
shapiro.test(Strain71$Max..value)

```

```

##  

## Shapiro-Wilk normality test  

##  

## data: Strain71$Max..value  

## W = 0.85335, p-value = 0.103  

shapiro.test(Strain81$Max..value)  

##  

## Shapiro-Wilk normality test  

##  

## data: Strain81$Max..value  

## W = 0.82507, p-value = 0.05274  

shapiro.test(Strain91$Max..value)  

##  

## Shapiro-Wilk normality test  

##  

## data: Strain91$Max..value  

## W = 0.79805, p-value = 0.0194  

shapiro.test(Strain101$Max..value)  

##  

## Shapiro-Wilk normality test  

##  

## data: Strain101$Max..value  

## W = 0.85475, p-value = 0.08403  

shapiro.test(Strain111$Max..value)  

##  

## Shapiro-Wilk normality test  

##  

## data: Strain111$Max..value  

## W = 0.89233, p-value = 0.2108  

#Levene`i test keskvärtuste homogeensuse testimiseks  

library(car)  

## Warning: package 'car' was built under R version 4.0.5  

## Loading required package: carData  

##  

## Attaching package: 'car'  

## The following object is masked from 'package:dplyr':  

##  

##     recode  

leveneTest(Max..value ~ Strain, data = Exp1)  

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  

##       Df F value Pr(>F)  

## group 10  0.9577 0.5042  

##       22  

leveneTest(Max..value ~ Strain, data = Exp2)  

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  

##       Df F value Pr(>F)  

## group 10  0.8767 0.5669  

##       23  

leveneTest(Max..value ~ Strain, data = Exp3)  

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  

##       Df F value Pr(>F)

```

```

## group 10 0.851 0.5882
##      22
leveneTest(Max..value ~ Strain, data = ExpK)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 10 0.9271 0.5269
##      23
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain1)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 2.8335 0.1062
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain2)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 0.9963 0.4425
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain3)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 3.4464 0.0718 .
##      8
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain4)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 0.8611 0.4995
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain5)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 0.6532 0.603
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain6)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 1.7445 0.2352
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain7)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 0.4595 0.7182
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain8)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  3 2.1134 0.1768
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain9)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)

```

```

## group 3 0.8712 0.495
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain10)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 3 1.6155 0.2609
##      8
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain11)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.3797 0.7022
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain11)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.3797 0.7022
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain21)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.8332 0.4872
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain31)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.5753 0.5958
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain41)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.7293 0.5273
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain51)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.4659 0.6485
##      6
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain61)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.5544 0.6013
##      6
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain71)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.625 0.5724
##      5
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain81)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 2 0.5088 0.6293
##      5

```

```

leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain91)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  2  0.5331 0.6122
##       6
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain101)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  2  2.0191 0.2135
##       6
leveneTest(Max..value ~ Experiment, data = Strain111)
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  2  0.1178 0.8909
##       6
#Test keskväärtuste erinevuse hindamiseks (ANOVA või Kruskal-Wallis)
#Eksperimentide vahel
res1<- aov(Max..value ~ Strain, data = Exp1)
summary(res1)
##           Df   Sum Sq   Mean Sq F value    Pr(>F)
## Strain      10 9.244e+09 924383866   7.482 4.49e-05 ***
## Residuals   22 2.718e+09 123555081
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
res2 <- kruskal.test(Max..value ~ Strain, data =Exp2)
res2
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Strain
## Kruskal-Wallis chi-squared = 31.35, df = 10, p-value = 0.0005136
res3 <- kruskal.test(Max..value ~ Strain, data =Exp3)
res3
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Strain
## Kruskal-Wallis chi-squared = 30.044, df = 10, p-value = 0.0008425
res4<-kruskal.test(Max..value ~ Strain, data =ExpK)
res4
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Strain
## Kruskal-Wallis chi-squared = 31.565, df = 10, p-value = 0.0004731
#Tüvede vahel
resSt1 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain1)
resSt1
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##

```

```

## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 8.4359, df = 3, p-value = 0.03781
resSt2 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain2)
resSt2
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 8.0769, df = 3, p-value = 0.04445
resSt3 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain3)
resSt3
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 8.4359, df = 3, p-value = 0.03781
resSt4 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain4)
resSt4
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 6.2821, df = 3, p-value = 0.09867
resSt5 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain5)
resSt5
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 7.8205, df = 3, p-value = 0.04987
resSt6 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain6)
resSt6
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 9.4615, df = 3, p-value = 0.02374
resSt7 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain7)
resSt7
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 9.6667, df = 3, p-value = 0.02162
resSt8 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain8)
resSt8
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 9.359, df = 3, p-value = 0.02488

```

```

resSt9 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain9)
resSt9
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 9.6667, df = 3, p-value = 0.02162
resSt10 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain10)
resSt10
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 9.4615, df = 3, p-value = 0.02374
resSt11 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain11)
resSt11
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 3.1389, df = 2, p-value = 0.2082
#Tüvede vahel ilma kontrollita

resSt111<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain11)
summary(resSt111)
##           Df   Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment    2 29358786 14679393   1.561  0.297
## Residuals     5 47025439  9405088
resSt211<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain21)
summary(resSt211)
##           Df   Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment    2 959815563 479907781   3.323  0.121
## Residuals     5 722103619 144420724
resSt311<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain31)
summary(resSt311)
##           Df   Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment    2 34012824 17006412   3.577  0.109
## Residuals     5 23773053  4754611
resSt411 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain41)
resSt411
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 0.22222, df = 2, p-value = 0.8948
resSt511<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain51)
summary(resSt511)
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment    2   45477   22738   1.626  0.273
## Residuals     6   83901   13983
resSt611<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain61)
summary(resSt611)

```

```

##           Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment   2 1631029  815515  5.955 0.0376 *
## Residuals    6  821610  136935
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
resSt711<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain71)
summary(resSt711)
##           Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment   2 1.218e+09 608976405  9.138 0.0214 *
## Residuals    5 3.332e+08 66642292
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
resSt811<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain81)
summary(resSt811)
##           Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment   2 8.414e+09 4.207e+09  8.65  0.0238 *
## Residuals    5 2.432e+09 4.864e+08
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
resSt911 <- kruskal.test(Max..value ~ Experiment, data =Strain91)
resSt911
##
## Kruskal-Wallis rank sum test
##
## data: Max..value by Experiment
## Kruskal-Wallis chi-squared = 5.9556, df = 2, p-value = 0.05091
resSt1011<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain101)
summary(resSt1011)
##           Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment   2 4.842e+09 2.421e+09  19.7  0.00231 **
## Residuals    6 7.372e+08 1.229e+08
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
resSt1111<- aov(Max..value ~ Experiment, data = Strain111)
summary(resSt1111)
##           Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Experiment   2 7.433e+09 3.717e+09  39.63 0.000349 ***
## Residuals    6 5.628e+08 9.380e+07
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
#Järeltestid eksperimentide vahel
#Tukey HSD
Res11PH<-TukeyHSD(res1)
Res11PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Strain, data = Exp1)
##
## $Strain
##          diff      lwr       upr     p adj
## A3A-A2B 11074.59833 -21369.6691 43518.8658 0.9729287

```

## A6-A2B	32262.78500	-181.4825	64707.0525	0.0521339
## B2A-A2B	22251.52500	-10192.7425	54695.7925	0.3807202
## B3A-A2B	-7959.90300	-40404.1705	24484.3645	0.9976664
## B3B-A2B	9717.66500	-22726.6025	42161.9325	0.9891447
## B5-A2B	-18165.20200	-50609.4695	14279.0655	0.6499535
## C2A-A2B	-1081.81500	-33526.0825	31362.4525	1.0000000
## D1A-A2B	-15829.61667	-48273.8841	16614.6508	0.7981159
## D5B-A2B	25720.16500	-6724.1025	58164.4325	0.2086389
## D6A-A2B	25639.53167	-6804.7358	58083.7991	0.2118457
## A6-A3A	21188.18667	-11256.0808	53632.4541	0.4463824
## B2A-A3A	11176.92667	-21267.3408	43621.1941	0.9712228
## B3A-A3A	-19034.50133	-51478.7688	13409.7661	0.5905979
## B3B-A3A	-1356.93333	-33801.2008	31087.3341	1.0000000
## B5-A3A	-29239.80033	-61684.0678	3204.4671	0.1022020
## C2A-A3A	-12156.41333	-44600.6808	20287.8541	0.9507649
## D1A-A3A	-26904.21500	-59348.4825	5540.0525	0.1657612
## D5B-A3A	14645.56667	-17798.7008	47089.8341	0.8603777
## D6A-A3A	14564.93333	-17879.3341	47009.2008	0.8641960
## B2A-A6	-10011.26000	-42455.5275	22433.0075	0.9865378
## B3A-A6	-40222.68800	-72666.9555	-7778.4205	0.0075833
## B3B-A6	-22545.12000	-54989.3875	9899.1475	0.3635350
## B5-A6	-50427.98700	-82872.2545	-17983.7195	0.0005723
## C2A-A6	-33344.60000	-65788.8675	-900.3325	0.0405577
## D1A-A6	-48092.40167	-80536.6691	-15648.1342	0.0010342
## D5B-A6	-6542.62000	-38986.8875	25901.6475	0.9995482
## D6A-A6	-6623.25333	-39067.5208	25821.0141	0.9994978
## B3A-B2A	-30211.42800	-62655.6955	2232.8395	0.0827429
## B3B-B2A	-12533.86000	-44978.1275	19910.4075	0.9407229
## B5-B2A	-40416.72700	-72860.9945	-7972.4595	0.0072232
## C2A-B2A	-23333.34000	-55777.6075	9110.9275	0.3196677
## D1A-B2A	-38081.14167	-70525.4091	-5636.8742	0.0129252
## D5B-B2A	3468.64000	-28975.6275	35912.9075	0.9999987
## D6A-B2A	3388.00667	-29056.2608	35832.2741	0.9999990
## B3B-B3A	17677.56800	-14766.6995	50121.8355	0.6827161
## B5-B3A	-10205.29900	-42649.5665	22238.9685	0.9845665
## C2A-B3A	6878.08800	-25566.1795	39322.3555	0.9993061
## D1A-B3A	-7869.71367	-40313.9811	24574.5538	0.9978720
## D5B-B3A	33680.06800	1235.8005	66124.3355	0.0374854
## D6A-B3A	33599.43467	1155.1672	66043.7021	0.0382034
## B5-B3B	-27882.86700	-60327.1345	4561.4005	0.1359645
## C2A-B3B	-10799.48000	-43243.7475	21644.7875	0.9771465
## D1A-B3B	-25547.28167	-57991.5491	6896.9858	0.2155605
## D5B-B3B	16002.50000	-16441.7675	48446.7675	0.7881377
## D6A-B3B	15921.86667	-16522.4008	48366.1341	0.7928171
## C2A-B5	17083.38700	-15360.8805	49527.6545	0.7216370
## D1A-B5	2335.58533	-30108.6821	34779.8528	1.0000000
## D5B-B5	43885.36700	11441.0995	76329.6345	0.0030096
## D6A-B5	43804.73367	11360.4662	76249.0011	0.0030718
## D1A-C2A	-14747.80167	-47192.0691	17696.4658	0.8554550
## D5B-C2A	26801.98000	-5642.2875	59246.2475	0.1691600
## D6A-C2A	26721.34667	-5722.9208	59165.6141	0.1718801
## D5B-D1A	41549.78167	9105.5142	73994.0491	0.0054326

```

## D6A-D1A 41469.14833 9024.8809 73913.4158 0.0055441
## D6A-D5B -80.63333 -32524.9008 32363.6341 1.0000000
#Dunn test
library(FSA)
## Warning: package 'FSA' was built under R version 4.0.5
## Registered S3 methods overwritten by 'FSA':
##   method      from
##   confint.boot car
##   hist.boot    car
##   ## FSA v0.9.1. See citation('FSA') if used in publication.
##   ## Run fishR() for related website and fishR('IFAR') for related
book.
##
## Attaching package: 'FSA'
## The following object is masked from 'package:car':
## 
##   bootCase
res2_1<-dunnTest(Max..value ~ Strain,
                    data=Exp2,
                    method="bh")
res2_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison Z P.unadj P.adj
## 1 A2B - A3A -1.8858161 0.0593197349 0.181254746
## 2 A2B - A6 -0.7379281 0.4605581692 0.603111888
## 3 A3A - A6 1.1478881 0.2510147670 0.418357945
## 4 A2B - B2A -1.1888841 0.2344852819 0.403021578
## 5 A3A - B2A 0.6969321 0.4858453176 0.621430057
## 6 A6 - B2A -0.4509560 0.6520212369 0.731860572
## 7 A2B - B3A 0.0409960 0.9672990823 0.967299082
## 8 A3A - B3A 1.9268121 0.0540030454 0.185635468
## 9 A6 - B3A 0.7789241 0.4360244508 0.599533620
## 10 B2A - B3A 1.2298801 0.2187420100 0.388090663
## 11 A2B - B3B -2.0088042 0.0445579079 0.163378995
## 12 A3A - B3B -0.1229880 0.9021165931 0.936158729
## 13 A6 - B3B -1.2708761 0.2037727318 0.386465526
## 14 B2A - B3B -0.8199201 0.4122616793 0.612821415
## 15 B3A - B3B -2.0498002 0.0403839366 0.158651179
## 16 A2B - B5 0.9429081 0.3457279263 0.543286741
## 17 A3A - B5 2.8287242 0.0046733952 0.042839456
## 18 A6 - B5 1.6808361 0.0927947494 0.212654634
## 19 B2A - B5 2.1317922 0.0330239364 0.139716654
## 20 B3A - B5 0.9019121 0.3671035802 0.560852692
## 21 B3B - B5 2.9517122 0.0031601730 0.034761903
## 22 A2B - C2A -0.7789241 0.4360244508 0.614906277
## 23 A3A - C2A 1.1068921 0.2683405891 0.434080365
## 24 A6 - C2A -0.0409960 0.9672990823 0.985212028
## 25 B2A - C2A 0.4099600 0.6818352677 0.750018794
## 26 B3A - C2A -0.8199201 0.4122616793 0.596694536
## 27 B3B - C2A 1.2298801 0.2187420100 0.401027018
## 28 B5 - C2A -1.7218321 0.0850999325 0.203499839

```

```

## 29 A2B - D1A 0.5739440 0.5660056678 0.676745907
## 30 A3A - D1A 2.4597602 0.0139029882 0.063722029
## 31 A6 - D1A 1.3118721 0.1895632931 0.372356468
## 32 B2A - D1A 1.7628281 0.0779294810 0.194823703
## 33 B3A - D1A 0.5329480 0.5940695490 0.695187770
## 34 B3B - D1A 2.5827482 0.0098016833 0.049008416
## 35 B5 - D1A -0.3689640 0.7121545377 0.768009796
## 36 C2A - D1A 1.3528681 0.1760977715 0.372514517
## 37 A2B - D5B -2.6076810 0.0091157873 0.050136830
## 38 A3A - D5B -0.5916587 0.5540791539 0.677207855
## 39 A6 - D5B -1.8188027 0.0689415382 0.189589230
## 40 B2A - D5B -1.3367104 0.1813171829 0.369349817
## 41 B3A - D5B -2.6515075 0.0080133325 0.055091661
## 42 B3B - D5B -0.4601790 0.6453877479 0.739506794
## 43 B5 - D5B -3.6156921 0.0002995463 0.016475044
## 44 C2A - D5B -1.7749761 0.0759018307 0.198790509
## 45 D1A - D5B -3.2212530 0.0012763145 0.023399098
## 46 A2B - D6A -2.6237442 0.0086969076 0.053147768
## 47 A3A - D6A -0.7379281 0.4605581692 0.617821934
## 48 A6 - D6A -1.8858161 0.0593197349 0.191916790
## 49 B2A - D6A -1.4348601 0.1513269653 0.332919324
## 50 B3A - D6A -2.6647402 0.0077047820 0.060537573
## 51 B3B - D6A -0.6149400 0.5385943148 0.673242894
## 52 B5 - D6A -3.5666523 0.0003615708 0.009943196
## 53 C2A - D6A -1.8448201 0.0650637069 0.188342309
## 54 D1A - D6A -3.1976882 0.0013853396 0.019048420
## 55 D5B - D6A -0.1972196 0.8436557178 0.892328163
res3_1<-dunnTest(Max..value ~ Strain,
                    data=Exp3,
                    method="bh")
res3_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison          Z      P.unadj      P.adj
## 1 A2B - A3A -1.90006026 0.0574252124 0.15791933
## 2 A2B - A6 -0.97114191 0.3314776166 0.52089340
## 3 A3A - A6 0.92891835 0.3529314034 0.52462776
## 4 A2B - B2A -0.67557698 0.4993092608 0.62413658
## 5 A3A - B2A 1.22448328 0.2207699710 0.40474495
## 6 A6 - B2A 0.29556493 0.7675623602 0.84431860
## 7 A2B - B3A 0.63335342 0.5265028763 0.64350352
## 8 A3A - B3A 2.53341368 0.0112957558 0.06212666
## 9 A6 - B3A 1.60449533 0.1086049133 0.25970740
## 10 B2A - B3A 1.30893040 0.1905579280 0.38817356
## 11 A2B - B3B -2.06895450 0.0385503563 0.13251685
## 12 A3A - B3B -0.16889425 0.8658798259 0.91583443
## 13 A6 - B3B -1.09781259 0.2722863313 0.45381055
## 14 B2A - B3B -1.39337752 0.1635056593 0.35971245
## 15 B3A - B3B -2.70230792 0.0068859958 0.05410425
## 16 A2B - B5 1.39337752 0.1635056593 0.37470047
## 17 A3A - B5 3.29343778 0.0009897024 0.01814454
## 18 A6 - B5 2.36451943 0.0180534802 0.09026740

```

```

## 19  B2A - B5  2.06895450 0.0385503563 0.14135131
## 20  B3A - B5  0.76002410 0.4472401776 0.58567166
## 21  B3B - B5  3.46233202 0.0005355161 0.02945338
## 22  A2B - C2A 0.12667068 0.8992010498 0.91585292
## 23  A3A - C2A 2.02673094 0.0426899363 0.13811450
## 24  A6 - C2A 1.09781259 0.2722863313 0.46799213
## 25  B2A - C2A 0.80224766 0.4224097097 0.58081335
## 26  B3A - C2A -0.50668274 0.6123774463 0.71661191
## 27  B3B - C2A 2.19562519 0.0281187820 0.11896408
## 28  B5 - C2A -1.26670684 0.2052601339 0.38928646
## 29  A2B - D1A 1.01336547 0.3108856260 0.50290322
## 30  A3A - D1A 2.91342573 0.0035748686 0.03276963
## 31  A6 - D1A 1.98450738 0.0471993062 0.14422010
## 32  B2A - D1A 1.68894245 0.0912304590 0.22807615
## 33  B3A - D1A 0.38001205 0.7039364693 0.79013277
## 34  B3B - D1A 3.08231997 0.0020539393 0.02824166
## 35  B5 - D1A -0.38001205 0.7039364693 0.80659387
## 36  C2A - D1A 0.88669479 0.3752432458 0.52918919
## 37  A2B - D5B -1.94228382 0.0521027508 0.15082375
## 38  A3A - D5B -0.04222356 0.9663204801 0.96632048
## 39  A6 - D5B -0.97114191 0.3314776166 0.50642414
## 40  B2A - D5B -1.26670684 0.2052601339 0.40318955
## 41  B3A - D5B -2.57563724 0.0100055558 0.06114506
## 42  B3B - D5B 0.12667068 0.8992010498 0.93313316
## 43  B5 - D5B -3.33566134 0.0008509676 0.02340161
## 44  C2A - D5B -2.06895450 0.0385503563 0.15144783
## 45  D1A - D5B -2.95564929 0.0031201166 0.03432128
## 46  A2B - D6A -1.18225972 0.2371026646 0.42066602
## 47  A3A - D6A 0.71780054 0.4728802793 0.60484687
## 48  A6 - D6A -0.21111781 0.8327953459 0.89811263
## 49  B2A - D6A -0.50668274 0.6123774463 0.73219042
## 50  B3A - D6A -1.81561313 0.0694297373 0.18183979
## 51  B3B - D6A 0.88669479 0.3752432458 0.54311522
## 52  B5 - D6A -2.57563724 0.0100055558 0.06878820
## 53  C2A - D6A -1.30893040 0.1905579280 0.40310331
## 54  D1A - D6A -2.19562519 0.0281187820 0.12887775
## 55  D5B - D6A 0.76002410 0.4472401776 0.59995634
res4_1<-dunnTest(Max..value ~ Strain,
                     data=ExpK,
                     method="bh")
res4_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison          Z      P.unadj      P.adj
## 1  A2B - A3A -1.51685211 0.1293040260 0.284468857
## 2  A2B - A6 -0.86091606 0.3892842731 0.535265876
## 3  A3A - A6 0.65593605 0.5118652721 0.639831590
## 4  A2B - B2A -2.54175219 0.0110298343 0.060664089
## 5  A3A - B2A -1.02490008 0.3054103382 0.479930532
## 6  A6 - B2A -1.68083613 0.0927947494 0.243033867
## 7  A2B - B3A 0.12298801 0.9021165931 0.918822456
## 8  A3A - B3A 1.63984012 0.1010384132 0.252596033

```

```

## 9   A6 - B3A  0.98390407 0.3251626804 0.483349930
## 10  B2A - B3A  2.66474020 0.0077047820 0.070627169
## 11  A2B - B3B -1.31187210 0.1895632931 0.359516590
## 12  A3A - B3B  0.20498002 0.8375877389 0.885910108
## 13  A6 - B3B -0.45095603 0.6520212369 0.731860572
## 14  B2A - B3B  1.22988009 0.2187420100 0.401027018
## 15  B3A - B3B -1.43486011 0.1513269653 0.320114734
## 16  A2B - B5   1.10689208 0.2683405891 0.434080365
## 17  A3A - B5   2.62374420 0.0086969076 0.059791240
## 18   A6 - B5   1.96780815 0.0490901163 0.142102968
## 19  B2A - B5   3.64864427 0.0002636278 0.014499531
## 20  B3A - B5   0.98390407 0.3251626804 0.496776317
## 21  B3B - B5   2.41876418 0.0155733325 0.061180949
## 22  A2B - C2A -0.19721957 0.8436557178 0.875491783
## 23  A3A - C2A  1.42436355 0.1543412597 0.314398862
## 24   A6 - C2A  0.72313842 0.4695948484 0.629944309
## 25  B2A - C2A  2.52002782 0.0117345559 0.058672780
## 26  B3A - C2A -0.32869928 0.7423829979 0.800609115
## 27  B3B - C2A  1.20523070 0.2281142552 0.404718840
## 28   B5 - C2A -1.38053698 0.1674213718 0.328863409
## 29  A2B - D1A  0.65593605 0.5118652721 0.654711395
## 30  A3A - D1A  2.17278816 0.0297962646 0.109252970
## 31   A6 - D1A  1.51685211 0.1293040260 0.296321726
## 32  B2A - D1A  3.19768824 0.0013853396 0.025397893
## 33  B3A - D1A  0.53294804 0.5940695490 0.710300548
## 34  B3B - D1A  1.96780815 0.0490901163 0.149997578
## 35   B5 - D1A -0.45095603 0.6520212369 0.717223361
## 36   C2A - D1A  0.89844470 0.3689485140 0.520312007
## 37  A2B - D5B -2.00880415 0.0445579079 0.144157937
## 38  A3A - D5B -0.49195204 0.6227532504 0.728753804
## 39   A6 - D5B -1.14788809 0.2510147670 0.418357945
## 40  B2A - D5B  0.53294804 0.5940695490 0.726085004
## 41  B3A - D5B -2.13179216 0.0330239364 0.113519781
## 42  B3B - D5B -0.69693205 0.4858453176 0.636226011
## 43   B5 - D5B -3.11569623 0.0018351120 0.020186232
## 44   C2A - D5B -1.95028240 0.0511424692 0.140641790
## 45   D1A - D5B -2.66474020 0.0077047820 0.060537573
## 46  A2B - D6A -2.45976019 0.0139029882 0.063722029
## 47  A3A - D6A -0.94290807 0.3457279263 0.500395683
## 48   A6 - D6A -1.59884412 0.1098552429 0.262697320
## 49  B2A - D6A  0.08199201 0.9346530702 0.934653070
## 50  B3A - D6A -2.58274819 0.0098016833 0.059899175
## 51  B3B - D6A -1.14788809 0.2510147670 0.431431631
## 52   B5 - D6A -3.56665227 0.0003615708 0.009943196
## 53   C2A - D6A -2.43237468 0.0150001814 0.063462306
## 54   D1A - D6A -3.11569623 0.0018351120 0.025232790
## 55   D5B - D6A -0.45095603 0.6520212369 0.747107667

#Järeltestid tüvedega
library(FSA)
res1_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                    data=Strain1,

```

```

method="bh")
res1_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison Z P.unadj P.adj
## 1 1 - 2 0.9058216 0.365030272 0.43803633
## 2 1 - 3 1.4719601 0.141031641 0.28206328
## 3 2 - 3 0.5661385 0.571299621 0.57129962
## 4 1 - K -1.2455047 0.212946275 0.31941941
## 5 2 - K -2.1513264 0.031450449 0.09435135
## 6 3 - K -2.7174649 0.006578414 0.03947048
res2_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain2,
                   method="bh")
res2_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison Z P.unadj P.adj
## 1 1 - 2 -0.6793662 0.496905848 0.49690585
## 2 1 - 3 0.6793662 0.496905848 0.59628702
## 3 2 - 3 1.3587324 0.174231388 0.26134708
## 4 1 - K -2.0380987 0.041540067 0.12462020
## 5 2 - K -1.3587324 0.174231388 0.34846278
## 6 3 - K -2.7174649 0.006578414 0.03947048
res3_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain3,
                   method="bh")
res3_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison Z P.unadj P.adj
## 1 1 - 2 -0.9058216 0.365030272 0.43803633
## 2 1 - 3 0.5661385 0.571299621 0.57129962
## 3 2 - 3 1.4719601 0.141031641 0.28206328
## 4 1 - K -2.1513264 0.031450449 0.09435135
## 5 2 - K -1.2455047 0.212946275 0.31941941
## 6 3 - K -2.7174649 0.006578414 0.03947048
res4_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain4,
                   method="bh")
res4_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison Z P.unadj P.adj
## 1 1 - 2 -0.2264554 0.82084724 1.0000000
## 2 1 - 3 -0.1132277 0.90985003 0.9098500
## 3 2 - 3 0.1132277 0.90985003 1.0000000
## 4 1 - K -2.1513264 0.03145045 0.1887027
## 5 2 - K -1.9248710 0.05424550 0.1084910
## 6 3 - K -2.0380987 0.04154007 0.1246202
res5_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain5,

```

```

method="bh")
res5_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z      P.unadj      P.adj
## 1    1 - 2  0.4529108  0.650612964  0.65061296
## 2    1 - 3  1.2455047  0.212946275  0.31941941
## 3    2 - 3  0.7925939  0.428014450  0.51361734
## 4    1 - K -1.4719601  0.141031641  0.28206328
## 5    2 - K -1.9248710  0.054245504  0.16273651
## 6    3 - K -2.7174649  0.006578414  0.03947048
res6_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain6,
                   method="bh")
res6_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z      P.unadj      P.adj
## 1    1 - 2 -0.3396831  0.734095182  0.73409518
## 2    1 - 3  1.3587324  0.174231388  0.20907767
## 3    2 - 3  1.6984156  0.089429359  0.17885872
## 4    1 - K -1.6984156  0.089429359  0.26828808
## 5    2 - K -1.3587324  0.174231388  0.26134708
## 6    3 - K -3.0571480  0.002234539  0.01340724
res7_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain7,
                   method="bh")
res7_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z      P.unadj      P.adj
## 1    1 - 2 -1.2455047  0.212946275  0.31941941
## 2    1 - 3  0.5661385  0.571299621  0.57129962
## 3    2 - 3  1.8116433  0.070041337  0.14008267
## 4    1 - K -2.2645541  0.023540058  0.07062017
## 5    2 - K -1.0190493  0.308179547  0.36981546
## 6    3 - K -2.8306926  0.004644734  0.02786840
res8_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain8,
                   method="bh")
res8_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z      P.unadj      P.adj
## 1    1 - 2 -1.4719601  0.141031641  0.21154746
## 2    1 - 3  0.1132277  0.909850033  0.90985003
## 3    2 - 3  1.5851878  0.112923661  0.22584732
## 4    1 - K -2.4910095  0.012738072  0.03821422
## 5    2 - K -1.0190493  0.308179547  0.36981546
## 6    3 - K -2.6042372  0.009207901  0.05524741
res9_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                   data=Strain9,

```

```

        method="bh")
res9_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
##   p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
##   Comparison      Z     P.unadj     P.adj
## 1    1 - 2 -1.8116433 0.070041337 0.14008267
## 2    1 - 3 -1.2455047 0.212946275 0.25553553
## 3    2 - 3  0.5661385 0.571299621 0.57129962
## 4    1 - K -3.0571480 0.002234539 0.01340724
## 5    2 - K -1.2455047 0.212946275 0.31941941
## 6    3 - K -1.8116433 0.070041337 0.21012401
res10_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                     data=Strain10,
                     method="bh")
res10_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
##   p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
##   Comparison      Z     P.unadj     P.adj
## 1    1 - 2 -1.6984156 0.089429359 0.17885872
## 2    1 - 3 -1.3587324 0.174231388 0.20907767
## 3    2 - 3  0.3396831 0.734095182 0.73409518
## 4    1 - K -3.0571480 0.002234539 0.01340724
## 5    2 - K -1.3587324 0.174231388 0.26134708
## 6    3 - K -1.6984156 0.089429359 0.26828808
res11_1<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                     data=Strain11,
                     method="bh")
res11_1
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
##   p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
##   Comparison      Z     P.unadj     P.adj
## 1    1 - 2  1.1666667 0.2433450 0.3650175
## 2    1 - 3  1.7143188 0.0864702 0.2594106
## 3    2 - 3  0.6708204 0.5023350 0.5023350
#Järeltestid tüvede vahel ilma kontrollita
ResSt111PH<-TukeyHSD(resSt111)
ResSt111PH
##   Tukey multiple comparisons of means
##     95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain11)
##
## $Experiment
##           diff      lwr      upr     p adj
## 2-1 -3493.840 -11641.66 4653.981 0.4106152
## 3-1 -4460.885 -13570.43 4648.656 0.3304099
## 3-2 -967.045 -10076.59 8142.496 0.9371502
ResSt211PH<-TukeyHSD(resSt211)
ResSt211PH
##   Tukey multiple comparisons of means
##     95% family-wise confidence level
##
```

```

## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain21)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1 12124.91 -19803.32 44053.136 0.4850517
## 3-1 -16138.08 -51834.93 19558.766 0.3783160
## 3-2 -28262.99 -63959.83 7433.859 0.1061423
ResSt311PH<-TukeyHSD(resSt311)
ResSt311PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain31)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1 3121.932 -2671.255 8915.119 0.2755778
## 3-1 -2034.692 -8511.672 4442.288 0.5961581
## 3-2 -5156.624 -11633.604 1320.356 0.1044171
res4_11<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                     data=Strain41,
                     method="bh")
res4_11
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z   P.unadj   P.adj
## 1     1 - 2 -0.3333333 0.7388827 1.0000000
## 2     1 - 3  0.1490712 0.8814975 0.8814975
## 3     2 - 3  0.4472136 0.6547208 1.0000000
ResSt511PH<-TukeyHSD(resSt511)
ResSt511PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain51)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1 -104.17400 -400.4227 192.0747 0.5597850
## 3-1 -172.91467 -469.1633 123.3340 0.2505652
## 3-2  -68.74067 -364.9893 227.5080 0.7657763
ResSt61PH<-TukeyHSD(resSt611)
ResSt61PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain61)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1  251.2233 -675.8324 1178.27896 0.6989037

```

```

## 3-1 -750.8471 -1677.9028 176.20863 0.1040377
## 3-2 -1002.0703 -1929.1260 -75.01464 0.0369579
ResSt71PH<-TukeyHSD(resSt711)
ResSt71PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain71)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1  22949.50   1260.724 44638.276 0.0409329
## 3-1  -5415.75  -29664.538 18833.038 0.7595177
## 3-2  -28365.25  -52614.038 -4116.462 0.0282522
ResSt81PH<-TukeyHSD(resSt811)
ResSt81PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain81)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1  66553.027   7961.24 125144.813 0.0315576
## 3-1  -1075.477  -66583.09  64432.132 0.9984283
## 3-2  -67628.503 -133136.11  -2120.894 0.0447008
res9_11<-dunnTest(Max..value ~ Experiment,
                     data=Strain91,
                     method="bh")
res9_11
## Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison
## p-values adjusted with the Benjamini-Hochberg method.
## Comparison      Z     P.unadj     P.adj
## 1     1 - 2 -2.385139 0.01707266 0.05121798
## 2     1 - 3 -1.639783 0.10105026 0.15157538
## 3     2 - 3  0.745356 0.45605654 0.45605654
ResSt101PH<-TukeyHSD(resSt1011)
ResSt101PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain101)
##
## $Experiment
##      diff      lwr      upr     p adj
## 2-1  54637.50  26868.33 82406.67 0.0022634
## 3-1  40813.39  13044.22 68582.56 0.0096582
## 3-2 -13824.11 -41593.28 13945.06 0.3442335
ResSt111PH<-TukeyHSD(resSt1111)
ResSt111PH
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level

```

```
##  
## Fit: aov(formula = Max..value ~ Experiment, data = Strain111)  
##  
## $Experiment  
##          diff      lwr      upr      p adj  
## 2-1  68827.32  44564.647  93089.99 0.0003121  
## 3-1  21613.41 -2649.263  45876.08 0.0759359  
## 3-2 -47213.91 -71476.583 -22951.24 0.0023972
```

#### **Lisa 4. Paariviisilise statistilise analüüs tulemus kõikide tüvede vahel**

Paariviisilise statistilise analüüs tulemus tüvede vahel erinevate toitainete kontsentratsioonidega eksperimentides. Tulemused kajastavad p värtust peale Benjamini-Hochbergi korrektsooni. Statistikiliselt olulised ( $p < 0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedamas kirjas

##### **Eksperiment 1**

Tüvi	A2B	B2A	B3A	A6	B5	D1A	C2A	D6A	A3A	B3B	D5B
<b>A2B</b>	0.38	1.00	0.05	0.65	0.80	1.00	0.21	0.97	0.99	0.99	0.21
<b>B2A</b>		0.08	0.99	<b>0.01</b>	<b>0.01</b>	0.32	1.00	0.97	0.36	1.00	
<b>B3A</b>			<b>0.01</b>	0.98	0.99	0.99	<b>0.04</b>	0.59	0.94	<b>0.04</b>	
<b>A6</b>				<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.04</b>	1.00	0.45	0.36	1.00	
<b>B5</b>					1.00	0.72	<b>0.00</b>	0.10	0.14	<b>0.00</b>	
<b>D1A</b>						0.86	<b>0.01</b>	0.16	0.21	<b>0.01</b>	
<b>C2A</b>							0.17	0.95	0.98	0.86	
<b>D6A</b>								0.86	0.79	1.00	
<b>A3A</b>									1.00	0.86	
<b>B3B</b>										0.79	
<b>D5B</b>											

##### **Eksperiment 2**

Tüvi	A2B	B2A	B3A	A6	B5	D1A	C2A	D6A	A3A	B3B	D5B
<b>A2B</b>	0.40	0.97	0.60	0.54	0.68	0.61	0.05	0.18	0.16	0.05	
<b>B2A</b>		0.39	0.73	0.14	0.19	0.75	0.33	0.62	0.61	0.37	
<b>B3A</b>			0.60	0.56	0.69	0.60	0.06	0.18	0.16	0.06	
<b>A6</b>				0.21	0.37	0.98	0.19	0.42	0.39	0.19	
<b>B5</b>					0.77	0.20	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>	<b>0.02</b>	
<b>D1A</b>						0.37	<b>0.02</b>	0.06	<b>0.05</b>	<b>0.02</b>	
<b>C2A</b>							<b>0.19</b>	0.43	0.4	0.89	
<b>D6A</b>								0.62	0.67	0.89	
<b>A3A</b>									0.94	0.68	
<b>B3B</b>										0.74	
<b>D5B</b>											

##### **Eksperiment 3**

Tüvi	A2B	B2A	B3A	A6	B5	D1A	C2A	D6A	A3A	B3B	D5B
<b>A2B</b>	0.62	0.64	0.52	0.37	0.50	0.91	0.42	0.16	0.13	0.15	
<b>B2A</b>		0.39	0.84	0.14	0.23	0.58	0.73	0.4	0.36	0.4	
<b>B3A</b>			0.26	0.58	0.79	0.72	0.18	0.06	0.05	0.06	
<b>A6</b>				0.09	0.14	0.47	0.90	0.52	0.45	0.51	
<b>B5</b>					0.81	0.39	0.07	<b>0.02</b>	<b>0.03</b>	<b>0.02</b>	
<b>D1A</b>						0.53	0.13	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	
<b>C2A</b>							0.40	0.14	0.12	0.15	
<b>D6A</b>								0.6	0.54	0.6	
<b>A3A</b>									0.91	0.97	
<b>B3B</b>										0.93	
<b>D5B</b>											

##### **Kontroll**

Tüvi	A2B	B2A	B3A	A6	B5	D1A	C2A	D6A	A3A	B3B	D5B
<b>A2B</b>	0.06	0.92	0.53	0.43	0.65	0.87	0.06	0.28	0.36	0.14	
<b>B2A</b>		0.07	0.24	<b>0.01</b>	<b>0.03</b>	0.06	0.93	0.48	0.4	0.73	
<b>B3A</b>			0.48	0.49	0.71	0.80	0.06	0.25	0.32	0.11	
<b>A6</b>				0.14	0.30	0.63	0.26	0.64	0.73	0.42	
<b>B5</b>					0.72	0.33	<b>0.01</b>	0.06	0.06	<b>0.02</b>	
<b>D1A</b>						0.52	<b>0.03</b>	0.11	0.15	0.06	
<b>C2A</b>							0.06	0.31	0.4	0.14	
<b>D6A</b>								0.5	0.43	0.75	
<b>A3A</b>									0.88	0.73	
<b>B3B</b>										0.64	
<b>D5B</b>											

## **Lisa 5. Paariviisilise statistilise analüüsni tulemus samade tüvede vahel**

Paariviisilise statistilise analüüsni tulemus tüvede vahel erinevate toitainete kontsentratsioonidega eksperimentides. Tulemused kajastavad p värtust peale Benjamini-Hochbergi korrektsooni. Statistikiliselt olulised ( $p < 0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedamas kirjas

### **Tüvi: A2B**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.44	0.28	0.32
2			0.57	0.09
3				<b>0.04</b>
<b>Kontroll</b>				

### **Tüvi: B2A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.50	0.60	0.12
2			0.26	0.35
3				<b>0.04</b>
<b>Kontroll</b>				

### **Tüvi B3A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.44	0.57	0.09
2			0.28	0.32
3				<b>0.04</b>
<b>Kontroll</b>				

### **Tüvi B5**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.65	0.32	0.28
2			0.51	0.16
3				<b>0.04</b>
<b>Kontroll</b>				

### **Tüvi D1A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.73	0.21	0.07
2			0.14	0.37
3				<b>0.03</b>
<b>Kontroll</b>				

**Tüvi C2A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.32	0.57	0.07
2			0.14	0.37
3				<b>0.03</b>
<b>Kontroll</b>				

**Tüvi D6A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.21	0.91	<b>0.04</b>
2			0.22	0.37
3				<b>0.06</b>
<b>Kontroll</b>				

**Tüvi A3A**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.14	0.26	<b>0.01</b>
2			0.57	0.31
3				0.21
<b>Kontroll</b>				

**Tüvi B3B**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.18	0.21	<b>0.01</b>
2			0.73	0.26
3				0.27
<b>Kontroll</b>				

**Tüvi D5B**

Eksperiment	1	2	3	Kontroll
1		0.08	0.31	<b>0.01</b>
2			0.37	0.46
3				0.12
<b>Kontroll</b>				

## **Lisa 6. Paariviisilise statistilise analüüs tulemus samade tüvede vahel ilma kontrollita**

Paariviisilise statistilise analüüs tulemus tüvede vahel erinevate toitainete kontsentratsioonidega eksperimentides. Tulemused kajastavad p värtust peale Benjamini-Hochbergi korrektsooni. Statistiliselt olulised ( $p < 0.05$ ) tulemused on välja toodud tumedas kirjas

### **Tüvi D1A**

<b>Eksperiment</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1		0.70	0.10
2			<b>0.04</b>
3			
<b>Kontroll</b>			

### **Tüvi C2A**

<b>Eksperiment</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1		<b>0.04</b>	0.76
2			<b>0.03</b>
3			
<b>Kontroll</b>			

### **Tüvi D6A**

<b>Eksperiment</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1		<b>0.03</b>	1.00
2			<b>0.04</b>
3			
<b>Kontroll</b>			

### **Tüvi B3B**

<b>Eksperiment</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1		<b>0.00</b>	<b>0.01</b>
2			0.34
3			
<b>Kontroll</b>			

### **Tüvi D5B**

<b>Eksperiment</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1		<b>0.00</b>	0.07
2			<b>0.00</b>
3			
<b>Kontroll</b>			

**Lihtlitsents lõputöö reproduutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks<sup>1</sup>**

Mina Evelyn Pil,

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Inimtegevuse mõju ränivetikate kasvule Läänemeres

mille juhendaja on Sirje Sildever,

1.1 reproduutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäädavad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

---

1.06.2022

---

<sup>1</sup> Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reproduutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaks määratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reproduutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2., siis lihtlitsents nimetatud tähtaaja jooksul ei kehti.