

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND
Ökoloogia ja maateaduste instituut
Botaanika osakond

Alice Aaviksoo

**VEETRANSPOORT KSÜLEEMIS JA SELLE UURIMINE PUITTAIMEDES
AKUSTILISE MEETODIGA**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: dots. Arne Sellin

Tartu 2014

Sisukord

1. Sissejuhatus.....	3
2. Juhtkudede üldised omadused	4
2.1. Vee liikumine ksüleemis	4
2.2. Ksüleemi veetranspordi kohesiooni-tõmbe mehhanism	6
3. Veessammaste katkemine puidus	8
3.1. Kavitatsiooni mehhanism ja tekkepõhjused	9
3.2. „Õhuleviku“ hüpotees	10
4. Meetodid kavitatsiooni kvantitatiivseks hindamiseks	12
4.1. Taime veetustamine ja ksüleemi haavatavust kirjeldavad kõverad.....	12
4.1.1. Veetustamine kuivatuspingil	14
4.1.2. Veetustamine õhusurve meetodiga	14
4.1.3. Veetustamine tsentrifugaaljõu rakendamisega	14
4.2. Kavitatsiooni kvantitatiivne määramine hüdraulilisel meetodil	15
4.3. Kavitatsiooni kvantitatiivne määramine akustilisel meetodil	16
5. Akustilise meetodi analüüs	18
5.1. Tehnilised lahendused kavitatsioonisündmuste detekteerimiseks	18
5.2. Veerežiimi analüüsiks vajaminevad lisamõõtmised	19
5.3. Mõõtmisvigade ennetamine	20
5.4. Akustilise meetodiga töötades kasutatavad taimeliigid.....	21
5.5. Akustilise meetodi praktiline väljund	22
6. Arutelu	25
7. Kokkuvõtte	28
8. Tänuavaldused	29
9. Summary in English	30
10. Kasutatud kirjandus.....	31

1. Sissejuhatus

Käesolevas töös antakse esmakordselt eesti keeles ülevaade taimede veerežiimi uurimisest akustilisel meetodil. Olgugi, et taimede veerežiimi on tõsisemalt uuritud juba enam kui sajand, on teema jätkuvalt huviorbiidis, kuid nüüd on kasutada uuemad ja paremad seadmed, mis võimaldavad ka akustiliste meetodite kasutamist uurimistöös. Töö põhineb inglisekeelsel teaduskirjandusel.

Puittaimede juhtkudede uurimine võimaldab hinnata taimede veetranspordi toimimise tõhusust ja seda mõjutavaid faktoreid, samuti taimede vastupidavust veedefitsiidile. Taime elumuse kohalt on see väga oluline – piisava veega varustatuse korral suudab taim omastada süsihappegaasi ja toota endale kasvamiseks vajaliku koguse toitaineid.

Taimeriigi evolutsiooni käigus arenesid välja kaht eri veekasutamise strateegiat kasutavad taimed: äärmuslikku kuivust taluvad taimed ja seda mittetaluvad, kõrgema veesisaldusega taimed (Schulze 2005). Käesolev referatiivne töö annab lühiülevaate viimasena nimetatud taimede veetranspordi toimimisest ja võimalustest selle uurimiseks akustilisel meetodil.

Töös kirjeldatakse kõigepealt juhtkudede põhilisi omadusi ja selgitatakse, kuidas toimub ksüleemitransport. Seejärel kirjeldatakse ksüleemi kavitatsiooni kui nähtuse olemust, ning selgitatakse, kuidas probleemi teaduslikult käsitletakse ja antakse põgus ülevaade kavitatsiooni uurimise võimalustest. Viimaks selgitatakse puittaimede veerežiimi uurimist akustilisel meetodil ja selle praktilisi väljundeid.

2. Juhtkudede üldised omadused

Taime veetranspordi toimimise eelduseks on funktsionaalsed juhtkoed. Juhtkudede hulka kuuluvad elusatest rakkudest koosnev floem ja surnud rakkudest koosnev ksüleem, samuti piimasooned. Ksüleemis on rakukestad lignifitseerunud ja paksu teisese kestaga. Jäikus ja tugevus on vajalikud, et vastu pidada alarõhust tingitud mehhaanilisele pingele. Teatud olukordades käituvad juhtkoe elementide kestad taime keha toestajatena – eriti puittaimede varres. Floemi rakukestad on õhukesed ja mitte-lignifitseerunud, mis on vajalik selleks, et vastu pidada ülerõhu survele. Ksüleemis ühendavad juhtelemente rakukestades leiduvad poorid. Pooride omadused – nende suurus, kuju, membraani ehitus, servakõrgendi olemasolu, pooride paiknemine membraanis, piirneva rakukesta paksus – määravad taimede hüdraulilise juhtivuse ja on ühtlasi keskkonnaga kohanemise tulemuseks. Membraanipooridest olenev hüdrauliline juhtivus on otseselt seotud liikidevaheliste ökoloogiliste erinevustega (Nardini *et al.* 2011).

2.1. Vee liikumine ksüleemis

Tüvendtaimed ehk kormofüüdid on võimelised säilitama elusates kudedes suurt vee kogust sõltumata välise atmosfääri kuivadest tingimustest. Kormofüütidel on veemajandus jaotatud eri organite vahel: juured imavad vett, ksüleem tüves ja okstes vastutab vee transpordi eest ning lehed ja fülloodid tagavad vee aurustumise ja süsihappegaasi sidumise samaaegselt. Taime floemirakud säilitavad endas suuri veevarusid, mis toimivad puhvrina ning aitavad kriitilises olukorras säilitada kogu taime veebilansi tasakaalus.

Transpiratsiooni käigus kaotab taim pidevalt lehtede kaudu vett. Kadu tuleb kompenseerida, et ennetada ärakuivamist, mistõttu imatakse mullast vett ja transporditakse ksüleemis – surnud puidukoes, mööda trahheesid ja trahheiide, hõõrdetakistust ja gravitatsioonijõudu ületades taime lehtedeni. Veetransport taimedes on passiivtransport: selle käivitab veepotentsiaali gradient süsteemis muld-taim-atmosfäär ja kohesioonijõud veemolekulide vahel.

Ksüleemi ülesanne on transportida suuri vee ja lahuste koguseid, mis on võimalik tänu veevoolule suhteliselt madala takistusega „torude“ süsteemile. Kuna vee liikumise juhtivaks jõuks on rõhugradient ja vedelik peab liikuma hõõrdetakistust ületades gravitatsioonijõule vastassuunas, peavad trahheede ja trahheiidide rakukestad olema tugevdatud. Ühelt poolt on oluline lekete minimeerimine (võimalikult lekkekindlad seinad), teisalt on vajalik vee ja lahuste kontakt juhtkoele välise keskkonna ja külgnevate rakkudega. Veetranspordi toimimiseks ksüleemis on oluline ennetada gaasimullide teket ehk embolismi (De Boer & Volkov 2003).

Ksüleemi struktuur on kohandunud vee transportimisele suures hulgas negatiivse rõhu all. Surnud trahheed ja trahheiidid moodustavad surnud rakkude kestadest torude süsteemi. Paljas- ja katteseemnetaimede ksüleemi anatoomiline ehitus on erinev. Paljasseemnetaimede puit (näiteks must mänd, *Pinus nigra*) on homogeense ehitusega – trahheiidid täidavad transpordi ülesannet ja toimivad struktuurse tugisüsteemina, katteseemnetaimede (näiteks saarvaher, *Acer negundo*) ksüleem on rohkem spetsialiseerunud – veetranspordis osalevad trahheed ja mehhaaniline tugevus saavutatakse puidukiududega.

Individaalsed juhtelemendid on omavahel ühendatud, moodustades sel viisil kompleksseid püsiühendusi (kontiinumeid) imijuurest lehe kõige peenemate juhtkimpudeni välja. Vesi kulgeb ühest juhtelemendist teise rakukestades paiknevate pooride kaudu, mis koosnevad poorsest membraanist (moodustub rakukestast ja külgnevast kesklamellist) ja osaliselt ülekaarduvast sekundaarsest rakukestast. Need poorid toimivad kontroll-klappidena, lubades veel liikuda juhtelementide vahel, hoides samal ajal ära õhulekked juhtkudede vigastuste korral. Juhtelemendid on ühendatud pooride kaudu ka külgnevate rakkudega, mis ei oma juhtkoe omadusi.

Floeemi juhtelementide ehitus erineb totaalselt ksüleemi juhtelementide ehitusest. Floeemis transporditakse toitaineid positiivse rõhu juures aktiivmeetoditel, s.t. taim kasutab selleks ATP energiat (Hacke & Sperry 2001). Floeemi rakud on elusad, mis on vajalik osmootse gradiendi säilitamiseks ning toit- ja mineraalainete transpordisüsteemi lekete eest kaitsmiseks. Ühendused rakkude vahel toimivad ka siin kui kontrollklapid: hõlbustavad

juhtelementide vahelist veeliikumist, kuid kaitsevad väljalekete eest kahjustuste korral (Hacke & Sperry 2001).

Kaheidulehelistel, paljasseemnetaimedel ja sõnajalgtaimedel saadud andmete kohaselt ei pruugi ksüleemi veetransport lõpuni passiivprotsess olla. Ksüleemi hüdraulilise juhtivuse lühiajalistes muutustes võib oluline roll olla kationide kontsentratsioonil ksüleemimahlas (Larcher 2003). Esineb ioonne efekt, mis on liigspetsiifiline ja sõltub aastaegadest. loonse efekti funktsionaalne roll taimedes on seotud floeemi ja ksüleemi koostoimimisega. Mineraalaineid transporditakse taimes nii floeemis kui ksüleemis: ksüleemi ülesanne on transportida mineraalaineid taime juurtest lehtedesse, floeemi ülesanne on taimes olevad mineraalained ümber paigutada.

Ksüleemi hüdraulilised omadused muutuvad vastavalt ksüleemimahla koostise varieerumisele nii päevade kui aastaegade lõikes. Intensiivse transpiratsiooni perioodil võib lühiajaliselt hüdraulilist juhtivust ksüleemis reguleerida näiteks ksüleemimahla ioonse kontsentratsiooni tõus. See suurendab hüdraulilist juhtivust ja aitab ennetada veepotentsiaali langust ning taime kuivamist (Nardini *et al.* 2011).

2.2. Ksüleemi veetranspordi kohesiooni-tõmbe mehhanism

Veetranspordi kohesiooniteooria selgitab, kuidas saab toimida süsteemi muld-taim-atmosfäär pidevus, ilma et taim energeetiliselt panustama peaks (Larcher 2003).

Kohesiooni-tõmbe mehhanismi puhul on tegemist passiivse protsessiga, mis ei nõua taimelt energiat. Taim omastab süsihappegaasi õhulõhede kaudu ja suur osa kogu veest, mis taim juurte kaudu saab, läheb kaduma transpiratsiooni käigus, seda ei kasutata otseselt kasvuks ega fotosünteesiks. Taimel on energeetiliselt efektiivsem selles protsessis aktiivselt mitte osaleda. Üldaktsepteeritud kohesiooniteooria kohaselt (Hacke & Sperry 2001) aurustub vesi lehe mesofüllirakkude pinnalt, mis nihutab õhu-vee piirpinna rakukestade membraanipooridesse. Kapillaarjõud takistavad pooridevahelise õhu-vee piirpinnal meniski tagasitõmbumist ja tagavad veesamba katkematuse negatiivse hüdrostaatilise jõu mõjul. See imavusjõud tõmbab mullast vee ksüleemi.

Imavusjõud sõltub rakukestade vaheliste pooride diameetrist, mitte ksüleemi juhtelementide läbimõõdust (Hacke & Sperry 2001). Maksimaalne imavusrõhk, mida õhk-vesi piirpind suudab hoida, on pöördvõrdeline poori raadiusega:

$$\Delta P = \frac{(2T \cos \alpha)}{r_p}$$

(1)

kus T on vee pindpinevus, α on kontaktnurk veekile ja pooriseina vahel, ΔP on imavusrõhk (ingl. k. *suction pressure*) ja r_p poori raadius.

Kitsad rakukesta poorid kombineerituna pikkade ksüleemi juhtelementidega moodustavad võimsa rõhutekke mehhanismi. Hagen-Poiseuille võrrandist on näha, et raadiuse muutumine põhjustab muljetavaldavalt muutust voolukiiruses:

$$V = \frac{\Delta P \times \pi \times r^4}{8 \times L \times \eta}$$

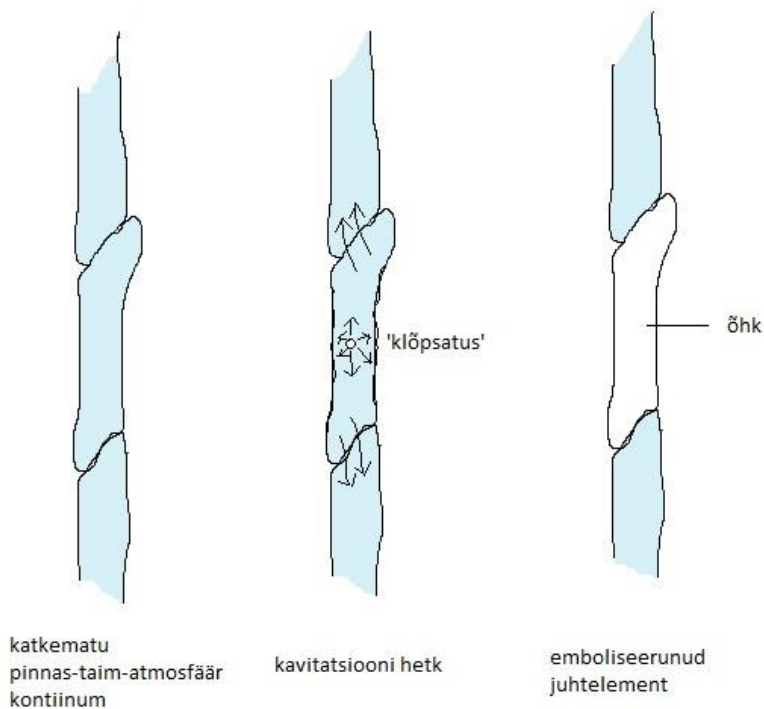
(2)

kus V on veevoolu ruumkiirus, ΔP rõhkude erinevus lõigu otstel, r kapillaari raadius, L kapillaari pikkus ja η vedeliku dünaamiline viskoossus.

Vool on võrdeline voolu põhjustavate rõhkude vahelise lõigu otstel ja kapillaari raadiuse neljanda astmega ning pöördvõrdeline kapillaari pikkuse ja vedeliku viskoossusega (Hacke & Sperry 2001).

3. Veessammaste katkemine puidus

Veetranspordisüsteemi toimimine tagab lehtede adekvaatse veevarustuse, võimaldab fotosünteesil toota vajamineva koguse süsinikku ning seeläbi taimel kasvada. Kavitatsiooniks nimetatakse füüsikalist nähtust, mille korral toimub vedelikku mõjutavate jõudude, näiteks rõhumuutuse toimel trahheedes/trahheiidides veesammaste katkemine. See katkemine saab alguse õhumullidest, mille n.ö. plahvatamisel levib miniatuurne lööklaine. Kavitatsioon ehk veesamba katkemine õhumulli tekkimisel esineb taimedes juhul, kui ksüleemi juhtelementides muutub tõmme nii suureks, et ksüleemimahlas lahustunud õhk eraldub gaasilisel kujul ja täidab hetkeliselt juhtelemendi. Katkeb püsiv veeühendus (hüdrauliline kontiinuum) juurte ja lehtede vahel, juhtelemendid on täidetud veeauru ja õhuga. Sellist nähtust nimetatakse embolismiks (Vilgarosa *et al.* 2012).



Joon. 1. Kavitatsioon ja embolism ksüleemi juhtelementides (Sperry 1993 järgi). Vasakpoolne joonis illustreerib ksüleemi juhtelementide veega täidetud seisundit – katkematut veesammast. Keskmine joonis illustreerib kavitatsiooni hetke ehk hetke, mil veesammast katkeb. Parempoolne joonis illustreerib embolismi seisundit ehk siis olukorda, kui juhtelement on täitunud veeauru ja õhuga.

3.1. Kavitatsiooni mehhanism ja tekkepõhjused

Kavitatsioon on taimede igapäevaelus tavaline sündmus, mis võib lõppeda ka taime täieliku kuivamisega (Larcher 2003). Soontaimedes saab kavitatsiooni esinemist kirjeldada taime anatoomia ja väliskeskkonnas esinevate muutuste omavahelise seosega.

Põua ajal muld kuivab ja selle hüdrauliline juhtivus on väga madal, juured on ümbritsetud õhuga ja kapillaarjõud katkevad, taim ei saa vett mullast kätte (Sperry 2000). Madal veepotentsiaal põhjustab ksüleemi kaviteerumist. Transpiratsioon toimub edasi ka siis, kui juurtel pole enam mullast vett võtta, langeb ksüleemirõhk ja veesambad katkevad.

Tavalisim õhu sisenemise viis juhtkoesse on juba õhuga täidetud külgnevast rakust läbi neid ühendavate pooride. Kuigi poorid peaksid toimima kontroll-klappidena lubades veel liikuda juhtelementide vahel ja hoides samal ajal ära õhulekked juhtkudede katkestuste korral, siis alanenud rõhk ksüleemis ja madal veepotentsiaal põhjustavad rõhkude erinevuse pooridevahelisel õhu-vee piirpinnal. Tõmme ületab pindpinevusjõude ja pooridest imbub õhk külgneva juhtelemendi sisse. Õhu sisenemisel veega täidetud juhtelementi lõhutakse sealne veemolekulide omavaheline kohesioon, mistõttu veesammas katkeb ja juhtelement täitub esialgu veeauruga. Lõpuks, kui ümbritsevast veest väljub seal lahustunud kujul olnud õhk, täitub juhtelement täielikult õhuga. Õhu pääs külgnevatesse juhtelementidesse on minimeeritud tänu kapillaarjõududele, mis takistavad pooridevahelise õhu-vee piirpinnal meniski tagasitõmbumist. Kui pooridevaheline pindpinevus järgi annab, immitseb õhk külgnevatesse juhtelementidesse.

Külmumisel eraldub ksüleemis olevast veest seal lahustunud kujul olev õhk mullidena, sest jää ei seo õhku nii hästi kui vedelas olekus vesi, mistõttu jääb õhk juhtelementidesse mullidena ja veesammas katkeb. Sulamisel hakkavad need mullid paisuma kui ksüleemis on rõhk piisavalt negatiivne ja ksüleem emboliseerub.

Jää moodustumine taime ksüleemis tõkestab veetransporti ja põhjustab veestressi ja kavitatsiooni juhul, kui taimel jätkub transpiratsioon. Külmumine võib lisaks pöörduvatele häiretele põhjustada taime ksüleemis jäädavaid veetransporti mõjutavaid kahjustusi. Probleem on omane nii paljasseemnetaimedele kui puitunud varrega

katteseemnetaimedele, mistõttu on korduv külmumine ja ülessulamine oluline veerežiimi ökoloogiline mõjutaja kõikjal, kus temperatuurid langevad alla nulli Celsiuse skaalal.

Suurest temperatuurikõikumisest tingitud embolismi tõenäosus sõltub mullide suuruselt. Suuremad juhtelemendid sisaldavad rohkem lahustunud kujul õhku juhtelemendi pikkusühiku kohta, nii et külmumisel moodustuvad ka suuremad mullid. Ksüleemi funktsionaalne haavatavus külmumisest ja ülessulamisest tingitud embolismi suhtes sõltub juhtelemendi diameetrist. Tegelikult on paljasseemnetaimede kitsad juhtelemendid samuti ohus, kui ksüleemirõhk on piisavalt negatiivne, et võimaldada mullide plahvatamist (Charrier *et al.* 2014).

Vee transpordi võivad katkestada ka mehhaanilised ksüleemivigastused, näiteks taimtoiduliste loomade tekitatud vigastused. Õhk siseneb juhtelementidesse, alarõhk kaob ja transpiratsioon katkeb (Tyree & Zimmermann 2002). Veetranspordi mõjutajaks võib veel olla juurestiku halvatud funktsionaalsus, mis on tingitud näiteks juureparasiitidega nakatumisest.

3.2. „Õhuleviku“ hüpotees

„Õhuleviku“ hüpotees (ingl. k. *air-seeding hypothesis*) kirjeldab protsessi, kus õhk siseneb ksüleemi juhtelementidesse ja kutsub sellega esile kavitatsiooni. Vett sisaldav ksüleemielement emboliseerub isegi juhul kui sisenev õhuhulk on olnud minimaalne, kui sinna on pääsenud õhumull – „õhuseeme“ (ingl. k. *air seed*) (Tyree 2002).

„Õhulevik“ on levinuim embolismi tekke põhjus põua korral, mil õhk tungib külgnevast õhuga täidetud juhtsoonest, hõrenduse all läbi membraanipooride, veega täidetud juhtsoonde (Hölttä *et al.* 2005).

Vee kaugtranspordi eest mullast taime tipmiste osadeni vastutavad ksüleemi juhtelemendid. Ksüleemimahla rõhk (P_x) sõltub mullavee rõhust (P_s), taime hüdraulilisest juhtivusest (K_t) ja ksüleemivoolust (F):

$$P_x = P_s - \frac{F}{K_t}$$

(3)

Valemist järeldeb, et kui muld on kuiv või ksüleemivoolu intensiivsus väga kõrge, siis on ksüleemis rõhk negatiivne (Cochard *et al.* 2013). Tavaliselt jääb P_x väärtus -1 kuni -3 MPa vahele, kuid põua korral võib rõhk veelgi madalam olla. Sellises metastabiilses olekus, kus vesi säilitab vedela oleku vee aurustumisrõhust madalamal rõhul, võivad taimes vee aurustumise või kavitatsiooni esile kutsuda isegi väga väikesed rõhu muutused. Vahetult pärast kavitatsiooni hakkavad ksüleemi juhtelemendid emboliseeruma ehk siis täituma atmosfäärigaasidega, mis difundeeruvad ümbritsevatest kudedest või väljuvad ksüleemimahlast. Embolismi põhiline tagajärg on hüdraulilise juhtivuse halvenemine (Cochard *et al.* 1992).

4. Meetodid kavitatsiooni kvantitatiivseks hindamiseks

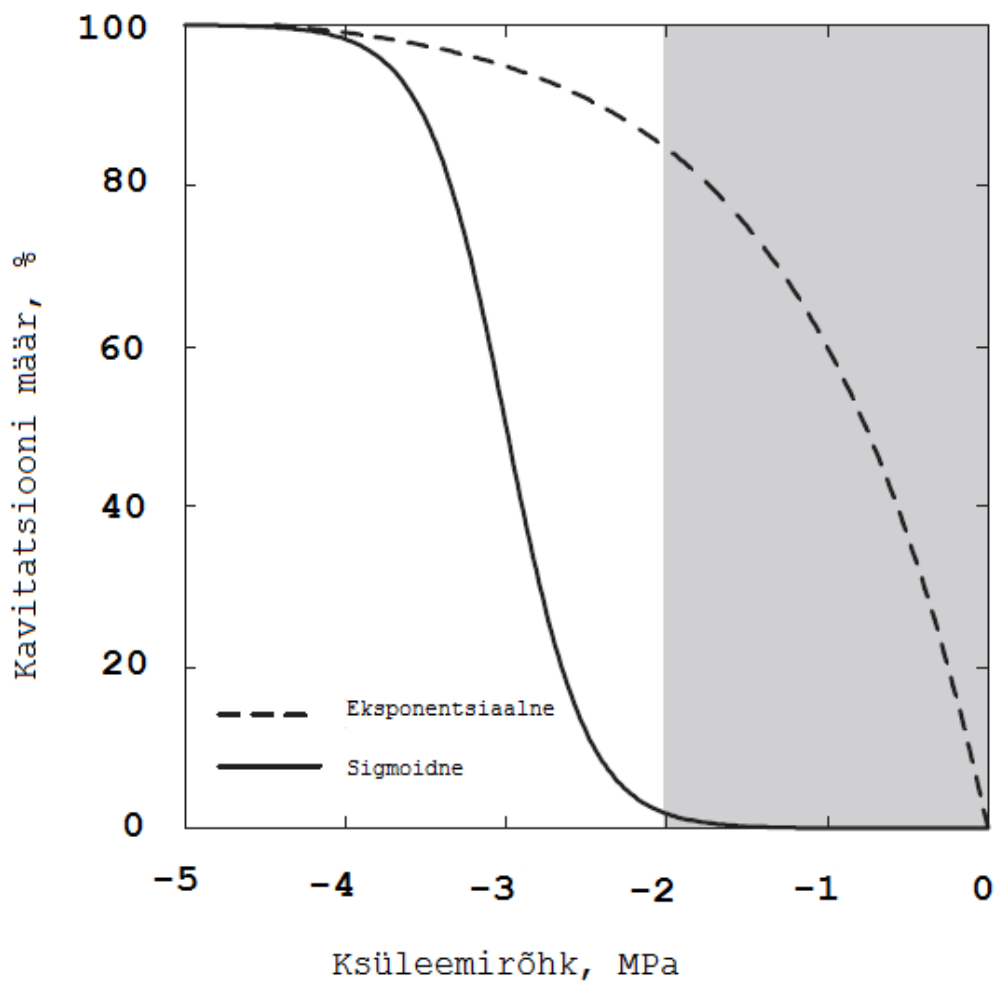
„Õhuleviku“ hüpotees viitab sellele, et ksüleemi kavitatsioon sõltub ksüleemi ja välise atmosfääri rõhuerinevustest – õhk siseneb ksüleemi siis, kui rõhuerinevus õhu-vee piirpinnal on suurem kui taluvuslävi.

Katseliselt saab taimes sarnast olukorda tekitada ja embolismi indutseerida veetustades taime atmosfäärirõhul ja langetades seega ksüleemimahla rõhku või õhurõhku tõstes hoides ksüleemirõhku 0 MPa juures (Cochard *et al.* 2013). Ksüleemimahla rõhu ja välise rõhu omavahelist sõltuvust, mis põhjustab kavitatsiooni, saab kirjeldada ksüleemi haavatavuskõveraga (ingl. k. *vulnerability curve*).

4.1. Taime veetustamine ja ksüleemi haavatavust kirjeldavad kõverad

Haavatavuskõvera koostamiseks tuleb eksperimendis kasutatavaid taimeosi kindlaks määratud tasemeteni veetustada. Mõõduna kasutatakse ksüleemi rõhupotentsiaali (P_x , MPa), mis defineerib kavitatsiooni tekke veestressi perioodil (periood, kus taim ei saa vett). Ksüleemi haavatavuskõver tähistab hüdraulilise juhtivuse protsentuaalset vähenemist (PLC) juhtkudedes veestressi mõjul võrrelduna täisküllastatud seisundiga (Cochard *et al.* 1992).

Haavatavuskõveraid koostatakse taimi erinevate teadaolevate ksüleemirõhu väärtusteni veetustades ja siis hüdraulilise juhtivuse protsentuaalset vähenemist (PLC) igal vastaval stressitasemel mõõtes. Haavatavuskõver on kahemõõtmeline graafik, kus visualiseeritakse ksüleemi kavitatsiooni protsent võrrelduna ksüleemirõhuga antud taimelõigus (Cochard *et al.* 2013).



Joon. 2. Skemaatiline haavatavuskõver (Cochard *et al.* 2013 järgi). Haavatavuskõver näitab kavitatsiooni määra sõltuvalt ksüleemirõhust. Kirjanduses esinevad haavatavuskõverad sigmoidisel (tähistatud pideva joonena) või eksponentsiaalsel (tähistatud katkendliku joonena) kujul.

Laboritingimustes on taimede veetustamiseks mitmeid võimalusi. Enne kui hakata veetustatud taimes hüdraulilist juhtivust mõõtma, tuleb oodata seni, kuni rõhk taime juhtelementides on langenud tagasi atmosfäärirõhu tasemele, see kindlustab täpsema mõõtmistulemuse.

4.1.1. Veetustamine kuivatuspingil

Kuivatuspingi meetod on kõige looduslähedasem viis, kuidas taimes kavitatsiooni esile kutsuda. Taimel lastakse tervikuna veetustuda. Ksüleemirõhku hinnatakse rõhukambris mitte-transpireerivatelt lehtedelt või otse varrest psühromeetritega. Kõige madalam mõõdetud rõhk on kavitatsiooni põhjustajaks. Üldiselt mõõdetakse seda kõige kuivema päeva kesktunnil. Tulemuse saavutamiseks on taimel vaja lasta kuivada nädalaid, mistõttu eelistatakse taimelt eemaldada suur lehtedega oks ja lasta sel kuivada vabas õhus asetades need laboris pingile tavalise valguse kätte.

4.1.2. Veetustamine õhusurve meetodiga

Õhusurve meetodit kasutades juhitakse õhk rõhukambris oleva varrejupi ksüleemi sisse. Kavitatsioonikamber e. rõhuvöö on rõhukamber, kuhu lühike (<0.3 m) mõlemast otsast lõigatud varrejupp asetatakse nii, et varre mõlemad otsad ulatuvad kambrist läbi kummitihendi välja, seal juures oksa painutamata. Kavitatsioon kutsutakse esile kambris rõhku tõstes. Selleks, et lihtsustada õhu pääs ksüleemi, tuleb proovijupp kindlasti täkestada või kambris olevalt proovilt puukoor eemaldada.

Teine viis on asetada suurde rõhukambrisse pikk (umbes 0.8 m) lehtedega oks sel viisil, et oks jääks kogu pikkuses rõhukambrisse ja selle lõigatud ots ulatuks rõhukambrist läbi kummitihendi välja. Rõhutase kambris hoitakse atmosfäärirõhust kõrgemal seni kuni oksa lõikepinnalt ei tule enam ksüleemimahla välja – toimub kavitatsioon.

4.1.3. Veetustamine tsentrifugaaljõu rakendamisega

Tsentrifugaaljõu rakendamise mõte on saavutada kavitatsioon kiiresti. Selleks keerutatakse lühikest (<0.3 m) oksajuppi tsentrifuugis, et alandada ksüleemirõhku oksa keskses osas. Paar minutit kestev tsentrifuugimine on juba piisav kavitatsiooni tekkeks. Ksüleemi funktsionaalsuse langus ehk embolismi määr tuvastatakse oksa kavitatsiooninkohas gravimeetriliselt.

4.2. Kavitatsiooni kvantitatiivne määramine hüdraulilisel meetodil

Meetodiga mõõdetakse ksüleemi funktsionaalsuse langemist igal valitud ajahetkel. Meetodi rakendamine on lihtne ja seetõttu kasutatakse seda embolismi mõõtmiseks kõige sagedamini. Mõte on selles, et veega küllastunud taimevarred suudavad transportida rohkem vett kui õhumullidega täidetud juhtelemendid. Hüdraulilise meetodiga mõõdetakse ksüleemitranspordi efektiivsuse suhtelist langust, mis on põhjustatud juhtelemendid õhuga täitumisest. Ksüleemi hüdrauliline erijuhtivus (K_X) sõltub veevoolu kiirusest (F , mmol/s), mis läbib antud taimeosa (l , m) antud rõhugradiendi (P/l , MPa/m) juures. Erijuhtivuse mõõtühikuks on $\text{mmol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$. Embolismi määra, kui ksüleemi funktsionaalsuse languse näitajat, väljendatakse PLC-na. Kõigepealt mõõdetakse esialgne hüdrauliline erijuhtivus K_X' . Tavaliselt on selle väärtus väiksem kui võimalik maksimaalne väärtus K_X (loodusliku embolismi tõttu). Seejärel küllastatakse uuritavat taimeproovi veega, et lahti saada õhumullidest. Selleks kasutatakse vaakuminfiltratsiooni või taime läbivoolutamist degaseeritud veega kuni saavutatakse hüdraulilise juhtivuse maksimaalne väärtus K_X . Embolismi määr arvutatakse järgmise valemi järgi:

$$PLC = 100 \times \left(\frac{1 - K_X'}{K_X} \right)$$

(4)

Kui $PLC=0\%$, siis $K_X'=K_X$ ja taimes ei esine emboleid üheski juhtelemendis; kui $PLC=100\%$, siis $K_X'=0$ ja kõik juhtelemendid taimes on emboliseerunud.

Taimi katseteks korjates on teada, et suurima tõenäosusega esineb juba looduses nende juhtlementides embolismi, mistõttu ei saa kohe mõõta maksimaalset hüdraulilist erijuhtivust. Esialgu mõõdetakse erijuhtivuse hetkeväärtus K_X' , misjärel taim läbivoolutatakse degaseeritud veega 0.1-0.2 MPa rõhu juures, et lahti saada õhumullidest. Pärast iga voolutamiskorda mõõdetakse juhtivust kuni saavutatakse maksimaalne väärtus K_X . Pärast sellist taime küllastamist vastab tema hüdrauliline juhtivus tõenäoliselt looduses võimalikule maksimaalsele hüdraulilisele juhtivusele (K_X''). PLC arvutatakse valemi (4) alusel:

$$PLC = 100 \times \left(\frac{1 - K_X'}{K_X''} \right)$$

(5)

Meetod on usaldusväärne juhul kui $K_X''=K_X$ ehk siis kui töödeldud taimejupi hüdrauliline juhtivus vastab taime hüdraulilisele juhtivusele taime kasvukeskkonnas enne igasugust töötlust.

4.3. Kavitatsiooni kvantitatiivne määramine akustilisel meetodil

Esimesena tuvastasid taimedest lähtuvaid akustilisi signaale 1960-ndatel aastatel Milburn ja Johnson (Jackson & Grace 1996). Nende hüpoteesi kohaselt peaks karmi põua tingimustes ksüleemis pidevad veesambad katkema juhul, kui need on piisavalt tugeva tõmbe all. Veessammaste katkemisel tekivad šokilaine peaks oleks helina tuvastatav. Neil oli õigus. Esimesi akustilisi signaale – „kavitatsiooniklõpsatusi“ demonstreeriti kuivavatelt lehtedelt grammofooni nõelakäpale kinnitatud võimendi ja valjuhääldi kaudu kuuldavale tuues. Akustiliste signaalidega kuuldavas helispektris töötamine oli vaearikas, mistõttu hakati eelistama ultraheli-lainesageduste kasutamist.

Akustilisel meetodil kavitatsiooni detekteerimise põhiline eelis on meetodi mitte-invasiivsus, taime ei kahjustata ja mõõtmisi saab läbi viia ka välitingimustes. Sensor kinnitatakse taime varrele, oksale, juurele või lehele ja akustilised signaalid salvestatakse automaatselt. Meetod on ajaliselt väga täpne, mistõttu saab kavitatsioonisündmuse registreerida täpselt selle juhtumise hetkel.

Meetodil on omad piirangud. Esiteks võib seade salvestada sadu signaale enne, kui on märgata reaalseid ksüleemi hüdraulilise juhtivuse muutuseid, sest taimes esineb kavitatsiooni ultrahelilainesagedusel peale ksüleemi ka teiste kudede rakkudes. Samuti on ultrahelisignaale tunduvalt rohkem, kui on sensori kuulderaadiuses ksüleemi juhtelemente. Teiseks on tulemuste täpne kvantifitseerimine keerukas. Ja viimaks – akustilist meetodit juurtega mullas tema looduslikul kasvukohal kasvavatel taimedel rakendades ei ole kunagi teada, mitu kavitatsioonisündmust on toimunud enne seda, kui salvestamisega alustati, sest täielikult veetustatud või täiesti kuivanud taimedel ei esine akustilisi emissioone (Cochard *et al.* 2013).

5. Akustilise meetodi analüüs

Puittaimede veerežiimi uurimisel akustilise meetodiga tuleb kombineerida kavitatsiooni akustiliste signaalide mõõtmine taime veesisalduse, ksüleemirõhu või mulla niiskusesisalduse ja lehtede veepotentsiaali mõõtmisega, sest jämedalt võttes on akustiliste mõõtmiste tulemuseks kavitatsioonisündmuste hulk. Suurem osa kavitatsioonisündmuste esinemisi mõõtvaid teadusuuringuid on läbi viidud ultraheli-lainepikkuseid kasutades, sest sellel on vähem piiranguid. Kuuldavas helispektris läbi viidavaid katseid tuleb teha helikindlas ruumis, et minimeerida välise müra salvestamist seadme poolt. Ultraheli lainealas sellist probleemi pole, sest ultrahelilained läbivad õhus väiksema vahemaa. Seetõttu saab meetodit kasutada välitöödel.

Akustilise meetodi kirjeldamiseks olen kasutatud vaid artikleid, milles mõõtmised on teostatud ultraheli-lainepikkustel, mistõttu kasutan edaspidi väljendeid „akustiline meetod“ ja „akustiline signaal“ viidates ultraheli lainealale (välja arvatud juhul, kui on mainitud teisiti).

5.1. Tehnilised lahendused kavitatsioonisündmuste detekteerimiseks

Kavitatsioonisündmusi registreerivad ultrahelisensorid sisaldavad keraamilist materjali, mis töötavad põhimõttel tekitada elektrilisi signaale keraamilist kristalli mehhaanilise survega mõjutades (piesoelektriline efekt). Sensorid töötati algselt välja metallkonstruktsioonides mõrade kaardistamiseks ja on nüüd kohandatud ka taimedel kasutamiseks. Akustiliste signaalide kogumise põhimõte – sensorid töötavad madalal sagedusel ja tuvastavad 100-300 kHz sagedusega kavitatsiooni poolt tekitatud helilaineid. Helisignaale saab võimendada 80 dB-ni (Jackson & Grace 1996).

Sensori kinnitamiseks taimevarrele tuleb teha auk teiskoore sisse – eemaldada floemi ja kambiumi kihid, nii et sensor puutuks ksüleemipinna vastu. Parema kontakti saavutamiseks ksüleemi ja sensori vahel kasutatakse silikoonmääret. Geeliga tuleb katta lisaks veel sensori ümber olev „paljas“ ala, et vältida kunstlikult tekitatud kuivamist ja sellest tingitud kavitatsiooni. Tähtis on kinnitada sensor standardiseeritud survega (30 ± 1 N), et

mõõtmistulemused oleksid võrreldavad, sest kinnitamise surve võib mõjutada mõõdetavate signaalide arvu (Rosner *et al.* 2006). Sensor ühendatakse salvestusseadmega, mis salvestab järjestikku kõik tuvastatud signaalid, kuni signaale enam ei eraldu ehk siis kui kõik juhtelemendid sensori kuulderaadiuses on emboliseerunud (Jackson & Grace 1996).

5.2. Veerežiimi analüüsiks vajaminevad lisamõõtmised

Hüdraulilise juhtivuse muutuste analüüsimiseks on lisaks kavitatsiooni määrale vaja teada taime või mulla veestaatust. Seda saab mõõta näiteks lehe suhtelist veesisaldust või oksa veepotentsiaali määrares. Suhtelist veesisaldust mõõdetakse gravimeetriliselt. Varahommikul korjatud lehtede veesisalduse muutuste järgi arvutatakse suhteline veesisaldus: $(\text{toorkaal} - \text{kuivkaal}) / (\text{küllastunud kaal} - \text{kuivkaal})$. Veepotentsiaali muutusi mõõdetakse okstelt rõhukambriga. Lehele rakendatud ülerõhk, mis surub ksüleemimahla leherootsu lõikepinnale, on arvuliselt võrdne, kuid vastupidise märgiga lehe veepotentsiaalile (Ogaya & Penuelas 2007).

Taimede veesisaldust saab mõõta ka kõrgtehnoloogilistel meetoditel. Järgnevalt on välja toodud mõned, mida vahel kasutatakse, ent rutiinset kasutamist takistab seadmete liiga kõrge hind ja nende mitterakendatavus välitingimustes. Krüo-skaneeriv elektronmikroskoopia võimaldab eristada õhuga täidetud ksüleemi juhtelemente jääga täidetud juhtelementidest. Meetod on destruktiivne ja teostatav vaid laboritingimustes, kuid on väga efektiivne. Mitte-invasiivne meetod on magnetresonants uuring, millega visualiseeritakse juhtelemendi sisu kolmemõõtmeliselt väga täpselt, ruumiline resolutsioon on üsna kõrge (umbes 20 μm). Meetodiga on võimalik visualiseerida ka vee liikumist juhtkudedes. Veelgi kõrgema ruumilise resolutsiooniga (<1 μm) on röntgenkiirguse mikrotomograafia, meetod on samuti mitte-invasiivne (Cochard *et al.* 2013).

5.3. Mõõtmisvigade ennetamine

Akustilist meetodit kasutades tuleb jälgida, et mõõtmised toimuksid tingimustes, mis ei mõjutaks tulemusi kunstlikult. Akustilisi signaale mõõdavad ja salvestavad küll sensorid, kuid siiski võib esineda inimlikke vigu hooletusest, uuritava taime ehituse mittetundmisest või oskamatusest tehnoloogiaseadmeid kasutada. Järgnevalt on kirjeldatud asjaolusid, millele tähelepanu pöörata.

Oluline on teada sensori kuulderaadiust ja selle järgi valida eksperimendiks sobiva läbimõõduga taimevars. Ultrahelilained ei kandu kaugele ning kavitatsioon toimub liigist ja keskkonnatingimustest sõltuvalt 20-30 mm sügavusel (Jackson & Grace 1996). Helilainete leviku teepikkust mõjutavad puidu niiskusesisaldus, tihedus ja puidurakkude orientatsioon. Konkreetse liigi kuulderaadiuse kindlaks tegemiseks tuleb selle puidu erineva paksuse ja maksimaalse veesisaldusega lõike eelnevalt kuulata ja selle järgi määrata akustiliste signaalide arvu suhe vahemaaga. Mida paksemad on proovilõigud, seda rohkem salvestatakse signaale, teatud kaugusest alates ei ole enam ühtegi signaali kuulda. Sensori kuulmisraadiuse saab kätte siis, kui määratakse proovilõik, kus esineb kõige rohkem signaale.

Sensori kuulderaadiuses olevate juhtelementide arv on samuti oluline. Taimede puidu omadused, trahheede ja trahheiidide mõõtmed erinevad liigiti ja sõltuvad keskkonnast, nii et samas kuulderaadiuses on erinevatel liikidel erinev hulk rakke. Paljasseemnetaimede puidus saab rakke loendada kindlat ruumala puitu matsereerides, katteseemnetaimedes arvutatakse eeldatav rakkude hulk raku diameetri ja rakkude arvu alusel juhtkimbu pikkuse kohta.

Ksüleemi muud tüüpi rakkude proportsioon juhtfunktsiooni täitvate rakkude suhtes on samuti oluline, sest kavitatsioon võib taime erinevates kudedes toimuda samal helisagedusel. Veetranspordi uurimises on vaja kasutada vaid hüdraulilist juhtivust mõjutavate rakkude mõõtmistulemusi, rakkude arvu ja suhet saab hinnata matseraadist.

Mõõtmistulemusi mõjutavad veel rakuvalendike suurus, sest suuremad rakud juhivad rohkem vett, nii et suuremate rakkude kavitatsioon mõjutab hüdraulilist juhtivust rohkem, kui väiksemate rakkude kavitatsioon. Rakuvalendike suuruseid näeb samuti matseraadist.

Veel on vaja teada, kas üks akustiline signaal vastab ühes juhtelemendis toimunud kavitatsioonile. Kui kavitatsioon toimub samaaegselt mitmes juhtelemendis, võib sensor tuvastada need kõik ühe signaalina. Samas võivad osad signaalid jääda tuvastamata sensorile omase kahe signaali vahelise puhveraja tõttu. Sensori puhveraeg tagab selle, et ühe signaali võngete jada läheks kirja ühe signaalina. Ühe signaali vastavust ühe juhtelemendi kavitatsioonile saab kontrollida juhtelementide arvu järgi. Selleks tuleb veega täielikult küllastunud taimesegmendi täielikul kuivamisel esinenud signaalide arvu võrrelda loendatud juhtelementide arvuga.

Rohkem akustilisi signaale tuvastatakse suuremal võimendusel ning mõõtja saab ise signaali võimenduse kasu valida vahemikus 20-80 dB. Samas, mida suurem on võimendus, seda rohkem püütakse kinni taustmüra signaale. Tuvastatavate võltssignaalide hulk ei tohiks olla rohkem kui üks signaal minutis, see pannakse paika sensori kuulderaadiuse määramisel – mida suurem võimendus, seda kaugem on sensori kuulderaadius.

Akustiliste signaalide tõlgendamisel tuleb tähelepanu pöörata taimede omadusele ööpäeva jooksul juhtelementides veetaset taastada, sest seda sensoritega tuvastada ei saa. Niisiis tuleb teha arvukalt akustilisi mõõtmisi, sest isegi igapäevased meteoroloogilised muutused võivad põhjustada suuri erinevusi ühe ja sama taime juhtelementide emboliseerumises (Jackson & Grace 1996).

5.4. Akustilise meetodiga töötades kasutatavad taimeliigid

Kavitatsiooni esineb nii paljas- kui katteseemnetaimedes, seega on meetod rakendatav veerežiimi akustiliseks mõõtmiseks neis mõlemas. Teadustööd käsitlevad enamasti akustilise meetodi kasutamist paljasseemnetaimedes või puitunud varrega katteseemnetaimedes.

Tüve jämedus seab muidugi piiranguid akustilise meetodi kasutamisele suurtel puudel, ent kuna akustilisi signaale saab hõlpsasti mõõta ka okstes või juurtes, pole see liikide

eelistamise või välistamise alus. Pigem eelistatakse paljasseemnetaimi nende tüvepuidu lihtsa ehituse tõttu. Ühe taimeliigi eelistamine teisele on vajaduse- või võimalusepõhine.

Kirjandusest ilmneb, et akustilisel meetodil on puittaimedest sagedamini uuritud mände (*Pinus L.*). Põhjuseid on mitmeid. Männid on võimelised kasvama väga kuivades tingimustes ja erinevatel muldadel, mistõttu on männiliigid laialt levinud kogu põhjapoolkeral. Laiast levikust ja kasvutingimuste suhtes vähesest nõudlikkusest tulenevalt on männid töönduslikult väga olulised puuliigid.

Muidugi kasutatakse akustilist meetodit teistegi taimeliikide uurimiseks, laboritingimustes on akustiliste mõõtmiste jaoks kasutatud näiteks harilikku kuuske (*Picea abies*; Rosner *et al.* 2006; Mayr & Rosner 2011). Looduses on mõõtmisi teostatud olenevalt uurimuse eesmärgist ja asukohast seal kasvavatel puuliikidel, näiteks on kasutatud vahemere tamme (*Quercus ilex*) Kataloonias (Ogaya & Penuelas 2007) ja harilikku mändi (*Pinus sylvestris*) Soomes (Hölttä *et al.* 2005).

5.5. Akustilise meetodi praktiline väljund

Akustiline meetod on kasulik taimede põuataluvuse määramiseks. Taimeliike omavahel ja isendeid liigisiselt võrreldes saab kindlaks teha, millised keskkonnategurid mõjutavad veerežiimi ja millised taimeorganid on tundlikumad kavitatsiooni suhtes. Taime veega varustatusest sõltuvad tema kasv, areng, viljade maitseomadused ja paljunemisvõime. Seega kui akustilisel meetodil saab taime hetkelisest veerežiimist infot ilma taime kahjustamata, saab reguleerida keskkonda, et mõjutada taime omadusi soovitud suunas. Akustiliste signaalide tuvastamine ja nende põhjal taimede keskkonnanõudluste määratlemine on oluline teadustöö arengu seisukohalt. Aianduses on see isegi väga praktilise väärtusega, näiteks taimede kastmisvajaduse reguleerimisel, viljade maitseomaduste kujundamisel ja kasvukiiruse mõjutamisel (Jackson & Grace 1996; Bechar *et al.* 2005).

Järgnevalt tutvustab käesolev töö näidet sellest, kuidas akustilist meetodit rakendades on võimalik jälgida taimedes infektsiooni kulgu. Uuringu pikaajalisem eesmärk oleks haigus tuvastada selle eriti varajases faasis ja seeläbi taim haigusest päästa.

Jaapanis läbi viidud katse eesmärgiks oli akustilisel meetodil uurida männi-laguussiga (*Bursaphelenchus xylophilus*) nakatunud Thunbergi männi (*Pinus thunbergii*) veerežiimi ja ksüleemi emboliseerumist paralleelselt veepotentsiaali muutustega, kõrvutades haigetelt taimedelt saadud tulemusi tervete taimedega (Fukuda *et al.* 2007). Tervetes okaspuudes liigub ksüleemimahl trahheiidides kohesiooni-tõmbe mehhanismi jõul, päeva lõikes esinevad kavitatsioonid on normaalsed, kuid vee juhtivus ei lange püsivalt, vaid ksüleemi juhtelemendid täituvad vihmast tingituna või öösel vähenenud transpiratsiooni tõttu (Kuroda 2011).

Mändide närbumist põhjustav männi-laguuss on nematoodide hulka kuuluv üks laastavamaid okaspuukahjureid. Haiguse varajastes faasides emboliseeruvad trahheiidid, haiguse viimastes faasides hukub taim ulatuslikust ksüleemi kavitatsioonist tingitud järsu veepotentsiaali languse tõttu. Selline järsk langus on tuvastatav intensiivsete akustiliste signaalidena, mis on põhjustatud kiirest ja suuremahulisest emboliseerumisest (Fukuda *et al.* 2007).

Haigusest nakatunud puid on võimalik päästa seni, kuni haigustunnuseid pole silmaga näha (okaste kollaseks muutumine), esimestest haigusnähtudest taime surmani kulub umbes kaks kuud. Haiguse edenemine on tuvastatav okstel longu vajuvate okaste ja nende värvuse tuhmumise järgi (Kuroda 2011).

Katses mõõdeti kavitatsioonimäära seemnest kasvatatud ja laboris nakatatud taimedel haiguse peitefaasis, varajases faasis ja hilises faasis. Embolite hulga hindamiseks kasutati magnetresonants mikroskoopiat. Haiguse peitefaasis ksüleemis emboleid ei esinenud, mõõtmisel püüti kinni üksikud akustilised signaalid ja tõlgendati seda kui trahheiidide kaviteerumist vähesel (n.ö. normaalsel) määral. Haiguse varajases faasis tuvastati, et akustiliste signaalide sagedus kasvas vastavalt embolite arvu kasvuga rohkemates trahheiidides, mõõdetud veepotentsiaal oli samuti madalam kui haiguse peitefaasis. Haiguse hilises faasis tuvastati akustilisi signaale rohkelt, emboliseerunud ala oli väga suur ja lehe veepotentsiaal eriti madal. Haiguse peitefaasis emiteeris taim akustilisi signaale vaid päeval, haiguse kulgedes emiteeris taim neid ka öösel (Fukuda *et al.* 2007).

Olgugi, et juba nakatunud puid on raske, kui mitte võimatu päästa, siis tundes parasiidiga nakatunud männi veerežiimi muutumise mustrit, saab ohualteid taimi akustilisel meetodil

kontrollida, vältida parasiidiga nakatumist ja haiguse edasist levikut profülaktiliste meetmetega takistades, s.h. haigete taimede õigeaegse eemaldamisega keskkonnast.

6. Arutelu

Käesolev referatiivne lõputöö on kirjutatud eesmärgiga tutvustada vähetuntud meetodit puittaimede veerežiimi uurimiseks – akustilist meetodit. Töö annab ülevaate akustilise meetodiga taimede veerežiimi mõõtmiseks, kuid autor ei saa enda katsete ega kogemustega ühtegi praktilist põhinevat analüüsi esitada. Avaldatud teadustööd käsitlevad nii akustilise meetodi tehnilisi täiendusi kui taimede ökoloogiliste reaktsioonide mõtestamist. Eesti jaoks on tegemist veel täiesti katmata alaga, ka maailma mastaabis on vaid mõned vähesed teaduskeskused, kus selle valdkonnaga tegeletakse.

Akustilise meetodiga töötamisel on oluline mõista taimede veevahetuse toimimist üldisemalt ja seda limiteerivaid faktoreid enne, kui asuda akustilisi mõõtmisi teostama. Töös kirjeldatud ksüleemi veetranspordi ja kavitatsioonimehhanismi toimimine võimaldab mõista seda, mida akustilisel meetodil detekteeritud signaalid tähendavad. Mitte-invasiivne akustiline meetod võimaldab hinnata taime veetranspordisüsteemi tööd ilma taime ennast kahjustamata. Seda saab võtta kui meetodi eelist, sest sel moel on võimalik ühel taimel viia läbi korduvaid uuringuid taime eluea jooksul.

Mitte-invasiivsuse puudus seisneb selles, et ksüleemi emboliseerumine ei ole visuaalselt registreeritav ja kaviteerunud juhtelemendid ei ole tuvastatavad. Akustilise meetodi rakendamisel kavitatsioonisignaali registreerimiseks taime naturaalses keskkonnas tuleb meeles pidada ka seda, et kavitatsioon on taime elus tavaline ja igapäevane. Salvestatud signaalid väljendavad kavitatsioonisündmuste hulka pärast seadmete kinnitamist taimele, eelnevate kavitatsiooni määr jääb teadmata.

Taime veerežiimi uurimiseks tuleb kavitatsiooni mõõtmine akustilisel meetodil kombineerida taime veestaatuse määramise meetoditega. See võimaldab paremini aru saada mõõtmishetkel taimel toimuvast, õigesti tõlgendada akustilisi signaale ja annab taime seisundi kohta terviklikuma pildi. Nii on näiteks akustiliste signaalide mõõtmist kombineeritud taime oksa veepotentsiaali määramisega rõhukambris (Ogaya & Penuelas 2007).

Üha enam kasutatakse taime veesisalduse hindamiseks mitte-invasiivset magnetresonants tehnikat. Magnetresonants mõõtmiste abil on võimalik saada ühest ja samast taime ristlõigust pildi valitud ajavahemiku järel, mis võimaldab hinnata emboliseerunud ala muutumist ajas (Fukuda *et al.* 2007).

Piisav ülevaade taime veerežiimi toimimisest on oluline eeldus veetranspordi uurimiseks akustilisel meetodil. Eelnevad teadmised akustilise meetodi võimalustest ja piirangutest aitavad valida ja kombineerida sobivaid uurimisviise, et tõlgendada tulemusi reaalsusele vastavalt.

Meetodi reaalseks katsetamiseks ja rakendamiseks tuleb lähtuda taime kasvukoha iseärasustest ja liigispetsiifikast. Vaatamata eelpool kirjeldatud puudustele saab mõõtmistulemusi praktikas kasutada eelkõige metsanduse ja aianduse valdkondades.

Jaapanis on läbi viidud eksperiment, kus uuriti Thunbergi männi (*Pinus thunbergii*) veerežiimi ja ksüleemi emboliseerumise sõltuvust männi-laguussi (*Bursaphelenchus xylophilus*) tekitatud kahjustustest. Tulemusena leiti, et haiguse kulg on detekteeritav akustilisel meetodil veetranspordi toimimist mõõtes. Haiguse edenedes kahaneb männis veetranspordi efektiivsus väga kiiresti. Mõõdetud akustiliste signaalide muster erineb oluliselt tervelt puudelt salvestatud signaalidest ja oli iseloomulik just männi-laguussi põhjustatud embolismile (Fukuda *et al.* 2007; Kuroda 2011).

Kavitatsioonisündmusi saab detekteerida akustilisi signaale ja nende esinemissagedust salvestades. Embolismi määra saab tuvastada mitte-invasiivselt magnetresonants meetodil. Kindlasti tuleb võrdlusbaasina kasutada samal viisil uuritud terveid taimi sarnastest kasvutingimustest. Kavitatsioon sõltub mullavee kättesaadavusest ja transpiratsioonist, viimane sõltub omakorda atmosfääritingimustest, nii et ei piisa pelgalt ühe taime uurimisest. Tuleb mõõta mitut taime sünkroonselt paljude keskkonnafaktorite suhtes ja koostada nende akustiliste signaalide muster ööpäeva lõikes.

Enne kui minna looduslikku keskkonda meetodit rakendama, tuleb eelnevalt läbi viia laboratoorsed katsed vastava liigiga. Meetodi kasutamisel vaskulaarpatogeenide infektsiooni uurimiseks tuleks isendi haiguskulgu varjatud faasist hilise faasini jälgides välja selgitada, kas haigestunud taime akustilised signaalid on vastavuses hüdraulilise juhtivuse muutustega.

Kuna haiguse kulg taines on kiire, siis peab tuvastama õige signaalide mustri, mis tõestab haiguse olemasolu ja selle edasikulgemist. Reaalseks praktiliseks rakendamiseks looduses ja kultuurmaastikel on oluline tuvastada just see kavitatsioonisignaalide muster, mis näitab haiguse latentset või väga varajast faasi. Magnetresonants meetodil visualiseeritakse puutüve ristlõik, kus veega täidetud ksüleemi juhtelemendid on eristatavad emboliseerunud juhtelementidest. Eelduste kohaselt muutub haiges taines emboliseerunud ala ajas suuremaks, taime veevarustus halveneb ja süveneb lehtede veedefitsiit, mille tagajärjel taim lõpuks sureb.

Praeguste teadmiste baasil võime järeldada, et akustilise meetodi praktilise rakendamise võimalused puittaimede veerežiimi hindamiseks väärivad edasist uurimist.

7. Kokkuvõte

Käesolev töö aitab aru saada taimede veerežiimi uurimisest akustilisel meetodil ja annab esmakordselt eestikeelse ülevaate veerežiimi uurimiseks vajaminevate teoreetiliste alusteadmiste kohta, seostades neid praktiliste rakendusvõimalustega akustilisel meetodil. Töö esimeses pooles kirja pandu võimaldab mõista veetranspordisüsteemi toimimise olulisust taimes ja näha, millised muutused ja tegurid on taime jaoks kõige määravamad.

Töö teises pooles on referatiivse materjali analüüsimise tulemusena kirjeldatud akustilise meetodi rakendamise võimalusi metsanduses. Eestis akustilisel meetodil puude veerežiimi analüüse tehtud pole, kuid autor näeb tulevikus sellel potentsiaali. Töös selgitatakse, kuidas akustilisel meetodil saab laboratoorsetes tingimustes simuleerida looduses taimede kasvuks ja arenguks vaja mineva vee kasutust piiravaid stressifaktoreid. Enne reaalseid katseid ei saa kindlalt öelda, kas akustiline meetod taimede veerežiimi uurimiseks saaks olla igapäevane ja laialtlevinud meetod, ent autor selles ei kahtle. Akustiline mitte-invasiivne meetod leiaks rakendust viljapuude uurimises, iluaianduses, metsades, puukoolides ja puidutööstuse valdkonnas. Süvenedes laboris mitte-invasiivsete meetoditega looduses leiduvate probleemide tagamaadesse ja kontrollides püstitatud hüpoteese, saab taimede looduslikus kasvukeskkonnas uuringuid läbi viia samade meetoditega. Juhul kui ka välitööd kinnitavad laboratoorsete katsete põhjal püstitatud hüpoteeside vastavust reaalsusele, võiks töötavad meetodid ja seadmed kommertsiaalselt kasutusele võtta.

Käesolev töö sobib hästi lähtekohaks asjast huvitatule või teadurile, kes soovib kiiresti leida täiendavat informatsiooni akustilise meetodi teoreetiliste põhimõtete või ka praktiliste rakendusvõimaluste kohta.

8. Tänuavaldused

Aitäh, Arne Sellin.

Aitäh, issi.

Aitäh, emme.

Aitäh, Elyne.

Aitäh, Mari.

Aitäh, Maret.

Aitäh, Kadri.

9. Summary in English

Alice Aaviksoo

Xylem water transport in woody plants and acoustic method for studying it

This bachelor's thesis is aimed to introduce the acoustic method for studying water relations in woody plants with a further purpose of potential introducing the method into practise in forestry and horticulture. The first half of this paper explains the main properties of the xylem cells, the mechanism of conduit cavitation and the technical solutions for application of the acoustic method in plants experiencing drought conditions. The second half of this paper explains how the acoustic method applied for studying water relations in woody plants enables to evaluate trees' drought tolerance.

Although the acoustic method has not been used for studying water relations in woody plants in Estonia, the author of this paper sees a potential for it. The idea is first to develop and test this method in laboratory conditions in order to evaluate effects of forest pathogens on trees' xylem water transport, and work out hypotheses based on the results. Then, it is necessary to test the hypotheses in natural conditions and after that, the commercialised use of the acoustic techniques developed. As this method can be used for determining water relations in woody plants non-invasively, and all plants are affected with some kind of water stress, either due to parasites or other ecological factors, the acoustic method could be a practical tool for screening the plants' condition.

This reference paper makes a good starting point for enthusiasts or scientists, who want to find quickly additional information about the theoretical principles or practical possibilities for implementation of the acoustic method in the field of plant water relations.

10. Kasutatud kirjandus

- Bechar A., Mizrach A., Barreiro P., Landahl S. 2005. Determination of mealiness in apples using ultrasonic measurements. – *Biosystems Engineering* 91(3): 329-334.
- Charrier G., Charra-Vascou K., Kasuga J., Cochard H., Mayr S., Améglio T. 2014. Freeze-Thaw Stress: Effects of Temperature on Hydraulic Conductivity and Ultrasonic Activity in Ten Woody Angiosperms. - *Plant Physiology* 164: 992-998.
- Cochard H., Badel E., Herbette S., Delzon S., Choat B., Jansen S. 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation. - *Journal of Experimental Botany* 64(15): 4779-4791.
- Cochard H., Cruiziat P., Tyree M. T. 1992. Further Support for the Air Seeding Hypothesis and Implications for Pressure Volume Analysis. - *Plant Physiology* 100: 205-209.
- De Boer A. H., Volkov V. 2003. Logistics of water and salt transport through the plant structure and functioning of the xylem. - *Plant Cell Environment* 26: 87-101.
- Fukuda K., Utsuzawa S., Sakaue D. 2007. Correlation between acoustic emission, water status and xylem embolism in pine wilt disease. - *Tree Physiology* 27: 969–976.
- Garboletto M., Gonthier P. 2013. Biology, Epidemiology, and Control of Heterobasidion Species Worldwide. - *Annual Review of Phytopathology* 51: 39-59.
- Hölttä T., Vesala T., Nikinmaa E., Perämäki M., Siivola E., Mencuccini M. 2005. Field measurements of ultrasonic acoustic emissions and stem diameter variations. New insight into the relationship between xylem tensions and embolism. - *Tree Physiology* 25: 237-243.
- Jackson G. E., Grace J. 1996. Field measurements of xylem cavitation: are acoustic emissions useful? - *Journal of Experimental Botany* 47(304): 1643-1650.
- Kuroda K. 2011. Monitoring of xylem embolism and dysfunction by the acoustic emission technique in *Pinus thunbergii* inoculated with the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. - *The Journal of Forestry Research* 17: 58-64.
- Larcher W. 2003. Long Distance Transport of Water in Plants and the Cohesion Theory. - In: *Physiological Plant Ecology*, Springer, Berlin, pp. 254-256.
- Larcher W. 2003. Long-Distance Transport of Minerals in the Plant. - In: *Physiological Plant Ecology, 4th Edition*, Springer, Berlin, pp. 192.
- Larcher W. 2003. Water Relations of the Whole Plant. - In: *Physiological Plant Ecology, 4th Edition*, Springer, Berlin, pp. 259.
- Mayr S., Rosner S. 2011. Cavitation in dehydrating xylem of *Picea abies*: energy properties of ultrasonic emissions reflect tracheid dimensions. - *Tree Physiology* 31: 59-67.

- Nardini A., Salleo S., Jansen S. 2011. More than just a vulnerable pipeline: xylem physiology in the light of ion mediated regulation of plant water transport. - *Journal of Experimental Botany* 62(14): 4701-4718.
- Ogaya R., Penuelas J. 2007. Seasonal ultrasonic acoustic emissions of *Quercus ilex* L. trees in a Mediterranean forest. - *Acta Physiologiae Plantarum* 29: 407-410.
- Rosner S., Klein A., Wimmer R., Karlsson B. 2006. Extraction of features from ultrasound acoustic emissions: a tool to assess the hydraulic vulnerability of Norway spruce trunkwood? - *New Phytologist* 171: 105-116.
- Schulze E. D., Beck E., Müller-Hohenstein K. 2005. Water Relations of Plants. - In: *Plant ecology*, Springer, Berlin, pp. 278-280.
- Sperry J. S. 1993. Winter embolism and spring recovery in *Betula cordifolia*, *Fagus grandifolia*, *Abies balsamifera*, and *Picea rubens*. - In: *Water Transport in Plants Under Climatic Stress*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 86-98.
- Sperry J. S. 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. - *Agricultural and Forest Meteorology* 104: 13-23.
- Sperry J. S., Hacke U. G. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. - *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 4(2): 97-115.
- Tyree T. M., Sperry J. S. 1989. Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism. - *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 19-38
- Tyree T. M., Zimmermann M. H. 2002. Vulnerability Curves and the "Air-Seeding" Hypothesis. - In: *Xylem Structure and the Ascent of Sap, Second Edition*, Springer, Berlin, pp. 96-99.
- Tyree T. M., Zimmermann M. H. 2002. *Xylem Structure and the Ascent of Sap, 2nd Edition*. - Springer, Berlin.
- Vilagrosa A., Chirino E., Peguero-Pina J. J., Barigah T.S., Cochard H. Gil-Pelegrin E. 2012. *Plant Responses to Drought Stress*. - Springer-Verlag, Berlin.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Alice Aaviksoo,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„VEETRANSPORT KSÜLEEMIS JA SELLE UURIMINE PUITTAIMEDES AKUSTILISE MEETODIGA“

mille juhendaja on Arne Sellin,

- 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
 3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **28.05.2014**