

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT
TEHNOLOOGIAINSTITUUT

**Põhja- ja Baltimaade nisuliinide õhulõhede tundlikkus õhu niiskusevajakule ning
abstsessi suhtes**

Magistritöö

30 EAP

Kristo Ets

Juhendajad: Ebe Merilo, PhD

Egon Meigas, MSc

Tartu 2022

Infoleht

Põhja- ja Baltimaade nisuliinide õhulõhede tundlikkus õhu niiskussvajaku ning abstsiiishappe suhtes

Sordiaretuses on oluline aretada teraviljasorte, mis on kliimamuutuste taustal saagikamad ning suudavad efektiivsemalt kasutada ressursse. Kliima soojenedes langeb suhteline õhuniiskus ja tõuseb õhu niiskussvajak (VPD), mistõttu kasvab taimede transpiratsioon ning suureneb veekadu õhulõhede kaudu. Taimed reguleerivad õhulõhede avatust vastavalt VPD-le: VPD kasvades õhulõhed üldiselt sulguvad, et vältida liigset veekadu. VPD toimelise õhulõhede sulgumise regulatsioonis osaleb taime stressihormoon abstsiiishape (ABA). Käesolevas töös uurisin õhulõhede regulatsiooni 16-l suvinisu sordil. Leidsin, et 1) sortide basaalne õhulõhede juhtivus ning õhulõhede tundlikkus VPD tõusu ja ABA-ga pritsimise suhtes oli väga varieeruv. Tuvastasid mõned selgelt anisohüdrilised sordid, mis ei sulgenud õhulõhesid ei VPD tõusu ega ABA mõjul; 2) kõrgema juhtivusega sortide õhulõhed sulgusid nii VPD kui ka ABA toimel ulatuslikumalt; 3) õhulõhede ABA ja VPD-vastuste ulatused olid positiivses korrelatsioonis. Sortide saagiandmed Eesti Taimekasvatuse Instituudi põldudel näitasid, et 2021 a. kuival ja kuumal suvel olid kõige saagikamad sordid, mille õhulõhede basaalne juhtivus oli madalam ning VPD-tundlikkus statistiliselt olematu.

Märksõnad: abstsiiishape, nisu, õhu niiskussvajak, õhulõhed, õhulõhede juhtivus

CERCS: B310 Soontaimede füsioloogia

Stomatal sensitivity to vapour pressure deficit and abscisic acid in Nordic wheat genotypes

It is essential to develop higher-yielding crops that can cope with changing climate and that are more efficient in using resources. As climate gets warmer, relative air humidity decreases and air vapour pressure deficit (VPD) increases. Therefore, the evaporative demand rises and plants start to lose more water through transpiration. Plants usually decrease the opening of the stomatal aperture in high VPD conditions to minimize the water loss. Stomatal closure in high VPD is partly dependent on plant stress hormone abscisic acid (ABA). In this study, 16 different spring wheat cultivars were used to examine their stomatal sensitivity to VPD and ABA. I found, that 1) there is a great variation in stomatal conductance (gs) among different cultivars and identified anisohydric cultivars that did not close their stomata in response to ABA treatment or rising VPD; 2) cultivars with higher gs were more sensitive to VPD and ABA; 3) there was a strong positive correlation between stomatal sensitivities to ABA or VPD. As the temperature was higher than average and precipitation low in 2021 summer, the highest yields in the fields of Estonian Crop Research institute were measured for the cultivars that had lower gs values and statistically negligible sensitivity to VPD.

Keywords: abscisic acid, stomata, stomatal conductance, vapour pressure deficit, wheat

CERCS: B310 Physiology of vascular plants

Sisukord

Infoleht.....	2
Kasutatud lühendid.....	4
Sissejuhatus.....	5
1 Kirjanduse	ülevaade
.....	6
1.1 Nisu põllumajanduslik olulisus.....	6
1.2 Õhulõhed.....	7
1.3 Õhulõhede regulatsioon	9
1.3.1 Õhulõhede regulatsioon õhuniiskuse toimetel.....	9
1.3.2 Õhulõhede regulatsioon abstsiihappe toimetel	10
2.....	EKSPERIMENTAALOSA
.....	14
2.1 Töö eesmärgid.....	14
2.2 Materjal ja meetodika	15
2.2.1 Taimede kasvatamine	15
2.2.2 Aparatuur	15
2.2.3 Katsete kirjeldus	16
2.2.4 Andmeanalüüs	17
2.3 Tulemused.....	18
2.3.1 Nisusortide õhulõhede tundlikkus VPD-le	18
2.3.2 Nisusortide tundlikkus abstsiihappele.....	21
2.4 Arutelu	26
Kokkuvõte.....	31
Summary.....	32
Tänuavaldused	33
Kasutatud kirjandus	34
Kasutatud veebiaadressid.....	44
Lisad	45
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks	46

Kasutatud lühendid

ABA – abstsiihape

ABA-GE - taimelehtedes olev inaktiivne ABA-konjugaat glükoosiga

CPK - CALCIUM DEPENDENT PROTEIN KINASE

ETKI – Eesti Taimekasvatuse Instituut

gs - taimelehtede õhulõhede juhtivus. Näitab taimelehest ajaühikus väljuva veeauru hulka lehe pindalaühiku kohta ($\text{mmol}^{-2}\text{s}^{-1}$).

OST1 - OPEN STOMATA 1

PP2C - PROTEIN PHOSPHATASE 2C, 2C tüüpi fosfataas

PPFD – fotosünteetiliselt aktiivne kiirgus

PYR/PYL/RCAR - PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR

QUAC1 – QUICK-ACTIVATING ANION CHANNEL 1

SLAC1 – SLOW ANION CHANNEL 1

SnRK2 – SNF1-RELATED KINASE 2s

VPD – ingl. k *vapour pressure deficit*, õhu niiskusevajak. Vahe õhu tegeliku veeauru rõhu ja antud temperatuuril küllastunud veeauru rõhu vahel, mis kajastab atmosfääri põuaolekut

Sissejuhatus

Taimelehtede pindmises kihis (epidermis) asuvad õhulõhed: mikroavakesed, mille kaudu toimub gaasivahetus ümbritseva keskkonnaga. Õhulõhede kaudu siseneb fotosünteesiks vajalik CO₂ ja väljub veeaur. Õhulõhe moodustavad kaks sulgrakku, mille vahele jääb avaus. Muutuvas keskkonnas on taimed võimelised õhulõhede avatust reguleerima – kui õhuniiskus langeb, sulguvad ka õhulõhed. Sama toimub mitmete teiste abiootilise keskkonna faktorite muutumisel.

Muutuvas kliimas on järjest olulisemaks saanud õhulõhede regulatsiooni uurimine, kuna sellest sõltub taime veekasutuse ja CO₂ omastamise efektiivsus ning seetõttu ka saagikus. Saak moodustub aja jooksul lehestikus assimileeritud süsinikust, mis omastatakse õhulõhede kaudu. Kliima soojenemisel muutub suhteline õhuniiskus järjest väiksemaks, sest kõrgemal temperatuuril mahub õhku rohkem veeauru. Selle mõjul suureneb ka õhu niiskusvajak (VPD, ingl k. *vapour pressure deficit*): vahe õhu tegeliku ja küllastunud veeauru kontsentratsiooni vahel. Uurides, kuidas taimed reageerivad VPD-le, on võimalik aretada sorte, mis on antud muutusteks ette valmistatud.

VPD-st sõltuv õhulõhede sulgumine on vähemalt osaliselt reguleeritud abtsiishappe (ABA) poolt. ABA on taime stressihormoon, mida sünteesitakse mitmete protsesside juures, k.a õhuniiskuse languse puhul. ABA-st sõltuvat õhulõhede sulgumist on palju uuritud, kuid on veel lünki, mida on vaja täiendada. Siiani on tehtud palju katseid mudelorganismidega (*Arabidopsis thaliana*), kuid vähem on katseid põllumajanduslikult oluliste taimedega. Vähesed katsed, mida põllumajanduslikult oluliste taimedega on tehtud, on enamasti toimunud kontrollitud laboritingimustes.

Antud töö eesmärgiks oli uurida ja võrrelda laboratoorse gaasivahetusaparatuuriga õhulõhede basaalselt juhtivust ning õhulõhede vastuseid VPD muutusele ja ABA-le põllumajanduslikult ühel olulisemal teraviljal, nisul. Töö käigus uurisin, kuidas reageerivad nisusortide õhulõhed antud stiimulitele eraldi ja kuidas ABA indutseerib õhulõhede sulgumist madala ja kõrge VPD tingimustes. Laboris tehtud katsete põhjal valiti välja sordid, mille gaasivahetust põhjalikult uurida Eesti Taimekasvatuse instituudi poolt läbiviidud põllukatsetes NOBALwheat projekti raames.

Töö teostati Tartu Ülikooli Tehnoloogiainstituudi Taimsete signaalide uurimisrühmas.

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 Nisu põllumajanduslik olulisus

Nisu on üks vanimaid teraviljasid, mida inimesed kasvatavad. Põllukultuuridest oli nisu 2020. aastal Euroopas tootmiselt esimesel kohal (kokku 255 miljonit tonni) ning maailmas maisi järel teine (760 miljonit tonni; FAOSTAT, 2020). On ennustatud, et aastaks 2050 on vaja maailma toiduvajaduse katmiseks nisutootangut tõsta 840 miljoni tonnini. See ei tundu esialgu väga suur muutus, ent arvestada tuleb nisu saagitõusu pidurdumisega, kliimamuutustega ning ka keskkonnasäästlikkuse aspektidega (Sharma jt., 2015). Näiteks on oluline piirata põhjavee kasutamist nisupõldude kastmiseks (Zhang jt., 2003, Mei jt., 2013). Euroopas on nisu saagikuse kasv pidurdunud või isegi piirkonniti pööranud langustrendi (Ray jt., 2012). Seega on nisufüsioloogia fundamentaalne uurimine oluline, et saavutada jätkusuutlik tootmine ka tulevikus. Tavapärane sordiaretus ei ole enam piisav, et saavutada vajalikku saagikuse kasvu (Pardo, 2010). Üheks potentsiaalseks saagikuse tõstmise võimaluseks on pakutud gaasivahetustunnuste optimeerimist (Faralli ja Lawson, 2020), mis näitab antud töös ettevõetud uuringu olulisust.

Ennustatakse, et globaalne temperatuur tõuseb sajandi lõpuks keskmiselt 1.5-6°C, mis mõjutab teraviljade kasvu ja saagikust (Asseng 2015). Nisu on kõrge temperatuuri suhtes üks tundlikumaid teraviljasid. Kõige tundlikumad arengustaadiumid on tolmlemine ja terade täitumise periood (Wollenweber jt., 2003).

Kuumastressi mõjude uurimise teeb keerukaks see, et kõrge temperatuur käib käsikäes mitmete teiste stressidega. Kõrgel temperatuuril on taimedele nii otsene mõju kui ka mõju läbi õhu niiskusevajaku (VPD) tõusu. VPD on õhu tegeliku veeauru kontsentratsiooni ja antud temperatuuril küllastunud veeauru kontsentratsiooni vahe. VPD kajastab atmosfääri põuaolekut, mille tõusuga kaasneb transpiratsiooni tõus taimedel (Jalakas jt., 2021). Kuumastressiga kaasnev VPD tõus ei tõsta kõrgeenenud transpiratsiooni tõttu mitte ainult taime veekadu, vaid vähendab ka mulla veesisaldust (Lobell jt., 2013).

Taime stressivastuses on oluline õhulõhede regulatsioon. Õhulõhede kaudu toimub taimedes gaasivahetus: väljub veeaur ja hapnik ning siseneb fotosünteesis kasutatav CO₂. Kuivemas keskkonnas tõmbuvad õhulõhed kokku, piirates veekadu taimelehe kaudu, ent samas piiratakse ka CO₂ sisenemist. Teraviljasortide vahel esineb varieeruvus õhulõhede vastustes õhu kuivusele, millega kaasnevad erinevused veekasutuse efektiivsuses. (Schoppach ja Sadok, 2012). Efektiivsus väljendub CO₂ omastamise ja transpiratsiooni teel väljuva vee suhtes.

Taimede õhulõhede juhtivus (g_s) näitab ajaühikus lehest väljuva veeauru hulka lehe pindalaühiku kohta ($mmol\ m^{-2}s^{-1}$). Taimede õhulõhede juhtivuse väärtus sõltub nii õhulõhede avatusest kui ka õhulõhede tihedusest (Jalakas jt., 2018). Katsetes, kus mõõdeti ajalooliste nisusortide õhulõhede juhtivust, leiti, et viimase 50 aasta jooksul on traditsioonilise sordiaretusega kaasnenud õhulõhede juhtivuse tõus (Roche, 2015). See kasv on saavutatud juhuslikult, valides uusi sorte teiste tunnuste järgi (näiteks saagikus).

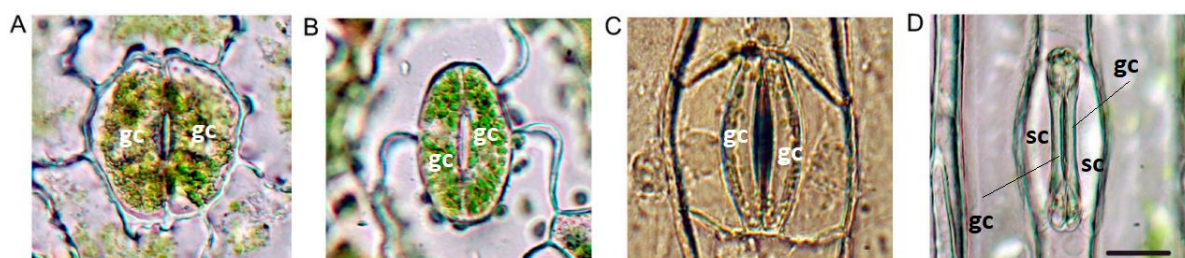
Katsetes perioodil 1962-1988 introductseeritud nisusortidega leiti, et lisaks saagikusele olid uuematel sortidel muutunud ka füsioloogilised tunnused. Näiteks uuematel sortidel oli kasvanud maksimaalne fotosünteesi kiirus. Kiirem gaasivahetus tagas ka parema lehestiku jahutamise õhutamperatuuriga võrreldes (Fischer jt., 1998). Tugevaim positiivne korrelatsioon oli aga terasaagi ning g_s väärtuste vahel. Sellest tulenevalt pakuti, et juhtivuste väärtused ning termograafiliselt mõõdetav lehestiku jahutamine võiks leida tulevikus kasutamist liinide selektsioonis kaudse saagiindikaatorina (Fischer jt., 1998).

Sageli pole seoseid gaasivahetustunnuste (g_s , netofotosünteesi kiirus) ja terasaagi vahel katsetes siiski leitud (Driever jt., 2014, Jalakas jt., 2018). Fischer jt. (1998) pakkusid, et terasaagi tugev positiivne korrelatsioon õhulõhede juhtivusega võib olla seotud sellega, et uuemate ja saagikamate sortide õhulõhed on vähem tundlikud mõõduka VPD tõusu suhtes. Oluline võib olla ka parem lehtede jahutamine kuumastressis. Mõistmaks, millistes tingimustes ja miks g_s väärtused saagiga korreleeruvad, on vaja teha veel täiendavaid uuringuid, nii põllul kui laboris. Laboris kontrollitud tingimustes tehtud katsed aitavad selgitada varieeruvuse ulatust nii õhulõhede basaalses juhtivuses kui ka õhulõhede tundlikkuses keskkonnafaktorite suhtes.

1.2 Õhulõhed

Õhulõhed on taimelehtede ja -varte epidermis asuvad avaused, mille kaudu toimub fotosünteesiks kasutatava CO_2 sisenemine ning veeauru väljumine transpiratsiooni teel. Samuti võivad siseneda õhulõhede kaudu mitmed saasteained ning patogeenid ja väljuda erituvad lõhnained (Kollist jt., 2014). Seetõttu on taimel ülioluline vastavalt keskkonnatingimustele muuta õhulõhede avatust, et kaitsta end liigse veekaotuse või patogeenide sisenemise eest, vältides samas CO_2 nälga (Bhatla ja A. Lal, 2018). Taimede varieeruv võime reguleerida õhulõhede avatust eri keskkondades nii, et veekadu oleks piiratud, ent samas säiliks CO_2 omastamine, on võimaldanud neil evolutsiooni käigus kohaneda väga erinevate keskkonnatingimustega (Hetherington ja Woodward, 2003).

Õhulõhede avad moodustuvad kahe spetsiifilise raku vahele, mida nimetatakse sulgrakkudeks. Sulgrakud on olemuselt ebasümmeetrilised: välimine külg venib sisemisest rohkem ning turgorrõhu tõustes sulgrakk kaardub ja rakkude vahele tekib avaus, ning vastupidi, turgorrõhu vähenedes avaus sulgub. Seega sulgrakkude kuju muutumisel muutub ka sulgrakkude vahele jääva avause suurus. Tüüpiliselt on õhulõhede sulgrakud neerukujulised. Kõrrelistel on sulgrakud peenemad ning hantlikujulised. Nende sulgrakke ümbritsevad ja toestavad lisaks kaasrakud (Joonis 1; Franks ja Farquar, 2007).



Joonis 1. Eri taimerühmade õhulõhede Franksi ja Farquhari (2007) järgi. (A) *Huperzia prolifera* (suguk. kollalised), (B) *Nephrolepis exaltata* (kl. sõnajalgtaimed), (C) *Tradescantia virginiana* (suguk. kommeliinilised), (D) *Triticum aestivum* - nisu (suguk. kõrrelistel). Õhulõhede koosnevad tüüpiliselt kahest neerukujulisest sulgrakust (gc) ja nende vahele jäävast mikoravausest. Kõrrelistel (D) on sulgrakud hantlikujulised ning neid ümbritsevad ja toestavad lisaks kaasrakud (sc).

Taimi võib Tardieu ja Simonneau (1998) järgi õhulõhede regulatsiooni põhjal jaotada kaheks: isohüdrilised ja anisohüdrilised. Isohüdriliste taimede puhul reageerivad taimed õhu kuivusele õhulõhede sulgumisega, hoides lehe veepotentsiaali võimalikult konstantsena. Anisohüdriliste taimede käitumine on riskantsem: nad hoiavad õhulõhesid kauem avatuna, säilitamaks CO₂ voogu lehte ning selle kaudu hoides võimalikult kaua fotosünteesi taset (Tardieu ja Simonneau, 1998).

Nisu on peetud anisohüdriliseks liigiks (Boyer jt., 2008). Samas on katsed näidanud, et esineb sortidevaheline varieeruvus: nisul võivad osad sordid käituda isohüdriliselt, teised anisohüdriliselt. (Onyemaobi jt., 2021). Lisaks on näidatud, et osad taimed võivad minna anisohüdrilisest käitumisest üle isohüdrilisele, kui tekib mullavee defitsiit (Collins jt., 2010).

Abiootilise keskkonna faktoritest reguleerivad õhulõhede avatust atmosfääri VPD, mulla vee- ja soolasisaldus, õhutemperatuur, valguse hulk ja õhu CO₂ kontsentratsioon (Davies ja Zhang, 1991, Israelsson jt., 2006, Chen jt., 2012). Õhulõhede sulgumise kutsuvad esile ka biootilised faktorid, näiteks kontakt patogeenidega, vältimaks haigustekitajate sisenemist õhulõhede kaudu (Melotto jt., 2006, Adie jt., 2007, Guzel Deger jt., 2015).

1.3 Õhulõhede regulatsioon

1.3.1 Õhulõhede regulatsioon õhuniiskuse toimel

Õhu niiskusvajak (VPD) on õhu tegeliku veeauru kontsentratsiooni ning antud temperatuuril küllastunud veeauru kontsentratsiooni vahe, mis iseloomustab atmosfääri kuivust ja survet taimetele transpiratsiooni suurendamiseks (Jalakas jt., 2021). Kliimamuutustega kaasneb VPD tõus, mis tuleneb eelkõige keskmise temperatuuri tõusust: mida kõrgem temperatuur, seda suurem on õhu niiskumahutavus. Seega sama veeauru hulga juures kasvab temperatuuri tõustes ka VPD. Teatud piirkondades prognoositakse ka tegeliku õhuniiskuse langust, mis suurendab VPD-d veelgi enam (Ficklin ja Novick, 2017).

Võiks eeldada, et VPD-sõltuv õhulõhede sulgumine on otseselt seotud õhuniiskuse vähenemisega: kõrge VPD tingimustes suureneb transpiratsioon ja veekadu, millega kaasneb ka õhulõhe sulgrakkude veesisalduse langus. Seda on ka näidatud evolutsiooniliselt vanemates soontaimedes, kus sellised passiivsed hüdraulilised protsessid viivadki õhulõhede sulgumiseni (Brodrigg ja McAdam, 2011). Siiski on teada, et õhulõhede sulgumine pole ka ürgsetel taimerühmadel pelgalt passiivne protsess, vaid käib käsikäes aktiivse regulatsiooniga, mida juhib taime stressihormoon abtsiishape (ABA; Cai jt., 2017, Hõrak jt., 2017).

Kõrgematel taimedel on näidatud, et õhulõhede VPD-toimeline regulatsioon on aktiivne protsess. Seda tõestab asjaolu, et geneetiliselt muundatud taimeliinid, milles puuduvad olulised sulgrakkude anioonkanalid või ABA signaalraja positiivne regulaator OST1, on VPD-tundetud (Merilo jt., 2018, Jalakas jt., 2021b). Kuna Arabidopsisel on mitmeid ABA-defitsiitseid mutante, siis oleks neid kasutades võimalik teada saada, kas ABA osaleb VPD-toimelises õhulõhede sulgumises. Paraku on VPD-vastuse olemasolu ABA-defitsiitsetel liinidel hetkel debateeritav. On töid, mis kinnitavad VPD-toimelise õhulõhede sulgumise puudumist ABA-defitsiitsetel liinidel (Li ja Liu, 2022). Samas Merilo jt. (2018) näitasid, et madalam ABA sisaldus lehtedes ei takista normaalset VPD-vastust (Merilo jt., 2018). Hiljuti on välja pakutud mudel, mille järgi ABA on oluline VPD poolt esilekutsutud õhulõhede sulgumise initsiatsioon, ent edaspidi selle olulisus kaob ning suureneb ABA-st sõltumatu OST1 valgu aktivatsiooni roll (Jalakas jt., 2021).

Madala VPD taseme taastumisel on õhulõhede avanemiskiiruses viivitus, võrreldes õhulõhede sulgumiskiirusega VPD tõustes. Nähtust on interpreteeritud toetamaks ABA rolli õhulõhede VPD-toimelises regulatsioonis: kõrges VPD-s sünteesitud ABA peab sulgumiseelse õhulõhede avatuse taastumiseks lagunema (McAdam ja Brodrigg, 2015).

1.3.2 Õhulõhede regulatsioon abstsiiishappe toimetel

1.3.2.1 Abstsiiishape

Abstsiiishape (ABA) on põhiliselt tuntud kui taime stressihormoon, kuid seda on leitud ka teistest organismidest. ABA esineb kõikides taimedes, alates vetikatest kuni katteseemnetaimedeni, kus tal on avastatud mitmeid funktsioone: kasvu regulatsioon, soo määramine, seemne puhkeoleku esilekutsumine ja stressitaluvuse tõstmine (Takezawa jt., 2011, Kobayashi jt., 2016, Moody jt., 2016, McAdam jt., 2016b).

Seda, et ABA võib osaleda taimede kuivastressiga toimetulekus, toodi välja juba 70ndatel. Suvinisu taimedel, mida hoiti hästi kastetuna ja pritsiti ABA-ga, avaldusid sarnased morfoloogilised tunnused nagu neil, mida hoiti kuivastressis, näiteks väiksem pähikute arv peas ja kitsamad lehed (Quarrie ja Jones, 1977).

Pikka aega arvati, et ABA süntees toimub põuastressi puhul juurtes ning vastavalt vajadusele transporditakse teda läbi ksüleemi lehtedesse (Zhang jt., 1987). Hiljem on avastatud, et ABA sünteesitakse rohkem taimelehes ning transporditakse sealt juurtesse (Setter jt., 1980, Holbrook jt., 2002, Christmann jt., 2007, Manzi jt., 2015). ABA produtseerimine toimub eelkõige läbi *de novo* sünteesi (Nambara ja Marion-Poll, 2005). On küll ka pakutud, et ABA sünteesitakse lehtedes olevast inaktiivsest ABA-konjugaadist glükoosiga (ABA-GE), ent selle kontsentratsioon lehes on kas liiga madal või ABA sünteesi käigus ei lange ABA-GE tase piisavalt, et seletada sünteesitud ABA kogust (Zeevaart, 1980, Lehmann ja Schutte, 1984, Cornish ja Zeevaart, 1985, McAdam jt., 2016a).

De novo sünteesi teooria kinnitamiseks näidati, et VPD tõusule järgneb juba minutite jooksul NCED3 geeni produkti kiire kasv (Qin ja Zeevaart, 1999). Tegemist on ABA biosünteesi raja olulise geeniga. Kuidas rakud täpsemalt VPD tõusu tunnetavad, on seni teadmata. On välja pakutud, et raku turgorrõhu muutus võib vahendada VPD toimelise õhulõhede sulgumisprotsessi käivitamist (Pierce ja Raschke, 1980, Zhang jt., 2016, McAdam ja Brodribb, 2016c). On ka leitud, et lehe turgori langusega kaasneb ABA süntees juba 20 minuti jooksul (McAdam & Brodribb, 2016).

Kõik ABA sünteesiraja geenid avalduvad sulgrakkudes, mis viitab rakusisesele sõltumatule ABA sünteesile õhulõhedes (Bauer jt., 2013). Siiski on NCED3 ja teised ABA biosünteesis osalevad geenid olemas ka lehe vaskulaarkoes, mis näitab, et õhulõhede ABA-sõltuv regulatsioon võib olla seotud ka ABA transpordiga vaskulaarsest koest (Koiwai jt., 2004, Endo jt., 2008).

ABA kontsentratsiooni taimes reguleeritakse sünteesiraja geenide regulatsiooni ja ABA katabolismi kaudu (Qin ja Zeevaart, 1999, Kushiro jt., 2004, Saito jt., 2004). ABA lagundamine toimub kas oksüdeerimise või konjugatsiooni kaudu (Nambara ja Marion-Poll, 2005). ABA lagundamine on pidev protsess. Paljud taimed vastavad pikale põuaperioodile püsivalt kõrge ABA tasemega (Harrison ja Walton, 1975). Kõrge ABA kontsentratsioon pikalt kestvates stressitingimustes saavutatakse pideva *de novo* sünteesiga (Harrison ja Walton, 1975, Ren jt., 2007).

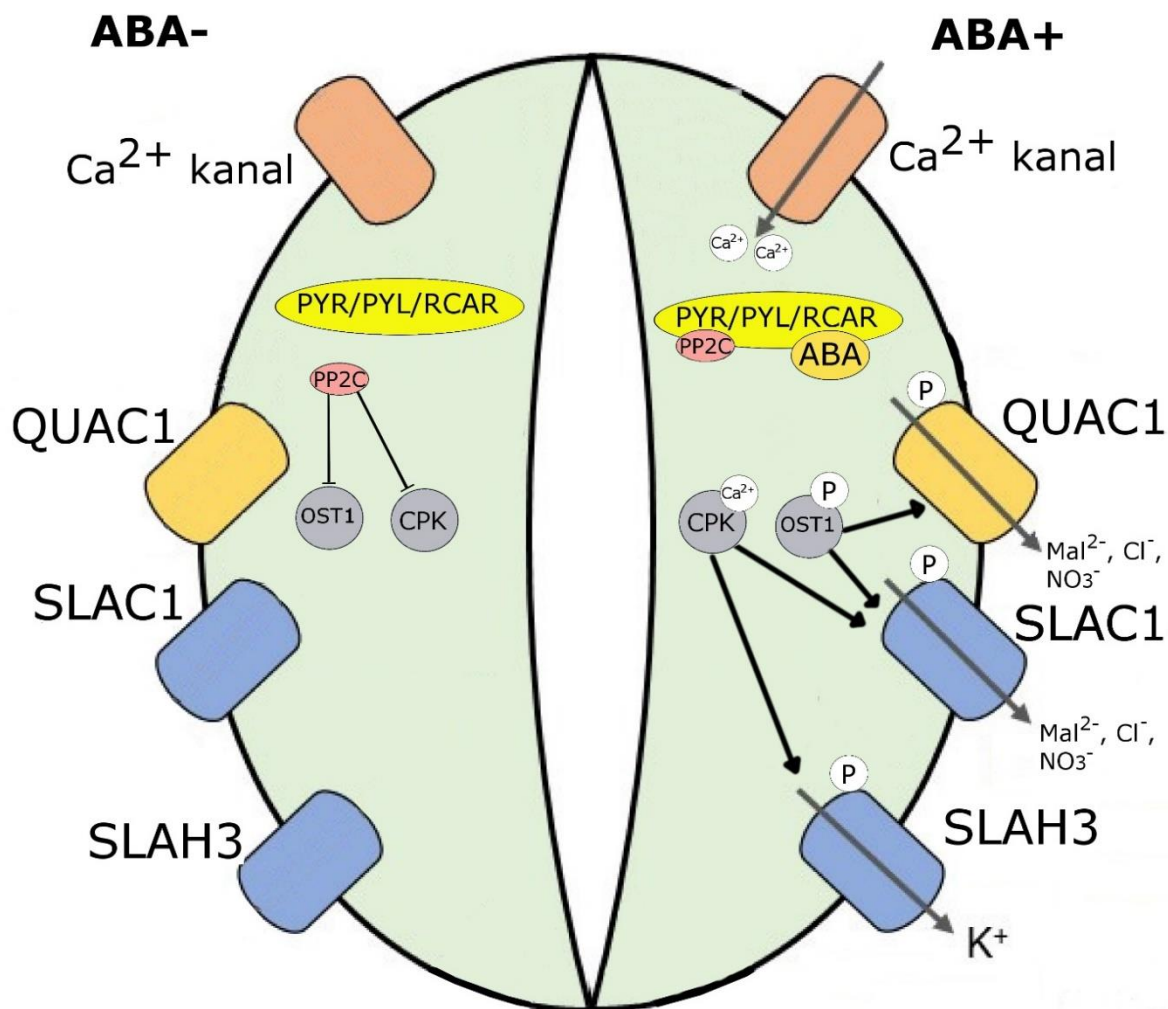
1.3.2.2 Õhulõhede ABA-toimeline regulatsioon

ABA toimet aktiveeruvad sulgrakkude anioonkanalid, mille tulemusel väljuvad rakust ioonid ja vesi ning väheneb sulgraku turgorrõhk. Turgorrõhu langemise tulemusel omakorda sulgrakud tõmbuvad kokku ning õhulõhed sulguvad (Kriedemann jt., 1972, MacRobbie, 1981).

Sulgrakkude ABA toimelise sulgumise signalisatsioonirada algab ABA seondumisest PYR/PYL/RCAR (PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR) retseptorvalkudega (Joonis 2; Ma jt., 2009, Park jt., 2009, Raghavendra jt., 2010). ABA seondumine muudab retseptorite konformatsiooni, mis soodustab retseptorite seondumist 2C tüüpi fosfataasidega (PROTEIN PHOSPHATASE 2C, PP2C-d). Madala ABA kontsentratsiooni juures on PP2C-d vabad ja aktiivsed ning inhibeerivad omakorda SnRK2-tüüpi kinaase (SNF1-RELATED KINASE 2s) defosforüleerimise kaudu (Geiger jt., 2009, Lee jt., 2009). ABA kontsentratsiooni tõustes PP2C-d inhibeeritakse PYR/PYL/RCAR kompleksi seondumise kaudu ja SnRK2 kinaasid saavad aktiveeruda läbi fosforüleerumise. Aktiivsed SnRK2 kinaasid omakorda fosforüleerivad transkriptsioonifaktoreid, erinevaid sulgrakkude anioonkanaleid ja muid sihtmärke, mis viib ABA-st sõltuva õhulõhede sulgumiseni.

ABA-sõltuva õhulõhede sulgumise juures on oluliseks positiivseks regulaatoriks SnRK2 kinaas nimega OST1 (OPEN STOMATA 1; Umezawa jt., 2009, Vlad jt., 2009, Soon jt., 2012, Acharya jt., 2013). On näidatud, et funktsionaalse OST1 valgu puudumisel on ABA-st ning ka VPD-st tulenev õhulõhede vastus oluliselt piiratud ning kõrgema VPD keskkonnas ei ole taimed võimelised õhulõhesid sulgema (Merilo jt., 2018, Jalakas jt., 2021b).

Tavaolekus on OST1 PP2C-de poolt defosforüleeritud ja inaktiivne. PP2C fosfataaside inaktiveerimisel ABA ja tema retseptorite kompleksis toimub OST1 kinaaside fosforüleerimine. Pikalt arvati, et OST1 fosforüleerimine toimub autofosforüleerimise kaudu (Belin jt., 2006). Viimased katsed näitavad, et fosforüleerimist võivad läbi viia ka RAF-kinaasid (Takahashi jt., 2020, Hsu jt., 2021).



Joonis 2. Õhulõhede sulgumine ja selles osalevad komponendid. Koostatud Abhilasha ja Roy Choudhury (2021) joonise ning täiendatud Imes jt (2013) skeemide järgi. Tavaolekus (ABA-) on PP2C-d aktiivsed ning inhibeervad OST1 ja CPK kinaase defosforüleerimise kaudu. ABA lisandumisel tekib kompleks PYR/PYL/RCAR retseptoritega ning retseptorite konformatsioon muutub nii, et PP2C-d saavad kompleksiga seonduda. OST1 ja CPK kinaasid aktiveeruvad fosforüleerimise kaudu ning fosforüleerivad ionikanalid (SLAC1, QUAC1, SLAH3), mis hakkavad ioone sulgrakust välja pumpama. Mõned CPK-d vajavad aktiveerumiseks Ca^{2+} kontsentratsiooni tõusu, millele aitab kaasa ka OST1 poolt aktiveeritud Ca^{2+} -kanali aktivatsioon. Ionide väljavoolu tulemusena väheneb sulgraku osmootne rõhk ning osmoosi teel väljub ka vesi. Selle tulemusel õhulõhed sulguvad.

PP2C-de inhibeerimisel muutub OST1 aktiivseks juba mõne minuti möödumisel (Yoshida jt., 2002). OST1 aktivatsioon võib osmootses stressis toimuda ka ABA-sõltumatult (Yoshida jt., 2006, Merilo jt., 2018). On ka välja pakutud, et ABA-sõltuv OST1 aktivatsioon on oluline just õhulõhede sulgumisprotsessi algusfaasis ning hiljem, õhulõhede suletud oleku hoidmisel, on oluline pigem ABA-sõltumatu OST1 aktivatsioon (Jalakas jt., 2021).

OST1 aktiveerumisel fosforüleeritakse sulgrakkude S-tüüpi (nt. SLAC1: SLOW ANION CHANNEL 1) ja R-tüüpi (nt. QUAC1: QUICK-ACTIVATING ANION CHANNEL1) (Dreyer jt., 2012) anioonkanalid, mille kaudu toimub ionide (Mal^{2-} , Cl^- , NO_3^-) väljavool ning väheneb rakkude osmootne rõhk. Selle toimel väljub sulgrakkudest ka vesi, rakud tühjenevad ja rakkude vahel olevad avaused sulguvad (Geiger jt., 2009, Lee jt., 2009, Ng jt., 2011, Imes jt., 2013).

Lisaks OST1 kinaasidele, osalevad anioonkanalite aktiveerimisel ka kaltsium-sõltuvad kinaasid (CPK-d - CALCIUM DEPENDENT PROTEIN KINASE; Geiger jt., 2011, Demir jt., 2013). CPK-de aktiivsuseks on vaja Ca^{2+} ioone. Tsütoplasma Ca^{2+} ionide kontsentratsioon tõuseb pärast ABA poolt esilekutsutud ionide liikumist, kus lisaks anioonkanalitele aktiveeritakse ka Ca^{2+} kanal, mis transpordib raku tsütoplasmasse Ca^{2+} ioone (Brandt jt., 2015, Wang jt., 2022). CPK-d osalevad SLAC1 (Geiger jt., 2010, Brandt jt., 2012) ja SLAH3 (SLAC HOMOLOGUE 3; (Geiger jt., 2011) aktiveerimises fosforüleerimise kaudu. Arabidopsise taimedes, milles puuduvad nii SLAC1 kui QUAC1, on õhulõhede sulgumine tugevalt häiritud nii ABA kui ka VPD toimel (Jalakas jt., 2021b).

2 EKSPERIMENTAALOSA

2.1 Töö eesmärgid

Teraviljade saagikust on vaja järgneva poole sajandi jooksul oluliselt tõsta. Selleks on vaja fundamentaalset arusaamist saagi kujunemises osalevatest füsioloogilistest protsessidest. On pakutud, et gaasivahetustunnuste optimeerimine võimaldab tulevikus saaki tõsta (Faralli ja Lawson, 2020).

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida ja võrrelda kontrollitud laborikatsetes erinevate nisusortide:

- õhulõhede basaalsel juhtivust
- õhulõhede tundlikkust ligi kahekordsele õhu VPD tõusu suhtes
- õhulõhede tundlikkust abstsiiishappega pritsimisele
- selgitada, kas ABA-vastuste olemasolu ja ulatus sõltub VPD-st katse ajal.

Minu laborikatsete põhjal valiti välja nisusordid, mille gaasivahetust põllul mõõta. Põllukatsed toimusid Eesti Taimekasvatuse Instituudis (ETKI) Jõgeval NOBALwheati projekti raames. NOBALwheat (tööriistakast jätkusutliku toidutootmise arendamiseks Põhja-Balti regioonis, kestab 2021-2023) on Norra ja Balti riikide ühine projekt eesmärgiga luua ühine nisuliinide kollektsioon ning uurida nende liinide geneetilist plastilisust ning saagipotentsiaali kliimamuutuste tingimustes.

2.2 Materjal ja meetodika

2.2.1 Taimede kasvatamine

Katsealusteks taimedeks olid 16 erinevat suvinisu sorti (013-01, 013-032, 013-074, 655-7, DS-17, DS-638-5-DH (edaspidi 638-5), DS-720-3-DH (edaspidi 720-3), 876, Zombi, Caress, Runar, Betong, Hiie, 990-2, Voore, Robijs), mis kuuluvad NOBALwheati projekti. Sordid pärinevad neljast projektis osalevast riigist (Eesti, Läti, Leedu, Norra), kus igast võeti neli sorti. Eestist pärinesid sordid Hiie, Voore, 876 ja 990-2.

Idandasin seemneid 4...5 päeva petri tassidel märja paberrätiku vahel. Idanema hakanud seemned külvasin 11 suurustesse pottidesse. Igasse potti istutasin 2 taime. Kasvusubstraat koosnes turbast (Kekkilä professional kasvuturvas 025W, pH 5.5), vermikuliidist ning veest, ruumalaliselt vastavalt 4:2:3 vahekorras. Taimi hoiti hästi kastetuna. Katsetes kasutasin vegetatiivses kasvufaasis olevaid taimi, mille peavõrsel oli 3-4 lehte, kohati olid arenema hakanud ka külgvõrsed.

Taimi kasvatati kahesugustes tingimustes. Esimeste katsete ajal kasvasid taimed kasvukambris (Percival, AR-66LX) ööpäeval režiimil 12h valgust / 12h pimedust. Päeval režiimil oli temperatuur 23°C ning öisel 18°C. Fotosünteesiliselt aktiivse kiirguse väärtus (PPFD) oli päeval 300, öösel 0 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Öhuniiskus päeval režiimil 65% ja öisel 80%. Hilisemate katsete taimed kasvasid kasvukambris (SED-41), mille PPFD väärtus oli päeval 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Muud tingimused olid sarnased esimese katsega.

2.2.2 Aparatuur

Gaasivahetusmõõtmised viisin läbi termostateeritud gaasivahetusaparatuuriga, mis koosneb neljast mõõtekambrist. Igas kambris saab püsivalt hoida soovitud valgusintensiivsust, CO₂ kontsentratsiooni, õhuniiskust ja temperatuuri. Õhulõhede juhtivuse arvutamiseks mõõdetakse nii siseneva kui ka väljuva õhu H₂O kontsentratsioone. Iga kambri väärtuse mõõtmine kestab täpselt 2 minutit: minut sissemineva ja minut väljamineva õhu mõõtmiseks. Neljakambrilise süsteemi puhul jõutakse seetõttu sama kambri juurde tagasi 8 minuti pärast, st. antud taime gaasivahetustunnuseid mõõdetakse iga 8 minuti tagant.

Mõõtekamber koosneb klaaskuplist (diameeter 10,6cm ja kõrgus 15,6cm) ning alusklaasist, millest üks pool on taimede kambrisse asetamiseks eemaldatav. Klaaskuppel on kahekordse seinaga, mille vahel on termostaadiga reguleeritav veesärk – see hoiab kambris ühtlast temperatuuri. Alusklaasi poolel, mis on fikseeritud, asuvad õhu sisse- ja väljavooluavad ning ventilaator õhu segamiseks. Alusklaaside siseserval on poolringikujuline süvend, mis klaaside

kokkupanekul jätab avause taime varre jaoks. Antud avaus tihendatakse mõõtmise jaoks plastiliiniga. Kamber on töö ajal väikese ülerõhu all, et vältida välisõhu sattumist kambrisse. Kambrisse pumbatav õhk võetakse õuest, mis esialgu pumbatakse 25l suurusesse anumasse, kus ta saavutab toatemperatuuri ning kus ühtlustatakse pumbast tekkinud õhurõhu vibratsioonid, ning seejärel läbi termostaadi edasi gaasivahetussüsteemi.

Siseneva ja väljuva õhu CO₂ ning H₂O kontsentratsioonide mõõtmiseks on süsteemis infrapuna-gaasianalüsaator (Li-7000, Li-Cor, Nebraska, USA). Teades siseneva ja väljuva õhu H₂O kontsentratsioonide erinevust, kambris olnud lehtede pindala ning õhuvoolukiirust saab arvutada transpiratsiooni kiiruse, kasutades von Caemmereri ja Farquhari lähenemist (1981). Õhulõhede juhtivuse arvutamiseks on vaja teada lehetemperatuuri, see saadakse mõõdetud õhutemperatuurist, lisades sinna pealelangevast valguskiirgusest tingitud lehetemperatuuri tõusu ning lahutades transpiratsioonist tingitud lehejahutamise.

2.2.3 Katsete kirjeldus

Enne taimede gaasivahetuskambritesse asetamist seadistasin tingimused järgnevas: suhteline õhuniiskus 65-75%, CO₂ kontsentratsioon ~420ppm, õhutemperatuur 24°C. PPFD väärtuse kambris valisin vastavalt valguskiirguse väärtusele kasvu ajal kasvukambris: 300 või 500 µmol m⁻²s⁻¹. Taimed stabiliseerusid mõõtesüsteemis 1-2h, mille järel toimus töötlus: õhuniiskuse langus (VPD katse) või ABA lahusega pritsimine.

VPD katse puhul tõusis õhu VPD umbes 2x töötluseelse tasemega võrreldes. Keskmise töötluseelne VPD = 0.86kPa (±0.02kPa) ja pärast kõrge VPD rakendamist keskmiselt 1.7kPa (±0.02kPa).

ABA katses eemaldasid pärast stabiliseerumisperioodi lõppu kambrilt kupli ning pritsisin kambris olevaid taimelhti 25µM ABA lahusega 5 korda, jälgides, et lehed saaksid ühtlaselt kaetud. ABA lahus koosnes destilleeritud veest, kuhu oli lisatud abstsiihapet, etanooli (0.25%) ja Silwet L-77 detergendi (0.012%). Iga sordi kohta tegin 4...6 katset. Kontrollkatse jaoks valisin välja 2 sorti (876 ja Robijs). Kontrollkatses kasutatud pritsitav lahus koosnes vees lahustatud 0.25% etanoolist ja 0.012% Silwetist.

Katse lõpus lõikasid taimelt katsekambris olnud lehed, pildistasin ja mõõtsin ImageJ (NIH, USA) programmiga lehe täpse pindala.

Laborikatsete tulemusi kasutati selleks, et valida välja sordid põllul gaasivahetuse mõõtmisteks. Neid mõõtmisi viis läbi Tartu Ülikooli Taimsete Signaalide uurimisrühm koostöös Eesti Taimakasvatuse Instituutiga Jõgeval nende põldudel.

2.2.4 Andmeanalüüs

Andmetöötluse jaoks kasutasin Microsoft Excelis loodud valemitega programmi, mis arvutas õhulõhede juhtivuste väärtused. Andmete ühtlustamiseks arvutasin kõikides katsetes keskmised väärtused. Töötluseelne punkt (gs0) on saadud keskmistades kolm viimast töötluseelset õhulõhede juhtivuse väärtust. Pärast töötlust valitud punktid on antud ajahetke väärtused.

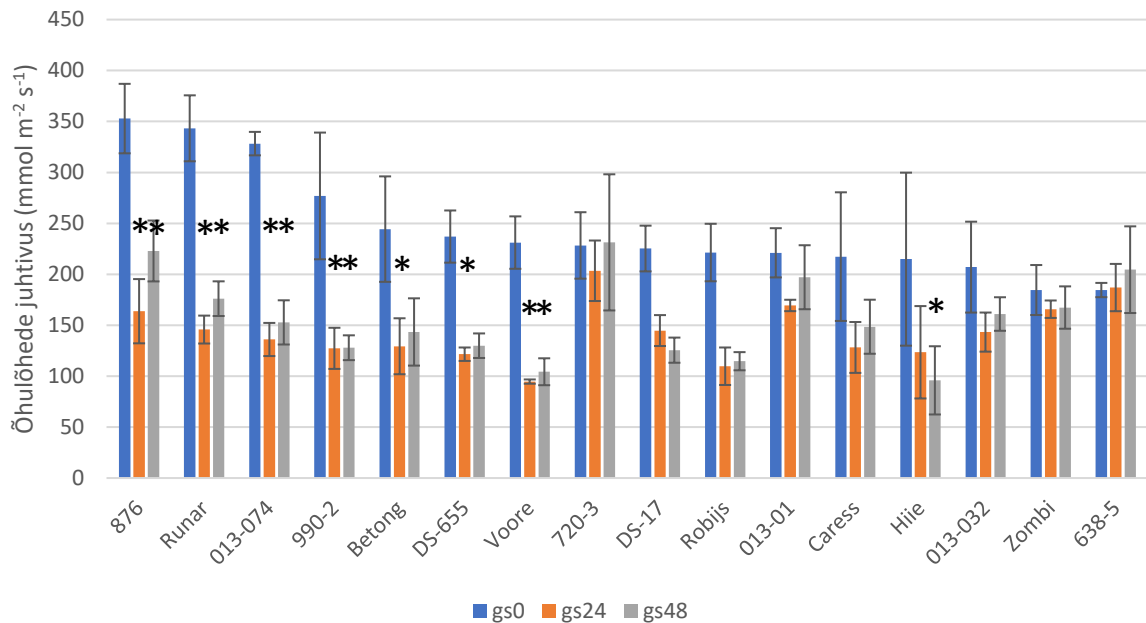
Statistilise analüüsi tegin programmiga Statistica (v. 7.1, StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). Sortidevaheliste erinevuste hindamiseks kasutasin ühemõõtmelist ANOVAt. Stiimuli mõju hindamiseks õhulõhede juhtivusele kasutasin korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi (Repeated Measures ANOVA). *Post hoc* testina kasutasin mõlemal juhul Tukey HSD testi. Regressioonide olulisuse hindamiseks kasutasin GLM *simple regression* protseduuri.

2.3 Tulemused

2.3.1 Nisusortide õhulõhede tundlikkus VPD-le

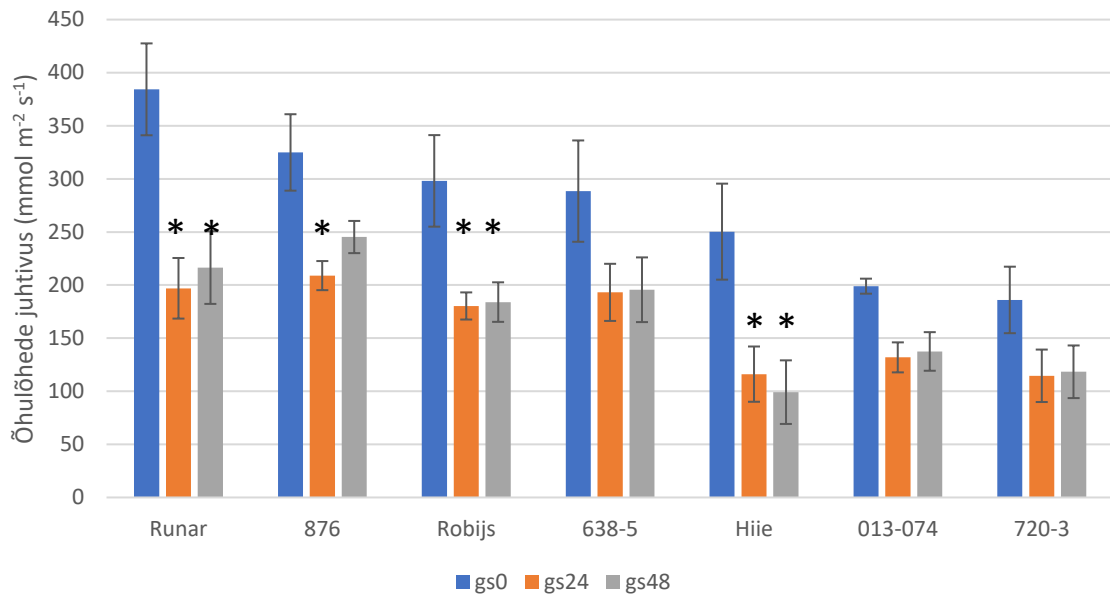
Esmalt mõõtsin kõigi 16 genotüübi õhulõhede tundlikkust kõrge VPD suhtes pilootkatses, kus VPD väärtus stabiliseerumisperioodil oli ligikaudu 0.8kPa ning kõrge VPD ajal 1.6kPa. Valguskiirguse intensiivsus katse ajal oli sama, mis kasvukambris taimede kasvatamise ajal ($PPFD = 300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Algsed õhulõhede juhtivuste väärtused (g_s0) erinesid genotüüpide vahel kuni 2 korda (Joonis 3). Kõige suurema g_s0 väärtusega oli genotüüp 876 ja kõige madalamaga 638-5. Kuigi g_s0 väärtustes olid genotüüpide vahel suured erinevused, polnud need erinevused statistiliselt olulised, mis võib tuleneda asjaolust, et valimi suurus oli väike ja taimedevaheline varieeruvus genotüübi sees suur.

Edasi võrdlesin õhulõhede VPD-tundlikkust, kasutades korduvmõõtmistega ANOVA-t ning genotüüpide õhulõhede juhtivuste väärtuseid vahetult enne kõrge VPD rakendamist (g_s0), 24 minutit (g_s24) ja 48 minutit (g_s48) pärast kõrge VPD rakendamist. Statistiliselt oluliselt reageerisid VPD tõusule genotüübid 876, Runar, 013-074, 990-2, Betong, DS-655 ja Voore ja Robijs. Nende puhul vähenesid õhulõhede juhtivuste väärtused (g_s0/g_s24) 1.9-2.5 korda. Betongi ja DS-655 puhul oli märgata mõningast juhtivuse taastumist katse käigus: nende g_s48 väärtus ei erinenud enam statistiliselt oluliselt g_s0 omast. Vahe g_s24 ja g_s48 väärtustes oli siiski üsna väike ning suuri järeldusi sellest teha ei saa. Hiiel ilmnes vastupidine: ainult g_s48 väärtus oli g_s0 omast statistiliselt erinev. Ülejäänud sortidel polnud õhulõhede juhtivuse langus kõrge VPD rakendamisel statistiliselt oluline. VPD-tundetute genotüüpide seas saab eristada neid, mille õhulõhed sisuliselt ei reageerinudki kõrgele VPD-le (720-3, 638-5, Zombi) ning neid, mis reageerisid, kuid statistiliselt ei olnud see vastus oluline. Näiteks Robijs-e puhul on näiliselt suure õhulõhede VPD-tundlikkuse statistiline ebaolulisus seletatav sellega, et valim ($n = 2$) jäi liiga väikseks.



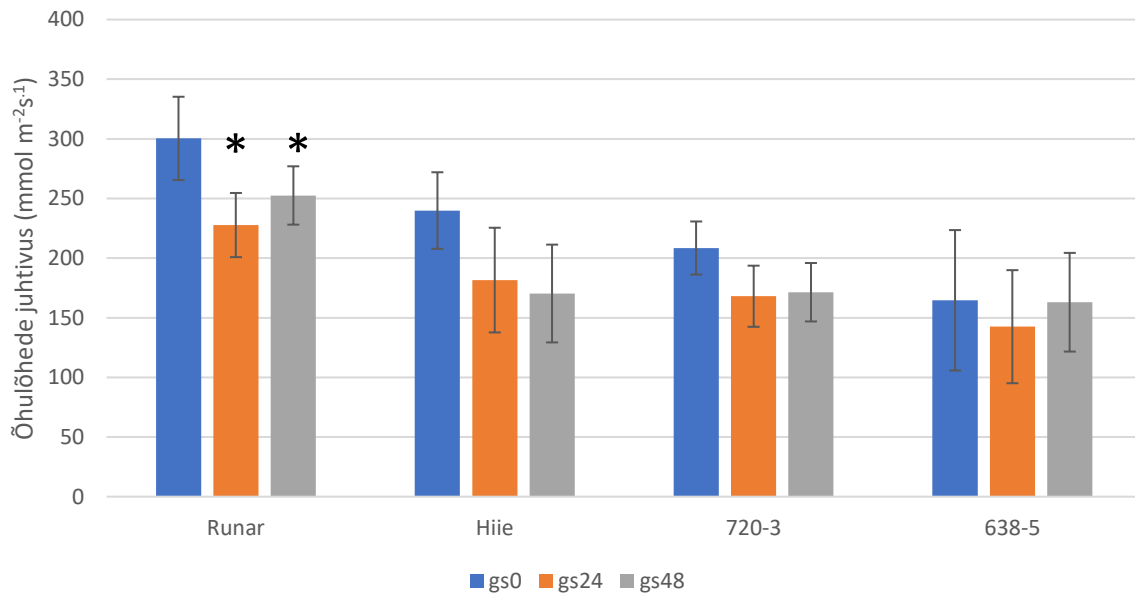
Joonis 3. Kõikide nisusortide õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) madalas VPD-s (gs0) ning 24 minutit (gs24) ja 48 minutit (gs48) pärast kõrge VPD rakendamist (PPFD = 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). VPD väärtus gs0 hetkel oli keskmiselt 0,83kPa (± 0.05 kPa), pärast kõrge VPD rakendamist 1,63kPa (± 0.08 kPa). Statistiliselt olulised erinevused võrreldes gs0 väärtusega sama genotüübi piires on märgistatud tärniga (*), mis saadi korduvmõõtmistega ANOVAt rakendades (*post hoc* testiks Tukey HSD). Statistiliselt olulised erinevused sortide gs0 väärtuste vahel puuduvad. Selle kontrollimiseks kasutati ühemõõtmelist ANOVAt. n = 3 (välja arvatud Robijs, kus n = 2).

Teise katsesse valisin 7 sorti põhimõttel, et saaks võimalikult erineva algse õhulõhede juhtivuse või õhulõhede VPD-tundlikkusega sordid (Joonis 4). Kuna taimed kasvasid seekord kõrgemas valguses (PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), siis ka katse tegemise ajal oli valgus vastavalt kõrgem. Sorditi erinesid õhulõhede juhtivuste väärtused ligi 2x. Võrreldes esimese katsega oli VPD tundlikkuse osas üks erinevus: lisaks Runar-ile, 876-le ja Hiie-le reageerisid kõrgele VPD-le ka Robijs-e õhulõhed. Seda seletab kõige tõenäolisemalt ebapiisav valimi suurus Robijs-e puhul (n = 2) esimese katses. Sortide 638-5, 720-3 ja 013-074 õhulõhede reaktsioonid VPD tõusule olid jätkuvalt statistiliselt mitteolulised. Õhulõhede algsed juhtivused (gs0 väärtused) võrreldes esimese katsega olid kõrgemad neljal sordil (Runar, Robijs, 638-5 ja Hiie) ning madalamad kolmel (876, 013-074, ja 720-3).



Joonis 4. Seitsme valitud nesusordi õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) madalas VPD-s (gs0) ning 24 minutit (gs24) ja 48 minutit (gs48) pärast kõrge VPD rakendamist (PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Töötluseelne VPD oli keskmiselt 0,84kPa ($\pm 0.05\text{kPa}$) ning pärast 1,72kPa ($\pm 0.06\text{kPa}$). Statistiliselt olulised erinevused genotüübi piires (gs24 ja gs48 võrreldes gs0 väärtusega) on märgistatud tärniga (*), mis saadi kasutades korduvmõõtmistega ANOVAt (*post hoc* Tukey HSD). gs0 väärtused statistiliselt ei erinenud. n = 4 (Hiie), n = 5 (876, Robijs, 638-5, 013-074, 720-3) ning n = 6 (Runar).

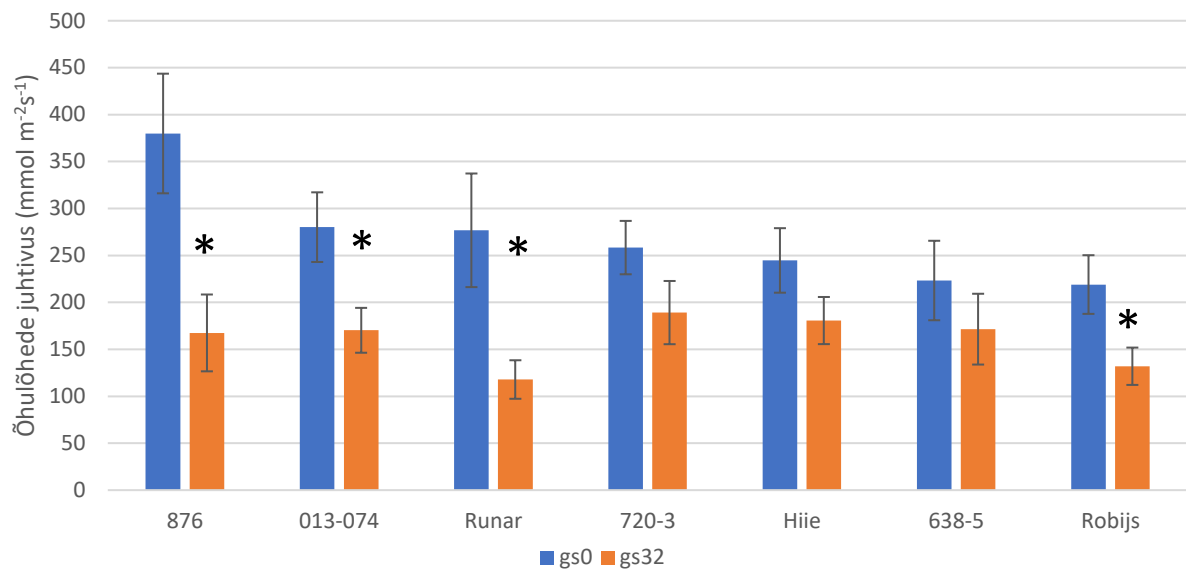
Tegin lisaks ühe korduskatse madalamal valgusel (PPFD = 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) kasvatatud ja mõõdetud taimedega väiksema valimi peal (Joonis 5). Sortide algsed õhulõhede juhtivuste väärtused varieerusid 2x, kuid statistilisi erinevusi nende vahel ei olnud. Ainsana on õhulõhede VPD-tundlikkus statistiliselt oluline Runaril. Võrreldes esimese tulemustega ning kõrgema valguse juures kasvatatud taimedega ei olnud Hiie õhulõhed seekord VPD-tundlikud. Kinnitust leidis see, et genotüüpide 638-5 ja 720-3 õhulõhed on VPD-tundetud.



Joonis 5. Nelja valitud nesusordi õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) madalas VPD-s (gs0) ning 24 minutit (gs24) ja 48 minutit (gs48) pärast kõrge VPD rakendamist (PPFD = 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). VPD stabiliseerumisperioodil oli keskmiselt 1kPa ($\pm 0.07\text{kPa}$), pärast kõrge VPD rakendamist 1,8kPa ($\pm 0.08\text{kPa}$). Statistiliselt olulised erinevused (gs24 ja gs48 väärtused võrreldes gs0 väärtusega) genotüübi piires on märgistatud tärniga (*), mis saadi korduvmõõtmistega ANOVAt kasutades (*post hoc* Tukey HSD).

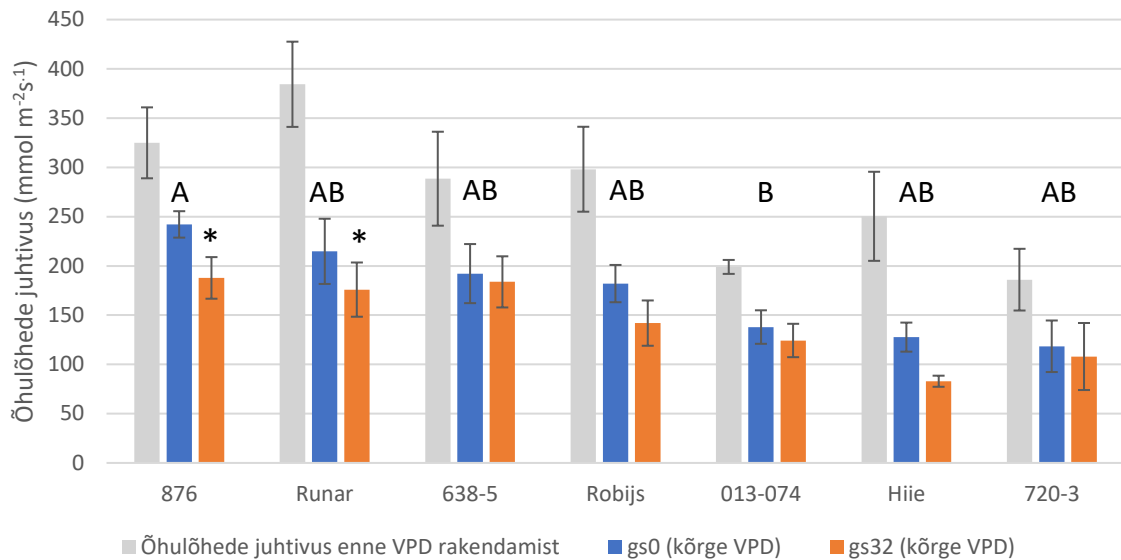
2.3.2 Nisusortide tundlikkus abstsiihappele

Abstsiihappega pritsimise katses kasvatati ja mõõdeti taimi kõrgemal valgusel (PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; Joonis 6). Sortide gs0 väärtused varieerusid kuni 1.7x, kuid statistiliselt polnud need erinevused olulised. Õhulõhede ABA-tundlikkuse (25 μM) hindamiseks võrdlesin sortide pritsimiseelseid juhtivusi (gs0) juhtivustega 32 minutit pärast pritsimist (gs32). Õhulõhed sulgusid ABA toimel genotüüpidel 876, 013-074, Runar ja Robijs. Samas Hiie, 720-3 ja 638-5 õhulõhede sulgumine polnud kasutatud ABA kontsentratsiooni mõjul statistiliselt oluline.



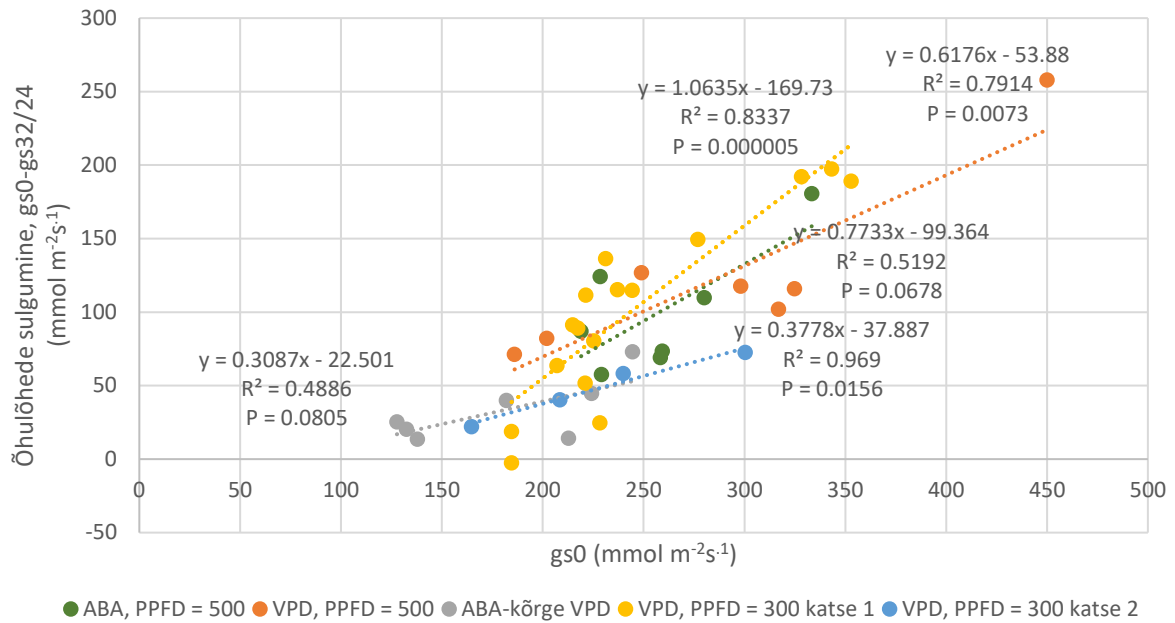
Joonis 6 Seitsme nisusordi õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) enne abtsiishappaga (25 μ M) pritsimist (gs0) ja 32 minutit (gs32) pärast pritsimist (PPFD = 500 μ mol m⁻²s⁻¹). Kogu katse vältel keskmine VPD = 1kPa (\pm 0.07kPa). Statistiliselt olulised erinevused gs0 ja gs32 väärtuste vahel on märgistatud tärniga (*), mis saadi korduvmõõtmistega ANOVAt (*post hoc* Tukey HSD) kasutades. gs0 väärtuste erinevused polnud statistiliselt olulised. n = 10 v.a Runar (n = 9).

Järgnevalt tegin katse, kus kõigepealt tõstsin VPD ning lasksin õhulõhedel stabiliseeruda uue väärtuseni kõrge VPD tingimustes, misjärel pritsisin 25 μ M ABA lahusega (Joonis 7). Selle katse eesmärk oli selgitada, kas ABA-vastuste olemasolu ja ulatus sõltub VPD-st katse ajal. Selgus, et kõrge VPD tingimustes sulgusid õhulõhed ABA mõju statistiliselt oluliselt vaid kahel sordil, 876-l ja Runaril. Seega olid suhteliselt ABA-tundetute sortide sekka liitunud Robijs, Hiie ja 013-074. Sortide kõrges VPD-s mõõdetud gs0 väärtuste alusel eristusid üksteisest 876 ja Hiie.



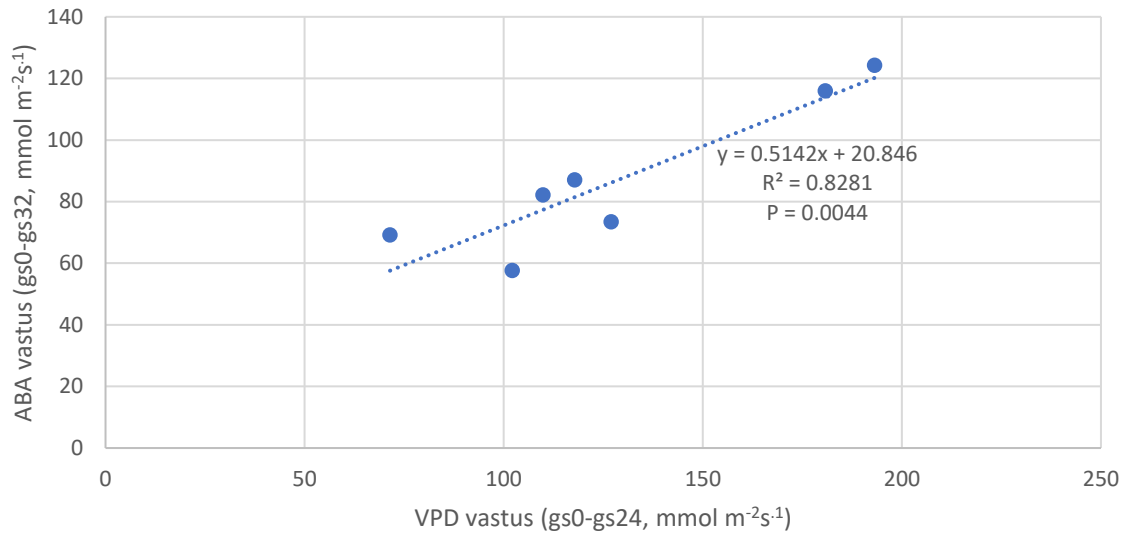
Joonis 7. Seitsme valitud nisusordi õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) enne (gs0) ja pärast (gs32) ABA-ga ($25\mu\text{M}$) pritsimist kõrge VPD tingimustes ($\text{PPFD} = 500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Iseloomustamiseks gs väärtuste muutumist kõrge VPD tõttu on toodud ka iga sordi õhulõhede keskmised juhtivused madalas VPD-s. Kõrge VPD tingimustes oli keskmine VPD = 1.72kPa ($\pm 0.07\text{kPa}$). Statistiliselt olulised erinevused gs0 ja gs32 väärtuse vahel on märgistatud tärniga (*), mis saadi korduvmõõtmistega ANOVAt (*post hoc* Tukey HSD). Statistiliselt olulised erinevused sortide gs0 väärtuste vahel on märgitud tähtedega, mis saadi ühemõõtmelist ANOVAt kasutades (*post hoc* Tukey HSD). $n = 5$ v.a Runar ($n = 6$).

Kuna üldiselt ilmnes neis katsetes varieeruvus nii õhulõhede juhtivuste kui tundlikkuse osas, korreleerisin nisusortide algsed õhulõhede juhtivuste (gs0) väärtused nende õhulõhede vastuste ulatusega erinevates katseskeemides. ABA katses kasutasin tundlikkuse iseloomustamiseks juhtivuse väärtust 32 minutit pärast pritsimist (arvutasin gs0-gs32) ja VPD katses 24 minutit pärast VPD tõstmist (gs0-gs24; Joonis 8). Kõikides katsetes selgus, et mida suurem gs0 väärtus, seda suurem õhulõhede juhtivuse langus ABA või kõrge VPD mõjul. Kolmes katses oli lineaarne regressioon gs0 ja juhtivuse languse vahel statistiliselt oluline $P < 0.05$ juures ning kahes katses $P < 0.1$ juures



Joonis 8. Algsete õhulõhede juhtivuste väärtuste (gs_0) ja õhulõhede sulgumisvastuste (VPD katsete puhul gs_0-gs_{24} , ABA katsete puhul gs_0-gs_{32}) korrelatsioon. Kõikides katsetes oli näha, et mida suurem oli õhulõhede algne juhtivus, seda suurem oli juhtivuse langus (õhulõhede sulgumine) pärast ABA-ga pritsimist või VPD-ga mõjutamist. Kolmes katses oli lineaarne regressioon statistiliselt oluline $P < 0.05$ juures, kahes katses $P < 0.1$ juures.

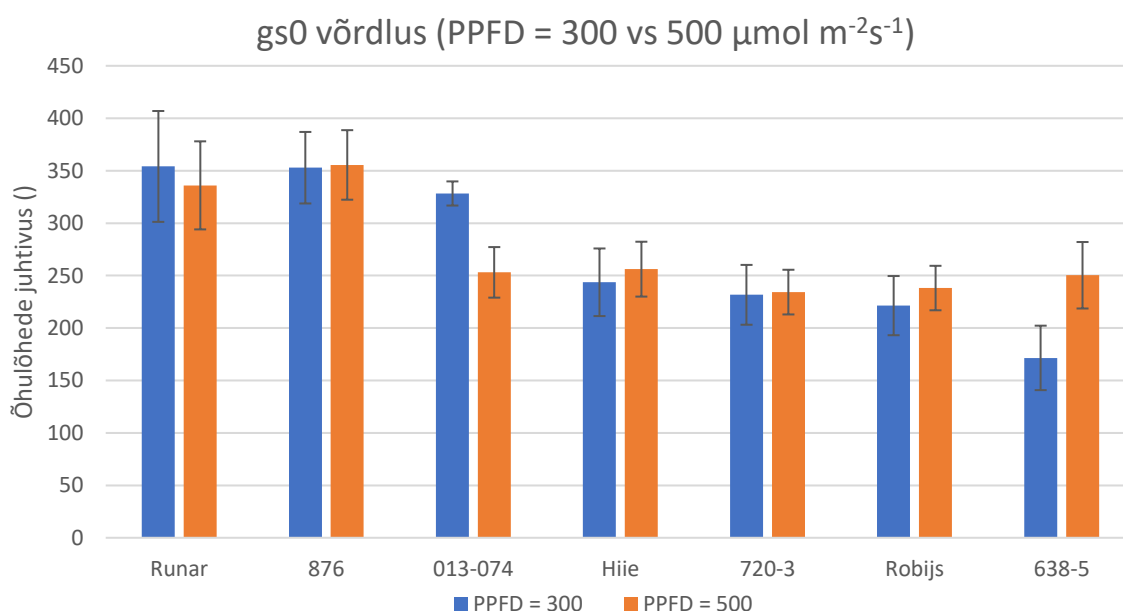
Korreleerisin omavahel ka sarnasel valgusel ($PPFD = 500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tehtud katsete ABA ja kõrge VPD poolt indutseeritud õhulõhede sulgumist. Ilmnes positiivne korrelatsioon: mida rohkem sulgusid õhulõhed ABA-ga pritsimise puhul, seda suurem oli sulgumisvastus ka kõrge VPD suhtes (Joonis 9).



Joonis 9. Seitsme sordi keskmised sulgumised kõrge VPD mõjul (gs0-gs24) ja ABA mõjul (gs0-gs32), mõlemad kõrgema valguse katsest (PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), olid positiivses korrelatsioonis. Lineaarne regressioon oli statistiliselt oluline $P < 0.05$ väärtuse juures.

2.4 Arutelu

Nisusortide keskmised gs_0 väärtused varieerusid katsete lõikes küll pea kahekordselt, kuid statistilisi erinevusi sortide vahel tuvastasin vähe. Põhjuseks peamiselt gs väärtuste suur sordisiline varieeruvus. Joonis 10 näitab kõigi vastaval valgustasemel tehtud katsete keskmistatud gs_0 väärtusi. Nii valguse kui genotüübi peafektid olid statistiliselt mitteolulised. Üldreeglina on valgustingimused olulised õhulõhede juhtivuse määramisel; mida kõrgem PPF_D, seda suurem juhtivus (Farquhar ja Sharkey, 1982, Lu jt., 2017, Hunt jt., 2021). Tulevikus peaks erinevuste selgemaks väljatoomiseks taime katsematerjal olema võimalikult ühtlane – nii taimevanuse kui ka kasvutingimuste poolest. Taimede kasvatamine kasvukambrites tagas tõhusa kontrolli õhuniiskuse, temperatuuri ja valgustingimuste üle kasvuperioodil.



Joonis 10. Õhulõhede juhtivuste (gs_0) väärtused eri valgustel (PPFD = 300 ja PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) kõiki katsetulemusi koondades. Nii valguse kui genotüübi peafektid olid statistiliselt mitteoluline. PPFD = 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ katses: $n = 2$ (Robijs), $n = 3$ (876, 013-074), $n = 6$ (638-5), $n = 8$ (720-3), $n = 9$ (Runar, Hiie). PPFD = 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ katses: $n = 13$ (Hiie), $n = 14$ (638-5), $n = 15$ (Runar, 013-071, 720-3), $n = 18$ (876, Robijs).

Oreni jt (1999) ulatuslik andmeanalüüs, mis hõlmas erinevaid publitseeritud katseid ja taimeliike, näitas, et taimede õhulõhed, millel on madala VPD juures suuremad gs väärtused, on kõrge VPD suhtes tundlikumad (Oren jt 1999). Minu katsetes esines antud tendents nii kõrge VPD kui ka ABA-ga pritsimise katses. Mida kõrgem gs_0 , seda suuremas ulatuses muutus õhulõhede juhtivuse väärtus pärast vastava stiimuli (kõrge VPD või ABA)

rakendamist. Samad nesusordid reageerisid õhulõhede sulgumise ulatuse osas nii VPD muutusele kui ka ABA-ga pritsimisele sarnaselt. Õhulõhede sulgumisvastuse ulatus oli neis katsetes tugevas positiivses korrelatsioonis (Joonis 9). Kontrollkatses pritsitud sortidel 876 ja Robijs ei esinenud statistiliselt olulist muutust õhulõhede juhtivuses (Lisa 1).

Kõrges VPD-s reageerisid ABA-le kaks kõige kõrgema gs väärtusega sorti – Runar ja 876. Need tulemused, nii kõrgemate gs0 väärtustega sortide õhulõhede suurem vastus kõrgele VPD-le ning ABA-le ja reageerimine ABA-le kõrges VPD-s, võiksid olla sarnaselt seletatavad. Suurema õhulõhede juhtivusega sortidel on õhulõhed rohkem avatud või on õhulõhesid tihedamalt (Chater jt., 2015, Jalakas jt., 2018). Ühest küljest pääseb sel juhul rohkem ABA õhulõhede kaudu lehte sisse ning kõrgem ABA kontsentratsioon sulgrakkudes tagab suurema vastuse. Teisest küljest võib arvata, et kõrgema õhulõhede tihedusega taimeliinidel on samuti suurem potentsiaal õhulõhede juhtivuste väärtuste langemiseks. Mida suurem osa õhulõhesid end sulgeb, seda suurem on ka muutus õhulõhede juhtivuse väärtustes. Nimelt: mitte kõik õhulõhed ühel taimel ei sulgu samal määral. On täheldatud, et lehes esineb õhulõhede sulgumises varieeruvus, ent laiguti samas kohas asetsevad õhulõhed sulguvad sarnaselt (Mott ja Buckley, 2000). Ka VPD tõusu ulatuslikumat mõju suurema gs0 väärtusega sortidel võib seletada nii, et kõrgema algse juhtivusega liinide esialgne veekadu lehtedest kõrge VPD rakendamisel oli suurem. Algne suurem veekadu initsieeris ka suurema sulgumise.

Üldiselt on mudeltaim Arabidopsisel kirjeldatud ABA signaalrada konserveerunud kõigis maismaataimedes (Hauser jt., 2011). Transkriptoomi uurimine selgitas, et ABA signalisatsioon osaleb teraviljade (odra) stressivastuste määramisel ning et mitmed odra transkriptsioonifaktorid on ABA poolt indutseeritavad (Gürel jt., 2016). Nisu ja odra õhulõhed sulgusid ABA-töötamise mõjul kuni 50% (Shen jt., 2015). Minu katsed näitasid, et erinevate nesusortide õhulõhed reageerivad väga varieeruvalt ABA-ga pritsimisele. Samamoodi on väga varieeruv ka õhulõhede vastus kõrgele VPD-le.

Taimi võib jaotada vastavalt õhulõhede tundlikkusele mulla ja õhu veedefitsiidi suhtes kahte gruppi: isohüdrilised ja anisohüdrilised (Tardieu ja Simonneau, 1998). Isohüdrilised taimed hoiavad õhulõhede avatuse regulatsiooni kaudu taimelehe veesisalduse ja veepotentsiaali konstantsena: kõrge VPD või mullakuivuse korral nende õhulõhed sulguvad. Anisohüdrilised taimed hoiavad õhulõhed pigem lahti ka kõrgetes VPD tingimustes säilitamaks kõrget fotosünteesi taset. Nisu on peetud anisohüdriliseks liigiks (Boyer jt., 2008), kuid katsed on näidanud, et eri sordid võivad nisul käituda nii isohüdriliselt kui anisohüdriliselt (Onyemaobi jt., 2021). Minu katsetes nisudega saab ka välja tuua, et osad sordid on pigem isohüdrilised

(näiteks 876, Runar, 013-074, 990-2, Betong, DS-655, Voore, Hiie) ja osad anisohüdrilised (näiteks 720-3, DS-17, 013-01, 013-032, Zombi, 638-5).

Otradel on näidatud, et ABA signaalraja komponentide (näiteks PP2C ja PYR/PYL retseptorid) geeniekspressioonis on sortide vahel suur varieeruvus (Kamboj jt., 2015). Käesolevas katses esinenud õhulõhede VPD ja ABA tundlikkuse erinevus võib osaliselt tuleneda ka geneetilisest varieeruvusest, mis mõjutab õhulõhede sulgumise signaalraja komponentide aktiivsust.

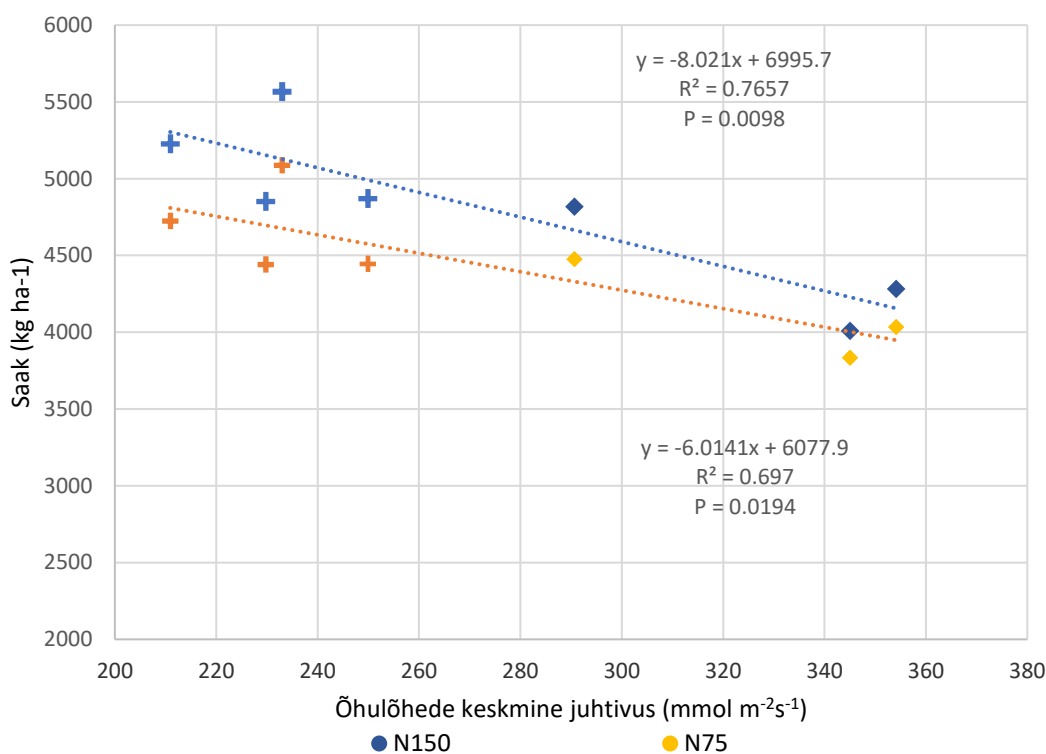
Looduses võimaldab õhulõhede eri tüüpi regulatsioon kasvada väga erinevates keskkondades. Nisu puhul võivad käesolevast töös saadud andmed aidata valida vastavasse keskkonda sobiva sordi. Piirkondades, kus veedefitsiit on tavaline, võiks rohkem saaki anda sordid, mille õhulõhede juhtivus on madalam. Samas neis regioonides, kus veedefitsiit on pigem lühiajaline ja ajutine, võiksid saagikamad olla kõrgema õhulõhede juhtivuse ning kiire reaktsiooniga sordid. Anisohüdriliste taimede puhul hoitakse küll õhulõhed rohkem avatuna, aga selle tõttu on ka neil suurem veekadu. Siiski veerikkas keskkonnas võivad nad omastada rohkem CO₂-e ning selle kaudu võiks olla ka taime produktsioon kõrgem.

NOBALwheat projekti raames kasvatatakse käesolevas töös uuritud sorte Eesti Taimekasvatuse Instituudi (ETKI) põldudel Jõgeval 2021-2022 aastal. Joonisel 11 on korreleeritud ETKI-st saadud 2021. a terasaagid laboris mõõdetud gs0 väärtustega. Kuna valgusel polnud statistiliselt olulist mõju gs0 väärtustele, siis kasutasin korrelatsioonis üle kõigi valguste keskmistatud gs0 väärtusi. (Joonis 11). ETKI põllukatsed toimusid kahel lämmastikväetise tasemel, 75 ja 150 kg ha⁻¹ (N75 ja N150). Mõlemal juhul oli selgelt näha, et keskmised gs0 väärtused olid statistiliselt olulises negatiivses korrelatsioonis terasaagiga.

Keskkonnaagentuuri (2021) andmetel oli 2021 aasta juunikuu keskmine temperatuur 18.9 °C ja sademeid tuli 9.9mm. Seega oli juuni keskmine temperatuur kümne aasta keskmisega võrreldes 3.4 °C kõrgem ning sademeid tuli 68mm keskmisest vähem. Juuli keskmine õhutemperatuur oli 21°C ning sademeid tuli 41.5mm, mis tähendas keskmiselt 3.1°C kõrgemat temperatuuri ning 10mm vähem sademeid. Nende andmete põhjal oli möödunud aasta (2021) ilmastik nisu aktiivse kasvuperioodi ajal keskmisest kuivem ja soojem (Keskkonnaagentuur 2021). Sellisel kuival aastal olid kõige saagikamad genotüübid 720-3 (5568 kg ha⁻¹ N150 katse puhul ja 5087 kg ha⁻¹ N75 puhul) ning 638-5. Kõige madalamad saagikused olid Runaril ning 876-1.

Laborikatsetes kaks kõige kõrgema gs0 väärtusega sorti, Runar ja 876, olid põllul kõige madalama saagiga. Varem on katsetega näidatud, et nisu terasaak ja gs väärtus on omavahel

positiivses korrelatsioonis – kõrgema g_s väärtustega sortidel oli suurem saak (Reynolds jt., 1994). Need katsed olid tehtud kastetud põllul ning sel juhul avaldub pigem sordi saagipotentsiaal, mitte reaalne saak. Arvestades Eesti 2021. aasta kuiva ja kuuma suve, siis ühest küljest võisid kõrgema g_s väärtusega sordid kaotada rohkem vett. Teisalt, vaadates õhulõhede tundlikkust VPD suhtes, on näha, et neil kõrge g_s -ga sortidel langesid juhtivuse väärtused kõrges VPD-s ka kõige rohkem (kuni 50%), mis oluliselt piirab antud sordi gaasivahetust keskkonnaga. Oletan, et need sordid on saagikamad suvedel, mil mulla veesisaldus on kõrgem ja atmosfääri niiskusevajak madalam. Siis saavad õhulõhed olla rohkem avatud ning netoassimilatsiooni kiirus seetõttu suurem.



Joonis 11. Korrelatsioon minu laborikatsetes saadud õhulõhede juhtivuste keskmiste väärtuste ja Eesti Taimekasvatuse Instituudi 2021. a. suvistel põllukatsetel saadud keskmiste terasaakide vahel. Põllukatsete tehti kahel N väetusel (N75 ja N150) kumbki kahes korduses. Negatiivne lineaarne regressioon keskmiste õhulõhede juhtivuste (g_{s0}) väärtuste ning terasaagi vahel oli statistiliselt oluline. Eraldi on tähistatud isohüdrilised sordid (romb) ja anisohüdrilised sordid (+).

Kõige saagikamad olid sordid 720-3 ja 638-5, mille g_{s0} väärtused olid pigem madalpoolsed - madalam g_s väärtus tähendab ka väiksemat veekadu ajahikus lehepinnalt. Samas nende sortide õhulõhed ei sulgunud laboritingimustes statistiliselt oluliselt kõrge VPD juures. Tegemist on seega anisohüdriliste sortidega, mis pigem loovutavad õhulõhede väiksema reguleerimise tõttu kõrge niiskusevajakuga õhku rohkem vett, ent säilitavad selle abil ka kõrgema CO₂ netoassimilatsiooni kiiruse. Genotüüpide 720-3 ja 638-5 VPD-tundetus, mis

leidis kinnitust kõigis laborikatsetes, võis tingida selle, et suuremal osal päevast funktsioneerisid need liinid põllul hoopis avatumate õhulõhedega ning seega ka assimileerisid süsinikku rohkem. See on väga tõenäoline, arvestades, et näiteks 30°C õhutemperatuuri ja 30% õhu suhtelise niiskuse korral on VPD ligi 3 kPa, mis ületab oluliselt laborikatsete kõrge VPD olukorra (umbes 2kPa). Enam avatud õhulõhedega kaasneb lisaks kõrgemale assimilatsioonile ka suurem jahutav efekt, mis möödunud kuumal suvel oli ilmselt väga oluline.

Tulemus, et madalamate basaalsete õhulõhede juhtivuste väärtustega anisohüdrilised sordid on põllul kõrge VPD tingimustes lahtisemate õhulõhedega ning seega saagikamad, on väga oluline, ent vajab põllumõõtmiste kinnitust.

Kokkuvõte

Nisu on üks tähtsamaid teraviljasid maailmas. Sordiaretures on olulisel kohal teraviljade saagikuse tõstmine järgnevate aastakümnete jooksul. Teadlased on arvamusel, et tulevikus on gaasivahetustunnuste optimeerimine suure potentsiaaliga saagikuse tõstmise osas. Samuti on oluline arvestada kliimamuutuseid, kus temperatuuri kasv ja suhtelise õhuniiskuse langus hakkavad üha enam mõjutama teraviljade saagikust. Antud töös uuriti laboris 4-kambrilise termostateeritud gaasivahetusaparatuuriga 16 NOBALwheat projektist pärit nisu genotüübi õhulõhede juhtivust ja selle muutumist abstsiiishappe (ABA) ja õhu niiskussvajaku (VPD) tõusu mõjul. Katsetaimed olid vegetatiivses kasvufaasis, kus peavõrsel oli 3-4 lehte.

Kuigi uurimisaluste nususortide basaalne õhulõhede juhtivus varieerus umbes kahekordselt, polnud need erinevused enamasti statistiliselt olulised. Kuna õhulõhede juhtivuste väärtuseid võivad mõjutada mitmed kasvukeskkonna tegurid, taime vanus ja õhulõhede käitumise ööpäevane rütm, tuleks selgemate erinevuste saamiseks need tingimused taimede puhul ühtlustada parimal võimalikul moel.

Uurides nususortide õhulõhede vastuseid õhu VPD tõusu ja taimehormoon ABA-ga pitsimise suhtes selgus, et mõnede sortide õhulõhed sulgumisvastused olid nende faktorite suhtes statistiliselt mitteolulised. Sellised nn. anisohüdrilised genotüübid olid näiteks Leedust pärit 720-3 ja 638-5. Sordid, millel oli kõrgem algne õhulõhede juhtivus, olid nii ABA kui ka VPD suhtes tundlikumad: nende õhulõhed sulgusid ABA-ga pitsides või VPD tõstmise järel enim. Sordid, mille õhulõhed olid tundlikumad VPD suhtes, olid tundlikumad ka ABA suhtes: ilmnas statistiliselt oluline positiivne seos õhulõhede ABA ja VPD vastuste vahel.

Eesti Taimekasvatuse Instituut viis 2021. a oma Jõgeva katsealal läbi põldkatsed samade sortidega. Korreleerides terasaaki laboris saadud õhulõhede basaalse juhtivuste väärtustega tuli välja, et 2021. aasta kuival ja kuumal suvel olid saagikamad keskmisest madalamate basaalse õhulõhede juhtivuste väärtustega sordid, mis samas olid statistiliselt tundetud VPD tõusu suhtes. On võimalik, et suvel toimisid need sordid põllul kõrge VPD tingimustes hoopis lahtisemate õhulõhedega ning assimileerisid rohkem.

Minu töö tulemused näitavad põllukultuuride gaasivahetustunnuste varieerumist laboritingimustes ning võimalikke erinevusi õhulõhede regulatsiooni strateegiates. Kui õhulõhede isohüdriline/anisohüdriline käitumine leiab kinnitust ka põllul toimuvates gaasivahetumõõtmistes, siis annab see koos laborikatsete, ilmastiku ning saagiandmetega väga olulist infot sordiaretajatele.

Summary

Stomatal sensitivity to vapour pressure deficit and abscisic acid in Nordic wheat genotypes

Wheat is one of the most important cereals in the world. In next few decades, it is crucial to increase the yield of wheat and other cereals. Research suggests that optimization of gas exchange traits can potentially be used in plant breeding to increase yield. It is also important to take into consideration the effects of the climate change. Due to rising temperatures air moisture holding capacity increases and vapour pressure deficit (VPD) increases. As a result, atmospheric water demand rises and plants start to lose more water through stomata which can affect yield. In current study, 16 different spring wheat cultivars from NOBALwheat project were used to examine their stomatal conductance and stomatal sensitivity to vapour pressure deficit (VPD) and abscisic acid (ABA) in the laboratory conditions.

Basal stomatal conductance values in studied wheat cultivars varied up to two times, however, these differences were not statistically significant. Many factors – age of the plant, time of the day – can affect the stomatal conductance in addition to studied effects of VPD and ABA. Thus, it is crucial to minimise differences in these factors to obtain more stable results which could reveal statistical differences between cultivars.

Studied wheat cultivars showed differences in the sensitivity to ABA and rising VPD. Some cultivars, for example 720-3 and 638-5 from Lithuania, were anisohydric and had statistically non-significant response to these treatments. Cultivars that had higher basal stomatal conductance were more sensitive to ABA and higher VPD. Their stomata closed the most extensively in response to these stimuli. There was a positive correlation between sensitivities to ABA and increased VPD: cultivars that were more sensitive to ABA were also more sensitive to high VPD.

Cultivars were also grown in field experiments conducted by Estonian Crop Research Institute (ECRI) in 2021. The precipitation in June-July of 2021 was lower and mean temperature higher than usual. The highest yield was measured for the cultivars that had lower basal g_s values in the lab and were insensitive to high VPD. It is possible that cultivars that kept their stomata open in high VPD conditions in the field were able to assimilate CO_2 at higher rates and, in result, get higher yields.

Presented lab results show that wheat gas exchange values can vary significantly and also their stomatal regulation can be very different. Provided that documented isohydric/anisohydric strategies would also hold in the field, then these results together with climate and yield data, may give valuable information to crop breeders.

Tänuavaldused

Soovin tänada enda juhendajaid Ebe Merilot ja Egon Meigast, kes olid alati abivalmid ning abivalmid terve töö vältel. Samuti tahan tänada Hannes Kollistit, kes oli valmis mind kaasama oma labori projekti. Suured tänud ka Eesti Taimakasvatuse Instituudile ja nende töötajatele Anne Ingverile ja Ilmar Tammele saagikuse andmete eest. Kõigele lisaks tänan ka kõiki teisi Taimsete signaalide uurimisrühma inimesi, kes aitasid alati, kui tekkis mõni küsimus laboris toimuva kohta või aitasid vältida potentsiaalsete probleemide teket, millele ma ise tähelepanu ei osanud pöörata.

Kasutatud kirjandus

Abhilasha, A. & S. Roy Choudhury (2021). "Molecular and Physiological Perspectives of Abscisic Acid Mediated Drought Adjustment Strategies." Plants (Basel) **10**(12).

Acharya, B. R., B. W. Jeon, W. Zhang & S. M. Assmann (2013). "Open Stomata 1 (OST1) is limiting in abscisic acid responses of Arabidopsis guard cells." New Phytol **200**(4): 1049-1063.

Adie, B. A., J. Perez-Perez, M. M. Perez-Perez, M. Godoy, J. J. Sanchez-Serrano, E. A. Schmelz & R. Solano (2007). "ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in Arabidopsis." Plant Cell **19**(5): 1665-1681.

Bauer, H., P. Ache, S. Lautner, J. Fromm, W. Hartung, K. A. Al-Rasheid, S. Sonnewald, U. Sonnewald, S. Kneitz, N. Lachmann, R. R. Mendel, F. Bittner, A. M. Hetherington & R. Hedrich (2013). "The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis." Curr Biol **23**(1): 53-57.

Belin, C., P. O. de Franco, C. Bourbousse, S. Chaignepain, J. M. Schmitter, A. Vavasseur, J. Giraudat, H. Barbier-Brygoo & S. Thomine (2006). "Identification of features regulating OST1 kinase activity and OST1 function in guard cells." Plant Physiol **141**(4): 1316-1327.

Bhatla, S. C. & M. A. Lal (2018). *Plant Physiology, Development and Metabolism*: 1 online resource (XXXIV, 1237 pages 1707 illustrations, 1431 illustrations in color.).

Boyer, J. S., R. A. James, R. Munns, T. A. G. Condon & J. B. Passioura (2008). "Osmotic adjustment leads to anomalously low estimates of relative water content in wheat and barley." Functional Plant Biology **35**(11): 1172-1182.

Brandt, B., D. E. Brodsky, S. Xue, J. Negi, K. Iba, J. Kangasjarvi, M. Ghassemian, A. B. Stephan, H. Hu & J. I. Schroeder (2012). "Reconstitution of abscisic acid activation of SLAC1 anion channel by CPK6 and OST1 kinases and branched ABI1 PP2C phosphatase action." Proc Natl Acad Sci U S A **109**(26): 10593-10598.

Brandt, B., S. Munemasa, C. Wang, D. Nguyen, T. Yong, P. G. Yang, E. Poretsky, T. F. Belknap, R. Waadt, F. Aleman & J. I. Schroeder (2015). "Calcium specificity signaling mechanisms in abscisic acid signal transduction in Arabidopsis guard cells." Elife **4**.

- Brodribb, T. J. & S. A. McAdam (2011). "Passive origins of stomatal control in vascular plants." Science **331**(6017): 582-585.
- Caemmerer, S. & G. D. Farquhar (1981). "Some Relationships between the Biochemistry of Photosynthesis and the Gas-Exchange of Leaves." Planta **153**(4): 376-387.
- Cai, S., G. Chen, Y. Wang, Y. Huang, D. B. Marchant, Y. Wang, Q. Yang, F. Dai, A. Hills, P. J. Franks, E. Nevo, D. E. Soltis, P. S. Soltis, E. Sessa, P. G. Wolf, D. Xue, G. Zhang, B. J. Pogson, M. R. Blatt & Z. H. Chen (2017). "Evolutionary Conservation of ABA Signaling for Stomatal Closure." Plant Physiol **174**(2): 732-747.
- Chater, C., K. Peng, M. Movahedi, J. A. Dunn, H. J. Walker, Y. K. Liang, D. H. McLachlan, S. Casson, J. C. Isner, I. Wilson, S. J. Neill, R. Hedrich, J. E. Gray & A. M. Hetherington (2015). "Elevated CO₂-Induced Responses in Stomata Require ABA and ABA Signaling." Curr Biol **25**(20): 2709-2716.
- Chen, C., Y. G. Xiao, X. Li & M. Ni (2012). "Light-Regulated Stomatal Aperture in Arabidopsis." Mol Plant **5**(3): 566-572.
- Christmann, A., E. W. Weiler, E. Steudle & E. Grill (2007). "A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage." Plant J **52**(1): 167-174.
- Collins, M. J., S. Fuentes & E. W. R. Barlow (2010). "Partial rootzone drying and deficit irrigation increase stomatal sensitivity to vapour pressure deficit in anisohydric grapevines." Functional Plant Biology **37**(2): 128-138.
- Cornish, K. & J. A. Zeevaart (1985). "Abscisic Acid Accumulation by Roots of *Xanthium strumarium* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. in Relation to Water Stress." Plant Physiol **79**(3): 653-658.
- Davies, W. J. & J. H. Zhang (1991). "Root Signals and the Regulation of Growth and Development of Plants in Drying Soil." Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **42**: 55-76.
- Demir, F., C. Horntrich, J. O. Blachutzik, S. Scherzer, Y. Reinders, S. Kierszniowska, W. X. Schulze, G. S. Harms, R. Hedrich, D. Geiger & I. Kreuzer (2013). "Arabidopsis nanodomain-delimited ABA signaling pathway regulates the anion channel SLAH3." Proc Natl Acad Sci U S A **110**(20): 8296-8301.

- Dreyer, I., J. L. Gomez-Porras, D. M. Riano-Pachon, R. Hedrich & D. Geiger (2012). "Molecular Evolution of Slow and Quick Anion Channels (SLACs and QUACs/ALMTs)." Front Plant Sci **3**: 263.
- Driever, S. M., T. Lawson, P. J. Andralojc, C. A. Raines & M. A. Parry (2014). "Natural variation in photosynthetic capacity, growth, and yield in 64 field-grown wheat genotypes." J Exp Bot **65**(17): 4959-4973.
- Endo, A., Y. Sawada, H. Takahashi, M. Okamoto, K. Ikegami, H. Koiwai, M. Seo, T. Toyomasu, W. Mitsuhashi, K. Shinozaki, M. Nakazono, Y. Kamiya, T. Koshihara & E. Nambara (2008). "Drought induction of Arabidopsis 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells." Plant Physiol **147**(4): 1984-1993.
- Faralli, M. & T. Lawson (2020). "Natural genetic variation in photosynthesis: an untapped resource to increase crop yield potential?" Plant Journal **101**(3): 518-528.
- Farquhar, G. D. & T. D. Sharkey (1982). "Stomatal conductance and photosynthesis." Annual review of plant physiology **33**(1): 317-345.
- Ficklin, D. L. & K. A. Novick (2017). "Historic and projected changes in vapor pressure deficit suggest a continental-scale drying of the United States atmosphere." Journal of Geophysical Research-Atmospheres **122**(4): 2061-2079.
- Fischer, R. A., D. Rees, K. D. Sayre, Z. M. Lu, A. G. Condon & A. L. Saavedra (1998). "Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies." Crop Science **38**(6): 1467-1475.
- Franks, P. J. & G. D. Farquhar (2007). "The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control." Plant Physiol **143**(1): 78-87.
- Geiger, D., T. Maierhofer, K. A. Al-Rasheid, S. Scherzer, P. Mumm, A. Liese, P. Ache, C. Wellmann, I. Marten, E. Grill, T. Romeis & R. Hedrich (2011). "Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1." Sci Signal **4**(173): ra32.
- Geiger, D., S. Scherzer, P. Mumm, I. Marten, P. Ache, S. Matschi, A. Liese, C. Wellmann, K. A. Al-Rasheid, E. Grill, T. Romeis & R. Hedrich (2010). "Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca²⁺ affinities." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(17): 8023-8028.

- Geiger, D., S. Scherzer, P. Mumm, A. Stange, I. Marten, H. Bauer, P. Ache, S. Matschi, A. Liese, K. A. Al-Rasheid, T. Romeis & R. Hedrich (2009). "Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(50): 21425-21430.
- Guzel Deger, A., S. Scherzer, M. Nuhkat, J. Kedzierska, H. Kollist, M. Brosche, S. Unyayar, M. Boudsocq, R. Hedrich & M. R. Roelfsema (2015). "Guard cell SLAC1-type anion channels mediate flagellin-induced stomatal closure." New Phytol **208**(1): 162-173.
- Harrison, M. A. & D. C. Walton (1975). "Abscisic Acid Metabolism in Water-stressed Bean Leaves." Plant Physiol **56**(2): 250-254.
- Hetherington, A. M. & F. I. Woodward (2003). "The role of stomata in sensing and driving environmental change." Nature **424**(6951): 901-908.
- Holbrook, N. M., V. R. Shashidhar, R. A. James & R. Munns (2002). "Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying." J Exp Bot **53**(373): 1503-1514.
- Hörak, H., H. Kollist & E. Merilo (2017). "Fern Stomatal Responses to ABA and CO₂ Depend on Species and Growth Conditions." Plant Physiol **174**(2): 672-679.
- Hsu, P. K., Y. Takahashi, E. Merilo, A. Costa, L. Zhang, K. Kernig, K. H. Lee & J. I. Schroeder (2021). "Raf-like kinases and receptor-like (pseudo)kinase GHR1 are required for stomatal vapor pressure difference response." Proc Natl Acad Sci U S A **118**(47).
- Hunt, L., M. Fuksa, K. Klem, Z. Lhotakova, M. Oravec, O. Urban & J. Albrechtova (2021). "Barley Genotypes Vary in Stomatal Responsiveness to Light and CO₂ Conditions." Plants-Basel **10**(11).
- Imes, D., P. Mumm, J. Bohm, K. A. Al-Rasheid, I. Marten, D. Geiger & R. Hedrich (2013). "Open stomata 1 (OST1) kinase controls R-type anion channel QUAC1 in Arabidopsis guard cells." Plant J **74**(3): 372-382.
- Israelsson, M., R. S. Siegel, J. Young, M. Hashimoto, K. Iba & J. I. Schroeder (2006). "Guard cell ABA and CO₂ signaling network updates and Ca²⁺ sensor priming hypothesis." Current Opinion in Plant Biology **9**(6): 654-663.
- Jalakas, P., E. Merilo, H. Kollist & M. Brosche (2018). "ABA-mediated regulation of stomatal density is OST1-independent." Plant Direct **2**(9): e00082.

- Jalakas, P., M. Nuhkat, T. Vahisalu, E. Merilo, M. Brosche & H. Kollist (2021b). "Combined action of guard cell plasma membrane rapid- and slow-type anion channels in stomatal regulation." Plant Physiol **187**(4): 2126-2133.
- Jalakas, P., Y. Takahashi, R. Waadt, J. I. Schroeder & E. Merilo (2021). "Molecular mechanisms of stomatal closure in response to rising vapour pressure deficit." New Phytol **232**(2): 468-475.
- Kamboj, A., M. Ziemann & M. Bhave (2015). "Identification of salt-tolerant barley varieties by a consolidated physiological and molecular approach." Acta physiologiae plantarum **37**(1): 1-12.
- Kobayashi, Y., H. Ando, M. Hanaoka & K. Tanaka (2016). "Abscisic Acid Participates in the Control of Cell Cycle Initiation Through Heme Homeostasis in the Unicellular Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*." Plant Cell Physiol **57**(5): 953-960.
- Koiwai, H., K. Nakaminami, M. Seo, W. Mitsuhashi, T. Toyomasu & T. Koshiba (2004). "Tissue-specific localization of an abscisic acid biosynthetic enzyme, AAO3, in Arabidopsis." Plant Physiol **134**(4): 1697-1707.
- Kollist, H., M. Nuhkat & M. R. G. Roelfsema (2014). "Closing gaps: linking elements that control stomatal movement." New Phytologist **203**(1): 44-62.
- Kriedemann, P. E., B. R. Loveys, G. L. Fuller & A. C. Leopold (1972). "Abscisic Acid and stomatal regulation." Plant Physiol **49**(5): 842-847.
- Kushiro, T., M. Okamoto, K. Nakabayashi, K. Yamagishi, S. Kitamura, T. Asami, N. Hirai, T. Koshiba, Y. Kamiya & E. Nambara (2004). "The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism." EMBO J **23**(7): 1647-1656.
- Lee, S. C., W. Lan, B. B. Buchanan & S. Luan (2009). "A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(50): 21419-21424.
- Lehmann, H. & H. R. Schutte (1984). "Abscisic Acid Metabolism in Intact Wheat Seedlings under Normal and Stress Conditions." J Plant Physiol **117**(3): 201-209.
- Li, S. & F. Liu (2022). "Vapour pressure deficit and endogenous ABA level modulate stomatal responses of tomato plants to soil water deficit." Environmental and Experimental Botany: 104889.

- Lobell, D. B., G. L. Hammer, G. McLean, C. Messina, M. J. Roberts & W. Schlenker (2013). "The critical role of extreme heat for maize production in the United States." Nature Climate Change **3**(5): 497-501.
- Lu, N., E. L. Bernardo, C. Tippayadarapanich, M. Takagaki, N. Kagawa & W. Yamori (2017). "Growth and Accumulation of Secondary Metabolites in Perilla as Affected by Photosynthetic Photon Flux Density and Electrical Conductivity of the Nutrient Solution." Front Plant Sci **8**.
- Ma, Y., I. Szostkiewicz, A. Korte, D. Moes, Y. Yang, A. Christmann & E. Grill (2009). "Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors." Science **324**(5930): 1064-1068.
- MacRobbie, E. A. C. (1981). "Effects of Aba in Isolated Guard-Cells of *Commelina-Communis* L." J Exp Bot **32**(128): 563-572.
- Manzi, M., J. Lado, M. J. Rodrigo, L. Zacarias, V. Arbona & A. Gomez-Cadenas (2015). "Root ABA Accumulation in Long-Term Water-Stressed Plants is Sustained by Hormone Transport from Aerial Organs." Plant Cell Physiol **56**(12): 2457-2466.
- McAdam, S. A. & T. J. Brodribb (2015). "The evolution of mechanisms driving the stomatal response to vapor pressure deficit." Plant Physiol **167**(3): 833-843.
- McAdam, S. A. & T. J. Brodribb (2016c). "Linking Turgor with ABA Biosynthesis: Implications for Stomatal Responses to Vapor Pressure Deficit across Land Plants." Plant Physiol **171**(3): 2008-2016.
- McAdam, S. A., F. C. Susmilch & T. J. Brodribb (2016a). "Stomatal responses to vapour pressure deficit are regulated by high speed gene expression in angiosperms." Plant Cell Environ **39**(3): 485-491.
- McAdam, S. A. M., T. J. Brodribb, J. A. Banks, R. Hedrich, N. M. Atallah, C. Cai, M. A. Geringer, C. Lind, D. S. Nichols, K. Stachowski, D. Geiger & F. C. Susmilch (2016b). "Abscisic acid controlled sex before transpiration in vascular plants." Proc Natl Acad Sci U S A **113**(45): 12862-12867.
- Mei, X. R., X. L. Zhong, V. Vincent & X. Y. Liu (2013). "Improving Water Use Efficiency of Wheat Crop Varieties in the North China Plain: Review and Analysis." Journal of Integrative Agriculture **12**(7): 1243-1250.

- Melotto, M., W. Underwood, J. Koczan, K. Nomura & S. Y. He (2006). "Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion." Cell **126**(5): 969-980.
- Merilo, E., D. Yarmolinsky, P. Jalakas, H. Parik, I. Tulva, B. Rasulov, K. Kilk & H. Kollist (2018). "Stomatal VPD Response: There Is More to the Story Than ABA." Plant Physiol **176**(1): 851-864.
- Moody, L. A., Y. Saidi, D. J. Gibbs, A. Choudhary, D. Holloway, E. F. Vesty, K. K. Bansal, S. J. Bradshaw & J. C. Coates (2016). "An ancient and conserved function for Armadillo-related proteins in the control of spore and seed germination by abscisic acid." New Phytol **211**(3): 940-951.
- Mott, K. A. & T. N. Buckley (2000). "Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata." Trends Plant Sci **5**(6): 258-262.
- Nambara, E. & A. Marion-Poll (2005). "Abscisic acid biosynthesis and catabolism." Annual Review of Plant Biology **56**: 165-185.
- Ng, L. M., F. F. Soon, X. E. Zhou, G. M. West, A. Kovach, K. M. Suino-Powell, M. J. Chalmers, J. Li, E. L. Yong, J. K. Zhu, P. R. Griffin, K. Melcher & H. E. Xu (2011). "Structural basis for basal activity and autoactivation of abscisic acid (ABA) signaling SnRK2 kinases." Proc Natl Acad Sci U S A **108**(52): 21259-21264.
- Onyemaobi, O., H. Sangma, G. Garg, X. Wallace, S. Kleven, P. Suwanchaikasem, U. Roessner & R. Dolferus (2021). "Reproductive Stage Drought Tolerance in Wheat: Importance of Stomatal Conductance and Plant Growth Regulators." Genes (Basel) **12**(11).
- Pardo, J. M. (2010). "Biotechnology of water and salinity stress tolerance." Current Opinion in Biotechnology **21**(2): 185-196.
- Park, S. Y., P. Fung, N. Nishimura, D. R. Jensen, H. Fujii, Y. Zhao, S. Lumba, J. Santiago, A. Rodrigues, T. F. Chow, S. E. Alfred, D. Bonetta, R. Finkelstein, N. J. Provart, D. Desveaux, P. L. Rodriguez, P. McCourt, J. K. Zhu, J. I. Schroeder, B. F. Volkman & S. R. Cutler (2009). "Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins." Science **324**(5930): 1068-1071.
- Pierce, M. & K. Raschke (1980). "Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves." Planta **148**(2): 174-182.

- Qin, X. & J. A. Zeevaart (1999). "The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(26): 15354-15361.
- Quarrie, S. A. & H. G. Jones (1977). "Effects of Abscisic Acid and Water Stress on Development and Morphology of Wheat." J Exp Bot **28**(1): 192-203.
- Raghavendra, A. S., V. K. Gonugunta, A. Christmann & E. Grill (2010). "ABA perception and signalling." Trends Plant Sci **15**(7): 395-401.
- Ray, D. K., N. Ramankutty, N. D. Mueller, P. C. West & J. A. Foley (2012). "Recent patterns of crop yield growth and stagnation." Nat Commun **3**: 1293.
- Ren, H., Z. Gao, L. Chen, K. Wei, J. Liu, Y. Fan, W. J. Davies, W. Jia & J. Zhang (2007). "Dynamic analysis of ABA accumulation in relation to the rate of ABA catabolism in maize tissues under water deficit." J Exp Bot **58**(2): 211-219.
- Reynolds, M. P., M. Balota, M. I. B. Delgado, I. Amani & R. A. Fischer (1994). "Physiological and Morphological Traits Associated with Spring Wheat Yield under Hot, Irrigated Conditions." Australian Journal of Plant Physiology **21**(6): 717-730.
- Roche, D. (2015). "Stomatal Conductance Is Essential for Higher Yield Potential of C-3 Crops." Critical Reviews in Plant Sciences **34**(4): 429-453.
- Saito, S., N. Hirai, C. Matsumoto, H. Ohigashi, D. Ohta, K. Sakata & M. Mizutani (2004). "Arabidopsis CYP707As encode (+)-abscisic acid 8'-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid." Plant Physiol **134**(4): 1439-1449.
- Schoppach, R. & W. Sadok (2012). "Differential sensitivities of transpiration to evaporative demand and soil water deficit among wheat elite cultivars indicate different strategies for drought tolerance." Environmental and Experimental Botany **84**: 1-10.
- Setter, T. L., W. A. Brun & M. L. Brenner (1980). "Effect of obstructed translocation on leaf abscisic Acid, and associated stomatal closure and photosynthesis decline." Plant Physiol **65**(6): 1111-1115.
- Sharma, I., B. S. Tyagi, G. Singh, K. Venkatesh & O. P. Gupta (2015). "Enhancing wheat production- A global perspective." Indian Journal of Agricultural Sciences **85**(1): 3-13.

- Shen, L., P. Sun, V. C. Bonnell, K. J. Edwards, A. M. Hetherington, M. R. McAinsh & M. R. Roberts (2015). "Measuring stress signaling responses of stomata in isolated epidermis of graminaceous species." Front Plant Sci **6**.
- Soon, F. F., L. M. Ng, X. E. Zhou, G. M. West, A. Kovach, M. H. Tan, K. M. Suino-Powell, Y. He, Y. Xu, M. J. Chalmers, J. S. Brunzelle, H. Zhang, H. Yang, H. Jiang, J. Li, E. L. Yong, S. Cutler, J. K. Zhu, P. R. Griffin, K. Melcher & H. E. Xu (2012). "Molecular mimicry regulates ABA signaling by SnRK2 kinases and PP2C phosphatases." Science **335**(6064): 85-88.
- Takahashi, Y., J. Zhang, P. K. Hsu, P. H. O. Ceciliato, L. Zhang, G. Dubeaux, S. Munemasa, C. Ge, Y. Zhao, F. Hauser & J. I. Schroeder (2020). "MAP3Kinase-dependent SnRK2-kinase activation is required for abscisic acid signal transduction and rapid osmotic stress response." Nat Commun **11**(1): 12.
- Takezawa, D., K. Komatsu & Y. Sakata (2011). "ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone?" J Plant Res **124**(4): 437-453.
- Tardieu, F. & T. Simonneau (1998). "Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours." J Exp Bot **49**: 419-432.
- Umezawa, T., N. Sugiyama, M. Mizoguchi, S. Hayashi, F. Myouga, K. Yamaguchi-Shinozaki, Y. Ishihama, T. Hirayama & K. Shinozaki (2009). "Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in Arabidopsis." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(41): 17588-17593.
- Vlad, F., S. Rubio, A. Rodrigues, C. Sirichandra, C. Belin, N. Robert, J. Leung, P. L. Rodriguez, C. Lauriere & S. Merlot (2009). "Protein phosphatases 2C regulate the activation of the Snf1-related kinase OST1 by abscisic acid in Arabidopsis." Plant Cell **21**(10): 3170-3184.
- Wang, D. D., F. F. Huang, P. C. Yan, Y. L. Nie, L. Chen, J. Luo, H. P. Zhao, Y. D. Wang & S. C. Han (2022). "Cytosolic and Nucleosolic Calcium-Regulated Molecular Networks in Response to Long-Term Treatment with Abscisic Acid and Methyl Jasmonate in Arabidopsis thaliana." Genes (Basel) **13**(3).
- Wollenweber, B., J. R. Porter & J. Schellberg (2003). "Lack of interaction between extreme high-temperature events at vegetative and reproductive growth stages in wheat." Journal of Agronomy and Crop Science **189**(3): 142-150.

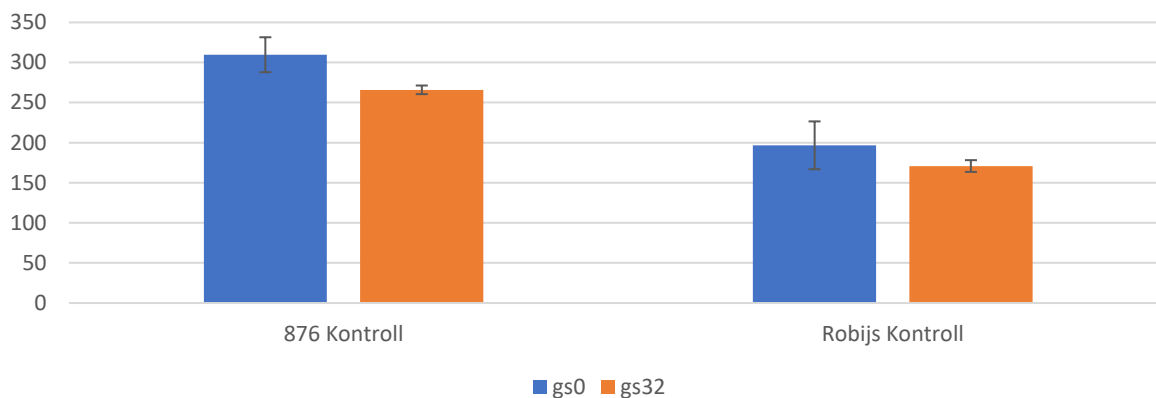
- Yoshida, R., T. Hobo, K. Ichimura, T. Mizoguchi, F. Takahashi, J. Aronso, J. R. Ecker & K. Shinozaki (2002). "ABA-activated SnRK2 protein kinase is required for dehydration stress signaling in Arabidopsis." Plant Cell Physiol **43**(12): 1473-1483.
- Yoshida, R., T. Umezawa, T. Mizoguchi, S. Takahashi, F. Takahashi & K. Shinozaki (2006). "The regulatory domain of SRK2E/OST1/SnRK2.6 interacts with ABI1 and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in Arabidopsis." Journal of Biological Chemistry **281**(8): 5310-5318.
- Zeevaart, J. A. (1980). "Changes in the Levels of Abscisic Acid and Its Metabolites in Excised Leaf Blades of Xanthium strumarium during and after Water Stress." Plant Physiol **66**(4): 672-678.
- Zhang, J. H., U. Schurr & W. J. Davies (1987). "Control of Stomatal Behavior by Abscisic-Acid Which Apparently Originates in the Roots." J Exp Bot **38**(192): 1174-1181.
- Zhang, X. Y., D. Pei & C. S. Hu (2003). "Conserving groundwater for irrigation in the North China Plain." Irrigation Science **21**(4): 159-166.
- Zhang, Y. J., F. E. Rockwell, A. C. Graham, T. Alexander & N. M. Holbrook (2016). "Reversible Leaf Xylem Collapse: A Potential "Circuit Breaker" against Cavitation." Plant Physiol **172**(4): 2261-2274.

Kasutatud veebiaadressid

- FAOSTAT (seisuga 23.03.2022): <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Keskkonnaagentuur (seisuga 01.01.2022):
<https://www.ilmateenistus.ee/kliima/ajaloolised-ilmaandmed/>

Lisad

Õhulõhede tundlikkus kontroll lahusega pritsimisele (PPFD =
500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$



Lisa 1. Kahe valitud nisusordi õhulõhede juhtivuste väärtused (keskmine \pm standardviga) enne kontroll lahusega pritsimist (gs0) ja 32 minutit (gs32) pärast pritsimist. Mõlema sordi puhul jäid õhulõhede juhtivuse väärtuste muutused 15-17% vahele, mis ei olnud statistiliselt oluline. n = 4

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kristo Ets, annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose “Põhja- ja baltimaade nisuliinide õhulõhede tundlikkus õhu niiskustajaku ning abstsiihappe suhtes“, mille juhendajad on Ebe Merilo ja Egon Meigas, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

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

Kristo Ets

30.05.2022