

Tartu Ülikool
Loodus- ja tehnoloogiateaduskond
Ökoloogia ja maateaduste instituut
Botaanika osakond

Igor Miilvee

**Imijuurte morfoloogiline reaktsiooninorm kliimamuutuse ja
keskkonnareostusega kohanemisel hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P.*
tremuloides Michx.) kloonide näitel**

Bakalaureusetöö

Juhendajad: vanemteadur Ivika Ostonen-Märtin
professor Krista Lõhmus

Tartu 2014

Sisukord

Sissejuhatus	3
1. Hübriidhaab ja puittaimede imijuured.....	4
1.1. Hübriidhaava ökoloogiline ja majanduslik tähtsus	4
1.2. Puittaimede imijuurte üldiseloomustus ja ökoloogiline tähtsus	5
2. Abiootiline keskkonnastress ja sellega kohanemine	8
2.1. Õhuniiskus.....	9
2.2. Pinnase õlireostus	10
2.3. Sooldumine.....	11
3. Peenjuurte keskkonnastressiga kohanemise mehhanismid	13
3.1. Fenotüübiline plastilisus.....	13
3.2. Peenjuurte kohanemist peegeldavad morfoloogilised parameetrid.....	14
4. Õhuniiskuse, sooldumise ja õlireostusega manipuleeritud hübriidhaava (<i>Populus tremula</i> L. × <i>P. tremuloides</i> Michx.) imijuurte morfoloogilise plastilisuse uurimine	18
4.1. Materjal ja meetodika.....	18
4.1.1. METLA Haapastensyrjä ja FAHM katsealade kirjeldus.....	18
4.1.2. Juureproovide kogumine ja töötlemine	19
4.1.3. Statistilised meetodid	21
4.2. Tulemused	21
4.2.1. Keskkonnastressi mõju imijuurte morfoloogiale	21
4.2.2. Kloonidevahelised plastilisuse erinevused.....	22
4.2.3. Imijuurte plastilisuse mõju taime maapealsele kasvule	23
4.3. Arutelu.....	24
Kokkuvõte	26
Summary	28
Tänuavaldus	31
Kasutatud kirjandus.....	32
LISAD	42

Sissejuhatus

Briti ökoloog Arthur Tansley kasutas mõistet “antropogeenne”, et viidata inimese mõjule taimekooslustele (Bampton, 1999), mille põhjal võttis atmosfääriteadlane Paul Crutzen 1970. aastate keskel kasutusele geokronoloogilise mõiste “antropotseen”, et viidata inimese mõjule looduskeskkonnale (Crutzen & Stoermer, 2000). Inimese ja looduskeskkonna lõimumine, sealhulgas ka inimõju taimekooslustele on jätkuvalt ökoloogia põhiprobleem.

Inimese mõju taimedele käsitletakse eelkõige kliimamuutusest ja keskkonnareostusest tuleneva biofüüsikalise keskkonna muutumise ehk abiootilise keskkonnastressi kontekstis. Kliimamuutus ja keskkonnareostus põhjustavad muutusi taimekooslustes, biomassi jaotuses, looduslike ressurside kättesaadavuses, bioloogilises mitmekesisuses ja aineringetes (Schaberg et al., 2008). Antud töös käsitletakse abiootilise keskkonnastressi tekitajana kliimamuutusest tulenevat suurenenud õhuniiskust, pinnase reostust raske kütteõliga ja antropogeenset, näiteks teede soolamisest tulenevat soolareostust.

Inimese ja taimede vastasmõju teine aspekt käsitleb organismi plastilisust keskkonna muutumisega kohanemisel, st kohanemust abiootilisele keskkonnastressile, mis avaldub fenotüübis (nt muutused morfoloogias või füsioloogias), mille tulemuseks on organismi kohanemine, kohanematus või fenotüübi plastilise vastuse puudumine selle genotüübi määratud reaktsiooninormi piires ja organismi kohanemuse suurenemine, vähenemine või muutumatus (Ghalambor et al., 2007). Mõiste “reaktsiooninorm” hõlmab fenotüübi kõiki võimalikke plastilisi vastuseid, sealhulgas mingi konkreetse tunnuse muutumatust uues keskkonnas (Schlichting & Pigliucci, 1998).

Sellest tulenevalt võimaldab genotüüpide reaktsiooninormi empiiriline mõõtmine kunstlikult esile kutsutud abiootilise stressi tingimustes fenotüübilise plastilisuse põhjal hinnata keskkonnastressi määra ja tuvastada suurema fenotüübilise plastilisusega genotüüpe.

Antud töö eesmärgiks on hinnata hübriidhaava kloonide imijuurte morfoloogilist plastilisust ja reaktsiooninormi kohanemisel suurenenud õhuniiskuse ja keskkonnareostusega (pinnase õlireostus ja sooldumine). Töö käigus analüüsiti morfoloogiliste parameetrite kasutatavust stressiindikaatoritena ja uuriti, kas keskkonnastress põhjustab imijuurte morfoloogias alati samasuunalisi muutusi.

1. Hübriidhaab ja puittaimede imijuured

1.1. Hübriidhaava ökoloogiline ja majanduslik tähtsus

Lehtpuu hübriidhaab (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) on hariliku haava (*Populus tremula*) (ka euroopa haab või euraasia haab) ja Põhja-Ameerikast pärit ameerika haava (*Populus tremuloides*) looduslik või ristamisel saadud hübriid. Mõlemad vanemliigid kuuluvad paplite (*Populus*) perekonda ja mõlemal liigil on ulatuslik looduslik levila, harilik haab on üks kogu maailmas levinumaid puid (Worrell, 1995) ja ameerika haab levib kogu Põhja-Ameerikas (Dickmann & Kuzovkina, 2008). Need liigid on keskkonnahäiringutega kohanenud ja tihti lageraiejärgsete või põlengutes kahjustatud piirkondade esimesed koloniseerijad valdavalt juurevõsudega või seemnetega (Worrell, 1995). Hübriidhaab on esimese 20–30 aasta jooksul võimeline kasvama kiiremini kui selle vanemliigid (Rytter, 2006), on väga viljakas ja võib omakorda ristuda oma vanemliikidega (Suvanto & Pulkkinen, 2004). Rytter jt (2011) seletasid hübriidhaava paremust hübriidjõu, kahjurikindluse ja pikema sügise kasvuga, mis tuleneb vanemliikide kohanemisest pikema vegetatsiooniperioodiga. Üldiselt on hübriidhaava kloonide hulgas täheldatud märkimisväärset varieeruvust kasvus, fenoloogias, füsioloogias ja fütokeemias, mis annab head eeldused edasiseks aretuseks (Stener & Karlsson, 2004). (Tullus et al., 2012b)

Globaalne kliimasoojenemine on liikide leviku kontekstis lehtpuudele arvatavasti soodsam kui okaspuudele, seega on oodata lehtpuude osatähtsuse kasvu suurematel laiuskraadidel (Kupper et al., 2011). Hübriidhaab on boreaalse võotme kiireima kasvuga lehtpuuliik (Tullus et al., 2009), mille majanduslik tähtsus seisneb peamiselt puidu kasutamises paberitööstuse kõrgeväärtusliku toormena ja puidutööstuses. Kuna hübriidhaab on kiirekasvuline, kasutatakse tema puhul lühikest raieringi (Rytter, 2006; Tullus et al., 2009). Hübriidhaavikuid kasutatakse mahajäetud põllumajandusmaade ja põlevkivikarjäärade metsastamisel ja bioloogilise mitmekesisuse suurendamisel (Tullus et al., 2008) ning kõrge keskkonnareostusega piirkondade fütoremediatsioonis (Zalesny et al., 2009; Vaario et al., 2011). Samuti kasutatakse hübriidhaaba taimebioloogias mudelaimena (Hao et al., 2011), mistõttu on selle taimeliigi kohta palju erinevat teavet. Seetõttu muutub hübriidhaava uurimine Põhjamaades aina aktuaalsemaks.

1.2. Puittaimede imijuurte üldisloomustus ja ökoloogiline tähtsus

Juurestik moodustab puu kogumassist 10–45%, millest enamuse moodustavad känd ja jämedad juured (Finèr et al., 2007). Puude juurestiku moodustavad pikad sekundaarse ehitusega puud mehaaniliselt toetavad ning omastatud toitaineid ja vett taime juhtivad skelettjuured ning nendest hargnevad primaarse ehitusega imijuured. Imijuured varustavad puud vee ja toitainetega ning moodustavad massist väikese, ent juurepinnast suure osa. Näiteks kuusikutes moodustavad peenjuured (läbimõõt <2 mm) 3,5% kogu maa-alusest biomassist (Ostonen et al., 2005), nendest imijuured omakorda 6–36%, mis moodustab 10–45 m² imavat pinda puu kohta (Ostonen et al., 2011). Seetõttu on imijuurtel sama oluline roll taimede toitumises kui lehtedel, mis vastutavad süsiniku ja energia varumise eest.

Kuna mullas paiknevad toitained heterogeenselt, ei moodustu ka juured ruumiliselt ühtlaselt ning suurem osa peenjuurte biomassist asub pindmises 10–20 sentimeetri paksuses mullakihis, kus on kõige kõrgem mulla mikroobikoosluste aktiivsus ning lämmastiku ja orgaaniliste ainete kontsentratsioon (Truu et al., 2001) ning kuhu on koondunud ligikaudu 80% kõige peenemate juurte (<1 mm) biomassist (Ostonen et al., 2005). Üldiselt väheneb peenjuurte biomass sügavuse kasvades eksponentsiaalselt (Jackson et al., 1996), samas võib arvata, et sügavamate mullakihtide juurte panus ressursiomastamisesse muutub määravaks näiteks põua- ja kuumalainete sagenemisel.

Juured on modulaarsed ja püsiku igast esimeristeemist võib potentsiaalselt tekkida piiramatult teismeristeeme, mille tulemuseks on juurestiku paindlik arhitektuur, millel on laialdane keskkonnamuutustele reageerimise võime. Peenjuurte fraktsiooni klassifitseerimiseks *in vitro* ja *in vivo* võib kasutada topoloogilist süsteemi, mille puhul järke arvestatakse viimasena moodustunud juurest. Enamasti on esimest ja teist järku juured puitumata, primaarse ehitusega imijuured (Guo et al., 2004). See meetod peegeldab juurte funktsiooni (kõik tipmised juured klassifitseeritakse samas järjekorras) ja võimaldab hinnata juuresüsteemi arhitektuuri ökoloogilist tähtsust. (de Kroon & Visser, 2003)

Juurte läbimõõdu põhjal klassifitseerides loetakse peenjuurteks valdavalt <2 mm läbimõõduga juured ja ülejäänud juurestik loetakse jämedaks fraktsiooniks (Finèr et al., 2007), kuid tuleb arvestada ühtse definitsiooni puudumisega, diameetriklasside varieerumisega erinevates

töodes ning diameetriklassi valikul tihti juure funktsiooni eiramisega (Pregitzer et al., 2002). Tegemist on operatiivse definitsiooniga.

Funktsionaalsuse järgi jagunevad peenjuured aga kasvu- ja imijuurteks. Kasvujuurtest arenevad sekundaarse ehitusega skelettjuured, imijuurtel teiskasv puudub. Kasvujuurte ülesanne on laiendada juurestikku ning transportida imijuurte omastatud vesi ja toitained teistesse taimeosadesse. Erinevalt kasvujuurtest kasvavad imijuured oluliselt aeglasemalt. Vajadus eristada peenjuuri ja imijuuri seisneb selles, et peenjuurte fraktsiooni kuulub nii primaarse ehitusega imijuuri kui puitunud ning pikaalisemaid skelettjuuri, mistõttu ei annagi diameetriklassi järgi peenjuurteks jagamine mingit teavet juure funktsiooni kohta. (King et al., 2001)

Käesolevas töös käsitletakse ainult imijuuri – esimest ja teist järku primaarse ehitusega juuri, mis enamasti on mükoriissed (Ostonen et al., 2005).

Risosfääriks nimetatakse õhukest mullakihti, mis on otseses vastastikusel suhtes elusate taimejuurtega ja mõjutatud risodepositsioonist – süsinikühendite voost juurtest mulda. Aktiivselt kasvavad juured loovad unikaalse ja erilise keskkonna taimedele ja mikroorganismidele ning moodustavad mullas bioloogilise võrgustiku, kus toimub gaasi-, toitainete- ja veevahetus (Cardon & Whitbeck, 2007). Juurte risosfääris toimuvate protsesside mõistmine on elutähtis mitmest ökoloogilisest aspektist. Kliima muutumise ja vegetatsiooni vastasmõju modelleerimine oleneb suutlikkusest mõista maa-aluse biomassi jaotumist ning selle sõltuvust vegetatsioonitüüpide vahetumisest. Boreaalsete metsade peenjuurestiku olulisust mulla biotilisele ja abiotilisele keskkonnale kiire reageerijana ja põhilise orgaanilise süsiniku allikana (30–80%) (Kalyn & Van Rees, 2006) ei saa siinkohal alahinnata. Kuigi peenjuurte aineriingi moodustab kuni 80% mõnede ökosüsteemide maa-alusest käibest (de Kroon & Visser, 2003) ja peenjuured võivad esindada ligi 90% täiskasvanud taime juurte kogupikkusest, on nende funktsioneerimise metodoloogiline uurimine paiknemise, mõõtmete eripära ja lagunemise tõttu jätkuvalt raskendatud (Zobel et al., 2007).

Samuti on juurte hingamine märkimisväärne metsamuldadest eralduva CO₂ allikas ja autotroofne hingamine moodustab olulise osa metsaökosüsteemi süsinikubilansist. Juurte hingamine võib moodustada mõõtmismetoodikast, metsatüübist ja aastaajast sõltuvalt ühe

kolmandiku kuni üle poole mullahingamisest, kusjuures peenjuurte hingamine on intensiivsem kui jämejuurtel. (Makita et al., 2009)

Peenjuuri iseloomustab ka lühiealisus ja suur tundlikkus keskkonnastressi suhtes. Taime kohanemine keskkonnastressiga toimub suures osas peenjuurte biomassi, ruumilise jaotuse ning morfoloogiliste parameetrite muutuste kaudu (Ostonen et al., 2011).

2. Abiootiline keskkonnastress ja sellega kohanemine

Keskkonnastress on tingimuste kogum, mis põhjustab kõrvalekallet, st stressivastust taime elutegevuses, näiteks taime kasvus, morfoloogias, füsioloogilistes protsessides jne.

Stressorid jagunevad biootilisteks ja abiootilisteks. Biootilised stressorid on näiteks konkurents, allelopaatia, herbivooria, patogeenid, levila killustumine vms ja need tulenevad eelkõige organismide vastasmõjust (Nilsen & Orcutt, 1996). Abiootilised stressorid, mis võivad küll kaudselt tuleneda teiste organismide tegevusest (nt inimtekkeline kliimamuutus ja sellest tulenev ning keskkonnareostus), jagunevad omakorda füüsikalisteks ja keemilisteks:

1) **füüsikalised** nagu suurenenud õhuniiskus, põud, liigvesi, temperatuur, tuul, radiatsioon, mehaaniline koormus, mis võivad mõjutada füsioloogilisi mustreid nii positiivselt kui negatiivselt;

2) **keemilised** nagu pinnase õlireostus ja sooldumine, õhusaaste, raskemetallid, pestitsiidid, toksiinid ja mulla pH, mis toimivad stressoritena, kui neid on keskkonnas suhteliselt ebanormaalsel määral.

Taimed kogevad stressi ruumis ja ajas muutuvana. Nende tundlikkus stressorile muutub elutsükli käigus ja seda mõjutavad taime arengujärk, uuritavate taimeorganite vanus ning hooajalised keskkonnamustrid. Erinevalt kontrollitud tingimustes tehtud katsetest, mille käigus rakendatakse pidevat ja määratava tasemega stressi, pole looduslikes oludes stressi intensiivsus ja mõju taimetele alati võrdne ega kergelt määratletav. (Nilsen & Orcutt, 1996)

Stressi kordumisel või pikal jätkumisel muutub see krooniliseks stressiks, millel on tõenäoline mõju taime füsioloogiale ning vaatamata stressori varieeruvale tasemele kohaneb taim uute tingimustega, tekib stressiresistentsus (Miidla, 1984) ja stress väheneb. Taime ehituse modulaarse eripära tõttu võib stressi tase ja vastus ning kohanemine sellele varieeruda samaaegselt ka sama taime erinevate osade vahel ja nende variatsioonide integreerimine taimefüsioloogiliselt on tõeline väljakutse (Nilsen & Orcutt, 1996).

Boreaalsete metsade puittaimed puutuvad erinevate abiootiliste stressoritega üldiselt kokku mullas juurte kaudu, sest juured varustavad taime vee ja toitainetega ning stressoritega vahetu kokkupuute ja tundlikuse tõttu on imijuured potentsiaalselt esimesed, mille talitluses ja morfoloogias toimub kõrvalekalle, st avaldub stressivastus. Imijuurte morfoloogiliste

stressivastuste parem mõistmine laiendaks meie arusaama taime komplekssetest abiootilise stressi vastustest (Wang & Yamauchi, 2006). See omakorda võimaldab paremini mõista taime kohanemist abiootilise stressiga.

Käesolevas töös käsitletakse ainult kolme abiootilist stressorit, mis kutsuvad esile katsetaimede (käesolevas töös hübriidhaava kloonide) imijuurte morfoloogilisi muutusi: suurenenud õhuniiskus, pinnase õlireostus ja sooldumine.

2.1. Õhuniiskus

Tänapäevased kliimamudelid (Wentz et al., 2007) ja Maa ajaloos eelnenud globaalsete soojenemisperioodide uuringud (Pagani et al., 2006) kinnitavad, et globaalse kliimasoojenemisega kaasneb suurte lokaalsete varieeruvustega muutus atmosfääri veeauru sisalduses ja sademete koguses ning kõrgematele laiuskraadidele ennustatakse niiskemat kliimat (IPCC, 2007). Põhja-Euroopas ja Baltikumi piirkonnas tõuseb aastaks 2100 arvatavasti õhutemperatuur 2,3–4,5 °C ning aastane sademete kogus 5–30%, mõnede andmete kohaselt võib talviste sademete hulk suurened kuni 40% (Kont et al., 2003). Suurenenud sademete hulk on seotud suurenenud pilvisuse ja sajupäevade arvuga, seepärast tõuseb ka õhuniiskus ning õhutemperatuuri üldise tõusuga suureneva õhu veeauru mahutavuse tõttu suureneb üldine atmosfääri veeaurusisaldus (Kont et al., 2003). Veeaur talitleb olulisima kasvuhoonegaasina (Held & Soden, 2000), neelab infrapunakiirgust ja tõstab õhutemperatuuri ning vastavalt Clausius-Clapeyroni võrrandile (Wentz et al., 2007) suurendab omakorda atmosfääri veemahutavust, mis mõjutab märkimisväärselt edasist kliimasoojenemist (Held & Soden, 2000). (Tullus et al., 2012a)

Niiskem õhk vähendab veeaururõhu gradienti taimelehe ja atmosfääri vahel (ehk veeauru rõhkude erinevust, *vapour pressure deficit* – VPD), mis on koos õhulõhede juhtivuse ja mulla veepotentsiaaliga (Xue et al., 2004) peamine transpiratsiooni liikuma panev jõud (Kupper et al., 2011). Kui VPD vähenemisega samal ajal langeb taimelehe temperatuur, väheneb VPD evaporatsiooni tõttu lehe pinnalt veelgi (Kupper et al., 2011). Kuna vähenev VPD võimaldab nii leht- kui okaspuudel suuremat õhulõhede juhtivust (Sellin & Kupper, 2004; 2005), võib suurenenud atmosfääriniiskuse tingimustes oodata puude suuremat produktsiooni ning taimerakkude veepotentsiaali ja turgori suurenemist (Taylor & Davies, 1986). Esmased tulemused metsaökosüsteemide õhuniiskusega manipuleerimise ekperimentis (FAHM)

näitasid aga, et niiskemas õhus kasvanud puude vähenenud transpiratsiooniga kaasneb väiksem mineraaltoitainete omastamine, millele viitavad nii vähenenud kasv kui N ja P kontsentratsioonid lehtedes (Tullus et al., 2012a). Seega võib eeldada muutusi haava imijuurte morfoloogias, et kompenseerida lehtede mineraaltoitainete puudust.

2.2. Pinnase õlireostus

Inimtegevused nagu naftatootmine, nafta rafineerimine kergeks või raskeks kütteõliks ja naftasaaduste transportimine on mitmel puhul põhjustanud mulla pealmiste kihtide reostust süsivesinikega, sealhulgas toor- või sünteetilise toornafta, bensiini, diisli, kerge või raske kütteõliga (Robertson et al., 2007) ning seetõttu on mulla reostus erinevatel bioloogilistel ja füüsikalistel põhjustel raskesti lagunevate orgaaniliste ühenditega üldlevinud probleem iseäranis tööstuspiirkondades (Romantschuk et al., 2000).

Veest tihedam (raske) kütteõli vähendab ja pärsib mulla läbilaskvust, sest orgaanilised süsivesinikud täidavad mullapoorid ja tõrjuvad välja taimejuurtele elulise vee ja õhu (Brian, 1977). Õlireostus halvendab ka teisi mulla omadusi nagu struktuur, infiltratsioon, hüdrauliline juhtivus, niiskusesisaldus, pH ja lasuvustihedus, millest sõltuvad mulla ja taime vahelised vastasmõjud, mis omakorda määravad juure ja võrse arengu ning kasvu (Michael, 1978). Udo ja Fayemi (1975) täheldasid õliga reostatud mullas taimede veepuudusele viitavat kasvu halvenemist ja lehtede kloroosi koos taimede veetustumisega.

Ka Essien jt (2010) näitas katses hariliku vignaga (*Vigna unguiculata*), et toornaftareostus põhjustas keskmise mullaniiskuse vähenemist ligikaudu 4%, mulla füüsikaliste omaduste halvenemist ja pH väärtuse tõusu, millest tingitud kuni 90% vähenud juurte pikkuse ja 2% vähenenud evapotranspiratsiooni põhjal järeltas ta pärsitud juurekasvu.

Bartha (1976) arvates avaldub raskete kütteõlide toksilisus taimejuurtele mitte otsesel kokkupuutel taimerakkudega, vaid õli mõju mulla füüsikalistele omadustele ning taimejuurte ja mulla mikroorganismide vastasmõju kaudu. Nimelt ammendab süsivesinike komponentide lagundamine mulla mikroorganismide poolt mulla hapnikuvaru, hapnikupuudus ja hapnikuvaeses mullas moodustunud toksiline vesiniksulfiid kahjustavad juuri. Samuti on Bartha täheldanud õli lagundavate mikroorganismide konkurentsi lämmastiku, fosfori ja teiste mineraaltoitainete pärast.

Taimede kohanemist õlireostusega on suhteliselt raske uurida, sest looduslikes tingimustes ei ole õlireostus pinnases enamasti ühtlaselt jaotunud ning pole palju teavet juurte stressivastustest mullas ebaühtlaselt levinud orgaanilistele saasteainetele. Samuti pole täpselt teada, kas juured kasvavad reostuskolde poole või pigem väldivad seda, kuigi taimedelt võiks eeldada reostuskolde vältivat strateegiat (Langer et al., 2010). Ühes sellises katses hariliku aedoaga (*Phaseolus vulgaris*) tuvastasid Langer jt (2010), et kui mullas homogeenelt levinud toornaftareostus põhjustas üldist võrse ja juure biomassi vähenemist, siis ebaühtlaselt levinud toornaftareostus põhjustas reostuskoldes lokaalselt juurte biomassi ja pikkuse suurenemist ja keskmise diameetri vähenemist, seda süsteemselt sama taime mulla reostamata osas kasvavate juurte biomassi ja pikkuse arvelt, ilmselt veepuuduse ületamiseks.

2.3. Sooldumine

Soolastressi põhjustavad kas niisutusvees lahustunud mineraalide, lisatud väetise ja mullaparandajate, boreaalses võõtmes talvistes tingimustes laialt levinud teede soolamise, kõrge veetaseme ja/või üleujutusega risosfääri kandunud soolade otsene mõju (Carrow, 1998) või iseäranis kuumades keskkonnatingimustes muutunud mullavee seisundi ja teiste füüsikaliste omaduste kaudne mõju (Bonos & Huang, 2006).

Soola kogunemisel mullas võib taime kasvu pärssida või juuri kahjustada sooldumise osmootne ja veepuudust põhjustav mõju või sooldumisega kaasnev ülemääraste ionide tsütotoksiline mõju (Bernstein & Kafkafi, 2002). Vastavalt Munnsi (2002) kahefaasilisele mudelile pärssib kasvu esmalt mulla vähenenud osmootsest potentsiaalst (Ψ_0) tulenev osmootne stress ja seejärel Na^+ toksilisus. Tekkinud osmootset stressi reguleerivad kasvu pärssivad signaalid juurtest ja erineva soolaresistentsusega genotüübid reageerivad selles faasis ühtemoodi kasvu vähenemisega. Iooniline stress areneb aja jooksul võrses ionide kogunemise käigus. Selles kasvu vähenemise teises faasis võivad erineva soolaresistentsusega genotüübid reageerida erinevalt. Kasvu vähenemist põhjustavad lisaks sooldumisest tulenevad sekundaarsed stressid nagu tasakaalu puudumine toitainete kontsentratsioonides ja oksüdatiivne stress.

Sooldunud mullas muutub juure-võrse suhe juure kasuks (Wang & Yamauchi, 2006), millega taim üritab parandada juurte häiritud võimet omastada mullast toitaineid ja vett (Bernstein & Kafkafi, 2002).

Sarnast kohanemist näidati katses papli (*Populus*) kloonidega (Fung et al., 1998), milles niisutusel 0,5–1,0% soolalahusega vähenes taimede maapealse osa kasv proportsionaalselt rohkem kui maa-alune biomassi kasv. Singh jt (1999) näitasid katses paplitega (*Populus deltoides*), et niisutusel 50–200 mM soolalahusega vähenes võrse kuivmassi kasv 12–69%, aga juurte kuivmassi kasv 2–9%.

Chen jt (2002) näitasid katses kolme papli genotüübiga, et taimede tugeva soolastressi (soolalahus kontsentratsioonil 300 mM) taluvus ei sõltunud transpiratsioonist ja ksüleemivoolu soolasisaldusest, vaid suuresti taimede võimest takistada soola transporti lehtedesse. Seda seostati ionide apoplastilise transpordi pärssimise ja juure kasvuvõetme vakuoolidesse Na^+ ja Cl^- ionide sidumise tõhususega (Harvey, 1985).

Sellest võib järeldada, et haab kohaneb sooldumisega juure-võrse suhte kasvatamisega juure kasuks, et suurendada tsütotoksiliste soolaioonide sidumise võimet juure kasvuvõetme vakuoolidesse ja leevendada osmootselt stressist tulenevat veepuudust.

3. Peenjuurte keskkonnastressiga kohanemise mehhanismid

Taimed on sessiilsed organismid, mis ei saa vältida keskkonna poolt seatud piiranguid, mille tulemusel on evolutsioonilised protsessid kujundanud taimedel rikkalikult plastilisi kohanemismuutusi, näiteks morfoloogilisi ja füsioloogilisi, mis võimaldavad populatsioonide säilimist ka ebasoodsamates oludes (Nilsen & Orcutt, 1996).

Taime veomastamise optimeerimine ongi abiootilise stressiga kohanemisel kõige olulisem (Aroca et al., 2012) ning siinkohal ei saa alahinnata peenjuurte, eriti puitumata imijuurte rolli. Samuti oletatakse, et kuna imijuured on mulla füüsikalise ja keemilise osaga vahetus kokkupuutes, reageerivad need kiirelt abiootilisele stressile ning võivad olla puistu halvenenud talitluse varajane tundlik indikaator veel enne nähtavate maapealsete sümptomite ilmnemist (Kalyn & Van Rees, 2006).

Taimede stressitaluvust võib tõsta mitmel viisil, sealhulgas tavapärase aretus- ja molekulaartehnoloogia ning genoomikaga. Eelnev aretustegevus on olnud suuresti seotud soodsates keskkonnatingimustes suure produktiivsusega sortide loomisega. Viimastel aastatel on tehtud märkimisväärseid edusamme abiootilise stressitaluvuse parandamises biotehnoloogiliste meetodite abil geenmuundamise või tavapärase aretustegevuse tõhustamisega, kuid seda piiravad mitmed tegurid nagu geneetilise varieeruvuse vähesus ja stressitaluvust reguleerivate geenide või stressitaluvuse mehhanismide mittetundmine. (Bonos & Huang, 2006)

3.1. Fenotüübiline plastilisus

Organismi genotüübi võimet kohaneda füsioloogiliselt ja/või morfoloogiliselt keskkonnatingimuste muutusega ning produtseerida erinevaid fenotüüpe nimetatakse fenotüübiliseks plastilisuseks (Sultan, 2000), mida võib käsitleda kui ühe genotüübi mingi kindla tunnuse ja omaduse kohanemise näitajat. Fenotüübiline plastilisus varieerub liikidevaheliselt ja -siseselt, sest plastilisus on geneetiliselt reguleeritud, kuid ei korreleeru geneetilise heterogeensusega (Nilsen & Orcutt, 1996). See tähendab, et mõned genotüübid või nende teatud geneetiliselt reguleeritud tunnused on teistest rohkem plastilised, mistõttu tulemuseks võib olla fenotüübi kohanemine, kohanematus või plastilise vastuse puudumine selle genotüübi määratud reaktsiooninormi piires ja organismi kohanemuse suurenemine, vähenemine või muutumatus (Ghalambor et al., 2007). Samuti on fenotüübilisel plastilisusel

alati hind, mis piirab antud tingimustes võimalikku väljendatud plastilisuse määra (Valladares, 2007). Seepärast rakendub plastilisus stressitingimustes ning reaktsiooninorm hõlmabki genotüübi kõiki võimalikke plastilisi vastuseid mingis kindlas keskkonnas mingi kindla stressifaktori suhtes, sealhulgas mingi konkreetse tunnuse muutumatust selle faktori suhtes (Schlichting & Pigliucci, 1998).

Taim võib olla nt morfoloogiliselt või füsioloogiliselt plastiline keskkonnafaktorite erinevate kombinatsioonide suhtes ja võimeline tänu plastilisusele kontrollima oma ressurside, nt biomassi paigutust vastavalt piirangutele muutunud keskkonnas. Suurema plastilisusega taimed suudavad edukamalt reageerida keskkonnatingimuste muutustele ja tõenäoliselt on nende ökoloogiline nišš laiem (Sultan, 2000).

Peenjuurte morfoloogiline plastilisus on mehhanism, mille kaudu taimed reageerivad mulla vee- ja toitainevarude ning nende kättesaadavuse muutustele kohandades peenjuurte kudede piiratud ressurside omastamise efektiivsust (Freschet et al., 2013). Mõned morfoloogilised modifikatsioonid üksiku juure tasandil võivad mõjutada terve juurestiku struktuurilisi ja füsioloogilisi karakteristikuid ning üksiku juure ja terve juurestiku tasandil kasutatakse juurte plastilisuse võimaliku näitajana mitmeid morfoloogilisi parameetreid, mida seostatakse maa-aluste ressurside omastamise võime ja keskkonnastressiga kohanemisega (Abenavoli et al., 2012).

Juurte morfoloogilistest parameetritest tuletatud biomassi jaotumise mustreid ja juure struktuuri iseloomustavate funktsionaalsete parameetrite nagu eripinna (SRA), eripikkuse (SRL) ja juure kudede tiheduse (RTD) plastilisus võimaldab puul märgatavalt mõjutada juurtega vahetus kontaktis olevat mulda ning selle kaudu muuta oma risosfääri füüsikalisi ja keemilisi omadusi (Kucbel et al., 2011). See on juurte kvalitatiivne kohanemine, mis on taime abiootiliste keskkonnastressidega adapteerumisel vähemalt sama oluline kui summaarne biomassi paigutus ehk kvantitatiivne kohanemine (Freschet, et al., 2013).

3.2. Peenjuurte kohanemist peegeldavad morfoloogilised parameetrid

Juurte morfoloogia on geneetiliselt reguleeritud, kuid imijuurte kuju ja suurust ning imijuurte talitlemise efektiivsust peegeldavad parameetrid kujunevad siiski biootiliste ja abiootiliste

tegurite koosmõjul (Ostonen et al., 1999). Genotüübi mõju imijuurte morfoloogilisele plastilisusele võimaldab hinnata kloonide uurimine.

Kuju ja suurust väljendavad ehk morfoloogilised parameetrid

Keskmine diameeter (**AvgDiam**, mm) on parameeter, mis klassifitseerib juured operatiivselt ning mille põhjal saab arvutada juurte pindala ja ruumala (Zobel et al., 2007). Imijuurte diameeter, mis sõltub kesksilindri ja seda ümbritsevate kudede (endoderm, koore parenhüüm, eksoderm) rakkude suurusest, varieerub liigisiselt suuresti (Ostonen et al., 1999). Erineva diameetriga juurte sügavusjaotus peegeldab taime mullakeskkonna kasutamist mõjutavate tegurite ulatust (de Kroon & Visser, 2003), samuti on peenjuurte keskmise diameetri muutumist erinevatel taimeliikidel reaktsioonina kasvukeskkonna mineraaltoitainete sisaldusele näidanud Zobel jt (2007). Läbimõõt korreleerub positiivselt mulla veolude ja mehaanilise takistusega (suurem lasuvustihedus, kivisus jm) (de Kroon & Visser, 2003) ning on kergetes lõimistes suurem kui raskemates ja okaspuudel suurem võrreldes lehtpuudega (Ostonen et al., 2007a). Minirisonide katsete põhjal (Gu et al., 2011) on peenjuurte keskmine diameeter lisaks sõltuvusele mullatingimustest (Ugawa et al., 2010) korrelatsioonis nende järgu, eluea ja keskmise lagunemise kiirusega. Pikkus ja pindala on juure vee ja toitainete omastamise võime esmased määravad ning peenemad juured on selles osas dünaamilisemad, nende moodustamine juure moodustamiseks ja säilitamiseks kulutatud süsiniku seisukohast odavam (Pregitzer et al., 2002) ja need suudavad tungida peenematesse mullapooridesse. Yanai jt (1995) oletasid peenjuurte toitainete omastamise katse põhjal, et kõige tõhusam juur oleks “lõputult peen”, kuid need on lühema elueaga, biotilistele teguritele haavatavamad, kasvavad aeglasemalt ning ksüleemi väiksema ristlõike pindala tõttu vee transportimisel vähem tõhusad (de Kroon & Visser, 2003).

Keskmine imijuure pikkus (**TipL**, *tip length*, mm) ja keskmine imijuure mass (**TipW**, *tip weight*, mg) sõltuvad puuliigist, mullatingimustest ning ektomükoriissetel puudel ka koloniseerivast seeneliigist (Ostonen et al., 2009). Kuna keskmine imijuure pikkus on sesoonselt väiksem juuretippude intensiivse moodustumise ajal, Eestis juulis ja septembris-oktoobris, ja väiksem mass on vastmoodustunud imijuurtel, siis on nende parameetrite abil võimalik tuvastada intensiivseimat juuretippude moodustumise aega (Ostonen, 1997).

Hargnevus (**RTFW/RTFL**, *root tip frequency per weight/length*, nr mg^{-1} või mm^{-1}) ehk tippude sagedus kas massi- või pikkusühiku kohta iseloomustab kasvukoha mullatingimusi ja

võib vahel viidata ka stressioludele. Näiteks suurendab hargnevust liivasema lõimisega mullaosakeste mehaaniline kahjustav toime, kus tekkinud haavakude talitleb meristeemina (Feil et al., 1986). Ühtlasi on märgatud seost peenjuurte hargnevuse ja õhu saastatuse vahel: saastunumate piirkondade puudel esineb väiksem hargnevus kui vähem saastatud alade tervetel puudel (Jozefaciukowa, 1990).

Imijuurte talitlust peegeldavad ehk funktsionaalsed parameetrid

Eripind (**SRA**, *specific root area*, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) on üldine peenjuurte ökomorfoloogia näitaja, mis iseloomustab juurte kontakti mullaga ja seega kaudselt ka funktsionaalset efektiivsust ning millela on võimatu hinnata imavat juurepinda (Lõhmus et al., 1989). Eripind sõltub puu vanusest (Rosenvald et al., 2012) ja on pöördvõrdelises seoses nii diameetri kui juure kudede tihedusega (Ostonen et al., 1999). Nii juure läbimõõdu kui kudede tiheduse vähenemisel eripind suureneb, seega on funktsionaalselt kõige efektiivsemad peened, väikese tihedusega juured, mis on omased viljaka kasvukohaga kiirekasvulistele taimedele (Wahl & Ryser, 2000). Eripinna väärtuse määrab ära enamasti kudede tiheduse varieerumine (Ostonen, et al., 2007b). Stressitingimustele, sealhulgas madalale toitainete, eriti lämmastiksisaldusele reageerivad puud üldiselt eripinna suurendamisega (Lõhmus et al., 1989), kuid juurte läbimõõtu ja kudede tihedus võivad muutustele kasvukeskkonnas reageerida vastassuunaliselt, mistõttu reaktsioon stressitingimustele ei kajastu juurte eripinna väärtuste muutustes (Ostonen et al., 2007b).

Eripikkus (**SRL**, *specific root length*, m kg^{-1}) on kõige laialdasemalt kasutatav juureparameeter, see iseloomustab samuti juure funktsionaalseid muutusi (Zobel et al., 2007) ning biomassi jaotuse kaudu tulu ja kulu suhet juurepinna moodustamisel. Arvatakse, et imijuurte pikkus on proportsioonis ressursside omastamisega (tulu) ja mass on proportsioonis ehituse ja ülalpidamisega (kulu) (Eissenstat & Yanai, 1997). Eripikkuse, eripinna ja hargnevuse suurenemine võimaldavad taimel seega sama biomassiühiku kohta suuremat kontakti mullaga (intensiivne strateegia) (Lõhmus et al., 2006), kuid füsioloogilise vastusena ebasoodsatele oludele võib SRL-i suurenemine ja tiheduse vähenemine olla vastuoluline (Ostonen et al., 2007b). Eripikkuse ja diameetri korrelatiivne seos on võrreldes imijuurte eripinnaga tugevam, sest SRL on läbimõõdust pöördruutsõltuvuses (Parts, 2010). Diameetri ja kudede tiheduse varieeruvuse liigispetsiifilisuse tõttu võib täheldada SRL-i väärtuste varieerumist liikide vahel. (Ostonen et al., 2007b).

Juure kudede tihedus (**RTD**, *root tissue density*, kg m⁻³) sõltub eelkõige juure vanusest – noored juured pole puitunud ja on üldiselt väiksema kuivainesisaldusega, peenjuure puitumisel selle tihedus kasvab (Kucbel et al., 2011). Juure tiheduse kasvades väheneb ainete apoplastiline transport, seega võib RTD abil hinnata juure funktsionaalset seisundit (Ostonen et al., 1999). Ostonen jt (1999) järgi näitab trend viljakate muldade puhul RTD vähenemist ja SRA kasvamist, mis viitab imijuurte suuremale funktsionaalsele efektiivsusele. Suur juuremassi tihedus on tavaliselt iseloomulik stressirikas keskkonnas kasvavatele liikidele (Kucbel et al., 2011).

Imijuurte ülalnimetatud morfoloogilisi ja funktsionaalseid parameetreid hinnati ka käesoleva töö praktilises osas, et analüüsida hübriidhaava imijuurte morfoloogilist plastilisust abiootilise keskkonnastressiga kohanemisel.

4. Õhuniiskuse, sooldumise ja õlireostusega manipuleeritud hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) imijuurte morfoloogilise plastilisuse uurimine

4.1. Materjal ja meetodika

4.1.1. METLA Haapastensyrjä ja FAHM katsealade kirjeldus

Hübriidhaava kloonide imijuurte morfoloogilisi uuringuid tehti kahe erineva manipulatsioonikatse raames:

1) Rõka metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise katsealal

Metsaökosüsteemi katseala paikneb Lõuna-Eestis, Tartumaal, Rõka külas (58°24'N ja 27°29'E) endisel põllumaal. Mullatüüp on viljakas kahkjass liivsavimuld (Endogenic Mollic Planosol, WRB) huumushorisoni paksusega kuni 27 cm (Kupper et al., 2011). Vegetatsiooniperiood kestab tavaliselt aprilli keskpaigast oktoobrini. Katseala on kerge kallakuga, maksimaalse kõrguste vahega 8 m. 2006. a. kevadel (kultuur hävis ebakvaliteetse istutusmaterjali tõttu) ja sügisel istutati 2,7 ha suurusele tarastatud alale hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) puistu (puude vahekaugus 2 m). Lisaks hübriidhaavale istutati katsealale ka arukaske, sangleppa, harilikku haaba, triploidset haaba ning vähemal määral ka teisi puuliike. Katsealale paigutati ühtekokku 9 väiksemat eksperimendiala ehk "katseringi", kus viidi läbi metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise eksperiment. Igas katseringis kasvas 196 puud, neist pooled olid hübriidhaavad ja pooled arukased. Puude vahekaugus katseringides oli üks meeter. Igas katseringis kasvas kahte erinevat tüüpi alustaimestut („lihtne” ja „mitmekesine”). Lihtne alustaimestut koosnes peamiselt timutist (*Phleum pratense*) ja teistest kõrrelistest, olles küllalt liigivaene. Mitmekesine alustaimestik oli liigirikkam, sisaldades eeskätt raiesmikult kogutud ja mätastena istutatud või külvatud metsataimi (Kupper et al., 2011; Parts et al., 2013; Kukumägi et al., 2014). Õhuniiskuse kunstlik suurendamine ümbritseva välisõhu suhtes toimus kolmes katseringis (H1, H2, H4). Kolm katseringi (C1, C2, C4) moodustasid kontrollalad, kus õhuniiskusega ei manipuleeritud. Suhtelise õhuniiskuse langemisel alla 75% niisutati H1, H2, H4 katseringe juuni algusest augusti lõpuni 2008. aastal ja mai algusest septembri lõpuni 2009. aastal. Keskmise suhtelise õhuniiskuse tõus oli niisutusperioodide jooksul 7% ning see sõltus peamiselt tuule kiirusest katseringides (tuul kandis veeudu katseringist välja ja niisutuse efektiivsus langes). Katsetingimuste tehnilist poolt on detailselt kirjeldanud Kupper et al., (2011). (Kupper & Söber, 2009)

2) Soome Metsainstituudi (METLA) Haapastensyrjä uurimisjaamas

Katseala paikneb Soome Metsainstituudi Haapastensyrjä uurimisjaamas (lisa 2) Lõuna-Soomes (60° 37'N 24°25'E), kus 2009. aastal seati üles välikatse hübriidhaabade sobivuse hindamiseks õliga reostatud või kõrge soolsusega mulla fütoremediatsiooniks. Mullatüüp oli kõduhorisondita leedemuld orgaanilise horisondi paksusega kuni 30 cm, mis sõeluti elusast taimsest materjalist ja kividest puhtaks (4 mm sõel) ning seejärel homogeniseeriti. Katseala oli jaotatud kolmeks katsesektoriks: kontrollsektoriks (C), mille kasvupinnast ei töödeldud, õlireostuse katsektoriks (O), mille kasvupinnasesse oli enne puude istutamist homogeenselt segatud 1% rasket kütteõli (Neste Oil Ltd.) (Mukherjee et al., 2013) ja kõrge soolsusega katsesektoriks (S), mida niisutati vegetatsiooniperioodil kraaniveega NaCl kontsentratsioonil 80 mM ja 160 mM (Vaario et al., 2011). Katsesektoritesse istutati kolmes korduses 15 hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) ja 5 hariliku haava (*Populus tremula*) kloonitaime (Yrjälä, et al., 2011).

4.1.2. Juureproovide kogumine ja töötlemine

Haapastensyrjä katsealal koguti 2010. aasta septembris igast katsesektorist (C, O, S) nelja hübriidhaava klooni (14, 23, 457 ja 476) imijuurte proovid. Erandiks olid kloonid 457 ja 476, sest nende puhul võeti proovid vastavalt vaid kontrollsektorist (C) ja õlireostusega sektorist (O) ning kontrollsektorist (C) ja kõrge soolsusega sektorist (S). Kokku koguti Haapastensyrjä katsealalt kloonide 14 ja 23 kolme töötluse (C, O, S) kolme puu kolmelt juurelt 54 proovi ja kloonide 457 ja 476 kahe töötluse (vastavalt C, O ja C, S) kolme puu kolmelt juurelt 36 proovi, proovide koguarv oli 90. Rõka katsealal võeti 2009. aasta oktoobris hübriidhaava ainsa istutatud klooni (34) imijuurte proovid H1 ja H4 (suurenenud õhuniiskus) ning C1 ja C4 (kontroll) prooviringide mitmekesise ja lihtsa alustaimestuga sektoritest, igast sektorist üks kuni neli proovi. Käesolevas töös ei käsitleta eraldi alustaimestiku mõju juureparameetritele, mida on kirjeldanud Parts (2010; 2013). Nii Haapastensyrjä kui Rõka katsealal võeti juureproovid labidaga mulla pindmisest kihist vastavate kloonide vahetus kuni 20 cm sügavuselt. Haapastensyrjä katsealal tagati imijuurte kuuluvus uurimisalusele kloonile külgujuure ettevaatliku terves ulatuses väljakaevamisega. Juureproove säilitati töötlemiseni koos mullaga valgus- ja õhukindlatesse kilekottidesse pakendatult külmkapis (+4 °C).

Juured pesti mullast välja kraaniveega ning igast proovist eraldati mikroskoobi all kaks kuni neli alamproovi, igas 10 kuni 36 (keskmiselt 20) juuretippu. Alamproovide juuretipud puhastati mõõtmisvõime vältimiseks pintsliga ja nõelaga mikroskoobi all mullaosakekestest. Kõikidest imijuurte alamproovidest mõõdeti programmiga WinRHIZO järgmised

parameetrid: juurte kogupikkus L (cm), projektsioonpindala PA (cm²), pindala SA (cm²) ja keskmine läbimõõt D (mm). Järgnevalt kuivatati juuri kaks tundi temperatuuril 70 °C ning kaaluti analüütilise kaaluga 0,05 mg täpsusega. Metoodikat on täpsemalt kirjeldanud Ostonen jt (2007b).

Ülalnimetatud mõõdetud näitajate põhjal arvutati järgmised parameetrid:

$$1) \text{ Proovi ruumala } V = \frac{2 \times \pi \times D \times L}{4}$$

$$2) \text{ Juure eripind } SRA = \frac{SA}{W} = \frac{SA}{RTD \times V} \text{ (m}^2 \text{ kg}^{-1}\text{)}$$

$$3) \text{ Eripikkus } SRL = \frac{L}{W} = \frac{L}{RTD \times V} \text{ (m g}^{-1}\text{)}$$

$$4) \text{ Juure kudede tihedus } RTD = \frac{W}{V} \text{ (kg m}^{-3}\text{)}$$

$$5) \text{ Tipupikkus } TipL = \frac{L}{N} \text{ (mm), kus N on tippude arv}$$

$$6) \text{ Tipu ruumala } TipV = \frac{V}{N} \text{ (mm}^3\text{), kus N on tippude arv}$$

$$7) \text{ Tipumass } TipW = \frac{W}{N} \text{ (mg), kus N on tippude arv}$$

$$8) \text{ Imijuuresagedus juure massiühiku kohta } RTFW = \frac{N}{W} \text{ (nr mg}^{-1}\text{)}$$

$$9) \text{ Imijuuresagedus pikkusühiku kohta } RTFL = \frac{N}{L} \text{ (nr cm}^{-1}\text{)}$$

Mõõdetud ja arvutatud imijuureparameetrite aritmeetilised keskmised ning standardvead on esitatud lisa 4 tabelis 1. Imijuurte mõõdetud morfoloogiliste parameetrite (AvgDiam, TipL, TipW, RTFW, RTFL) põhjal arvutatud funktsionaalsed parameetrid (SRA, SRL, RTD) võimaldavad teha üldistusi imijuurte morfoloogilise plastilisuse kvalitatiivse iseloomu ja kvantitatiivse stressivastuse kohta ning selgitada, kas mingit funktsionaalset parameetrit võib

käsitleda stressiindikaatorina ning kas mistahes keskkonnastress põhjustab samasuunalisi kloonidevahelisi plastilisi muutusi imijuurte morfoloogias.

Kloonide imijuureparameetrite plastilisuse indeks (PI) (lisa 5, tabel 2 ja lisa 6, tabel 3) arvutati vastava klooni kõigi töötluste vastava parameetri maksimaalse ja minimaalse väärtuse vahe jagamisel maksimaalse väärtusega. Klooni morfoloogiliste parameetrite keskmine plastilisuse indeks (*CAvg – clone average plasticity index*) on vastava klooni kõigi mõõdetud imijuureparameetrite plastilisuse indeksite summa ja nende arvu jagatis.

Haapastensyrja katsealal mõõdeti koos imijuureproovide võtmisega kloonipuude kõrgused katsevariantides, mille põhjal arvutati nende keskmised ja standardhälbed (SD). Rõka katseala klooni 34 kontrolli ja töötluste puude kõrguseid 2009. aastal on analüüsinud Tullus jt (2012a). (Lisa 6, tabel 3). Imijuurte morfoloogilise plastilisuse sidumine kloonide kõrgusega võimaldab plastilisuse võrdlemisel taime maapealse kasvuga saada teavet taimede stressitaluvuse kohta.

4.1.3. Statistilised meetodid

Andmetöötluseks kasutati tarkvara STATISTICA 10.0. Kõigi imijuureparameetrite puhul kontrolliti, kas mõõdetud väärtused on kooskõlas normaaljaotusega, milleks kasutati Kolmogorov-Smirnovi, Lillieforsi ja Shapiro-Wilki teste. Kõigi testide puhul oli olulisuse nivoo $p = 0,05$. Parameetrite aritmeetiliste keskmiste võrdlemiseks katsevariantides kasutati 95% usaldusvahemikke ja Tukey testi. Klooni 34 tunnuste jaotused erinesid normaaljaotusest ja erinevuste olulisust hinnati Kruskal-Wallise testiga.

4.2. Tulemused

4.2.1. Keskkonnastressi mõju imijuurte morfoloogiale

Analüüsitud keskkonnastressid – kõrgem õhuniiskus, sooldumine ja õlireostus mõjutasid oluliselt imijuurte morfoloogiat (lisa 4, tabel 1). Suurima mõjuga oli õlireostus, mille puhul kõigi reostunud alal kasvanud kloonide imijuurte keskmise diameeter (AvgDiam, mm) vähenes oluliselt, kahel kloonil kolmest (14 ja 457) vähenes oluliselt imijuuresagedus (RTFW, tippe mg^{-1}) ja imijuuretipu mass (TipW, mg), moodustunud imijuuretipud olid usaldusväärselt pikemad (TipL, mm) ja neid oli juurte pikkusühiku kohta vähem (RTFL, tippe mm^{-1}). Sooldumine põhjustas morfoloogilisi muutusi ühel kloonil kolmest (14), sarnaselt õlireostusega vähenes imijuuretipu keskmine mass ja vastavalt oli suurem imijuuresagedus,

aga reaktsioon oli nõrgem, ning vastupidselt õlireostusele suurenes samal ajal ka imijuuretippude arv imijuurte pikkusühiku kohta. Üks kloon (476) kolmest reageeris sooldumisele hargnevuse selge vähenemisega – nii RTFW kui RTFL vähenesid oluliselt.

Suurenenud õhuniiskus ei põhjustanud imijuurte läbimõõdus, imijuuretippude pikkuses, imijuuretipu massis, imijuuresageduses massiühiku ja imijuuresageduses pikkusühiku kohta samasuunalisi muutusi (lisa 4, tabel 1).

Funktsionaalsetest parameetritest põhjustas õlireostus kahel õliga töödeldud kloonil kolmest (14 ja 457) nii eripinna (SRA, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) kui ka eripikkuse (SRL, m kg^{-1}) suurenemist. Kuigi ühes kloonis (23) juure kudede tihedus suurenes (RTD, kg m^{-3}), siis nii eripinna kui eripikkuse suurenemisega reageerinud kloonide juurte kudede tihedus vähenes, kloonil 457 oli vähenemine statistiliselt usaldusväärne (lisa 4, tabel 1; lisa 6, tabel 3). Sooldumine ei põhjustanud erinevate kloonide funktsionaalsetes parameetrites samasuunalisi muutusi. Suurenenud õhuniiskus põhjustas eripinna ja eripikkuse suurenemist sarnaselt kahe õliga töödeldud klooniga.

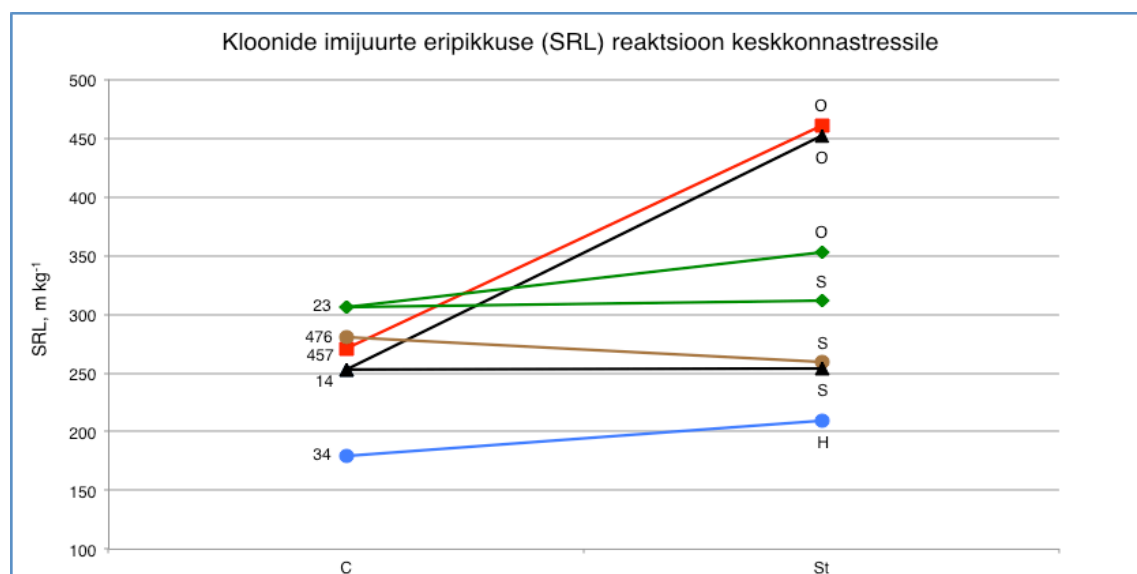
Suurima morfoloogilise reaktsiooni kutsus esile õlireostus ning nõrgima plastilise reaktsiooni sooldumine, mille puhul avaldus plastiline vastus eelkõige imijuurte kujus ja suuruses ning funktsionaalsed parameetrid ei muutunud.

4.2.2. Kloonidevahelised plastilisuse erinevused

Kloonide plastilisus sama keskkonnastressi tingimustes oli erinev (joonis 1; lisa 5, tabel 2). Morfoloogiliste parameetrite keskmine plastilisuse indeks (CAvg) oli suurim kloonil 14, mille puhul oli parameetrite PI suurim kaheksast parameetrist seitsmest (lisa 5, tabel 2). Ka klooni 457 imijuurte morfoloogiline plastilisuse indeks oli sarnaselt klooniga 14 kõrge. Kõige väiksema plastilisusega olid kloonid 23, 476 ja 34. Seejuures tuleb arvestada, et klooniga 476 õlireostuse katset ei tehtud. Ka klooniga 34 ei tehtud õlireostuse ja sooldumise katset, kuid imijuurte stressivastus suurenenud õhuniiskusele oli statistiliselt oluline.

Kõige väiksema plastilise vastuse andis kloon 23, ehkki õlireostusega pinnasel kasvades oli imijuurte keskmine läbimõõt oluliselt väiksem ja kudede tihedus suurem, mistõttu talitlemist peegeldavad SRL ja SRA ei erinenud töötluste vahel. Klooni 14 imijuurte keskmise läbimõõdu vähenemine õlireostuse korral oli küll võrreldav klooniga 23 (vastavalt 20% ja

16%), ent klooni 14 imijuurte kudede tihedus vähenes, mistõttu suurenesid oluliselt SRL ja SRA, mis viitavad imijuurte efektiivsemale talitlusele.



Joonis 1. Kloonide eripikkuse keskkonnastressile reageerimise graafik, milles ordinaatteljel on SRL väärtuse muutumine; abstsisteljel C – kontroll ehk normaalsus, St – mistahes keskkonnastress; C kohal klooni number; St kohal vastava klooni keskkonnastress, milles O – õlireostus, S – sooldumine, H – suurenenud õhuniiskus. Üks kloon on tähistatud ühe värviga kõikides töötlustes.

4.2.3. Imijuurte plastilisuse mõju taime maapealsele kasvule

Kloonide imijuurte parameetriülene plastilisus oli tendentslikult seotud taimede maapealse kasvuga (lisa 6, tabel 3). Kõige plastilisema klooni 14 õliga töödeldud kloonide kõrgus oli kontrollkloonide kõrgusest ligikaudu kahe kolmandiku võrra väiksem ja soolaga töödeldud kloonide kõrgus oli kontrollkloonide kõrgusest ligikaudu veerandi võrra väiksem (lisa 6, tabel 3), samuti olid teiste Haapastensyrjä kloonide kontrollide kõrgused kõige plastilisema klooni kontrollkõrgusest ligikaudu 25–40% väiksemad. Plastilisuse poolest võrreldava klooni 457 õliga töödeldud kloonide kõrgus oli samuti ligikaudu kahe kolmandiku võrra väiksem kontrollkloonide kõrgusest, sooldumise katset selle klooniga ei tehtud. Klooni 23 õliga töödeldud kloonide kõrgus oli kontrollkloonide kõrgusest ligikaudu poole võrra väiksem ja soolaga töödeldud kloonide kõrgus ligikaudu kümnendiku võrra väiksem. Klooni 476 ja 34 kloonide kõrgus keskkonnastressi tingimustes oli samuti ligikaudu kümnendiku võrra väiksem. Klooni 14, 23 ja 457 puhul korreleeriti imijuurte eripikkuse ja klooni kõrguskasvu suhtelist muutust ning leiti tendents, et mida suurem on SRL-i plastiline vastus, seda suurem on muutus kloonide kõrguskasvus. Leitud tendents viitab seosele imijuurte morfoloogilise plastilisuse ja taime kasvu vahel.

4.3. Arutelu

Tulemustest ilmneb, et kõige tugevama ja samasuunalisema stressivastuse kutsus esile õlireostus, mis põhjustas imijuurte keskmise diameetri ja imijuuresageduse suurenemist ning imijuuretipu massi vähenemist, imijuuretipu pikkuse suurenemist ning eripinna ja eripikkuse stressioludele viitavat suurenemist. Suurenenud imijuurte eripind ja -pikkus viitavad imijuure pinna- või pikkusühiku väiksemale vee- ja toitainete omastamisele (Rosensvald et al., 2011; Ostonen et al., 2013). Sooldumine ei põhjustanud nii samasuunalisi morfoloogilisi muutusi, sarnaselt õlireostusega vähenes imijuuretipu keskmine mass ja vastavalt oli suurem imijuuresagedus, aga reaktsioon oli nõrgem. Kirjanduses on näidatud sooldumise taime juurevõrse suhet suurendavat mõju (Fung et al., 1998; Singh et al., 1999; Wang & Yamauchi, 2006), mida antud töös ei kontrollitud ja mis vajaks edaspidistes uurimustes analüüsimist. Suurenenud õhuniiskus põhjustas sarnaselt õlireostusele eripinna ja eripikkuse suurenemist. Juurte eripikkust kasutatakse laialdasemalt stressiindikaatorina juurte funktsionaalsete muutuse iseloomustamiseks ja keskkonnamuutuse näitamiseks (Ostonen et al., 2007b; Zobel et al., 2007). Ka antud töös osutus SRL kõige selgema plastilise reaktsiooniga parimaks stressiindikaatoriks. Imijuurte eripikkus osutus parimaks stressiindikaatoriks ja kohanemist kirjeldavaks parameetriks ka arukase kohanemisel suurenenud õhuniiskusega (Parts et al., 2013). Eripikkuse plastilise reaktsiooni tugevusest võib järeldada, et õlireostus oli suurim stressor ja sooldumine nõrgim. Antud töö tulemuste põhjal võib suurenenud õhuniiskust pidada suhteliselt nõrgaks stressoriks.

Selgus, et genotüüp mõjutas oluliselt imijuurte plastilisust. Kõige plastilisemal kloonil (14) avaldus kõige suurema keskkonnastressi tingimustes oluline vastus kaheksast parameetrist seitsmel ja kõige vähem plastilisel kloonil (23) vähenes ainult juurte diameeter ja suurenes kudede tihedus, mis ei viita imijuurte talitluse tõhusamaks muutumisele. Klooni 23 imijuurte SRL ei muutunud õliga reostunud mullas.

Kuna klooniga 476 ei tehtud õlireostuse katset ning klooniga 34 ei tehtud õlireostuse ja sooldumise katset, ei saa nende kloonide fenotüübilist plastilisust teiste kloonidega üheselt võrrelda, kuigi kloon 476 reageeris sooldumisele hargnevuse selge vähenemise ja kloon 34 reageeris nõrgale keskkonnastressile eripinna ja eripikkuse olulise suurendamisega.

Kloonide imijuurte morfoloogilise plastilisuse ja maapealse kasvu võrdlemise põhjal võib täheldada tendentsi, et mida plastilisemad olid imijuured, seda suurem oli klooni kõrguskasvu vähenemine. Plastilisema taime suurem kasvu vähenemistendents on kooskõlas optimaalse jaotuse teooriaga (Bloom et al., 1985), mille järgi jaotab taim kasvu optimeerimiseks ressursse ümber, vajadusel kasvu piiravatesse organitesse. See selgitab kloonide plastilist vastust stressitingimustes – kiireid muutusi imijuurte morfoloogias vee- ja toitainete piiratud kättesaadavusel. Kirjanduses on näidatud, et taim võib abiootilise stressiga kohaneda ka juure-võrse suhte suurendamise ja maa-aluse biomassi kasvatamisega (Langer et al., 2010) või konkreetselt sooldumise puhul juure-võrse suhte kasvatamisega juure kasuks (Fung et al., 1998; Singh et al., 1999), et suurendada tsütotoksiliste soolaioonide sidumise võimet juure kasvuvõtme vakuoolidesse ja leevendada osmootsest stressist tulenevat veepuudust (Harvey, 1985; Bernstein & Kafkafi, 2002). On võimalik, et antud töö sooldumise katses kannatasid kloonid just sellise stressi all, kuid kõigil kloonidel ei avaldunud nende stressivastus äärmuslike, ligikaudu 300 mM (Chen et al., 2002) kontsentratsioonide puudumise tõttu.

Kokkuvõtvalt võib öelda, et mida plastilisem, seda stressitalavam taim on ja seda kiiremini ja tõhusamalt suudab taim stressitingimustega kohaneda ja maapealse kasvu arvelt suunata ressursse juurtesse stressi leevendamiseks. Kasvu arvelt ressursside ümber suunamine võibki hüpoteetiliselt olla plastilisuse hind, mis tagab ellujäämise. Kuigi juureparameetrid on taime kohanemise ja stressitaluvuse analüüsimiseks väga head, oleks taime risosfääris toimuva ja praktilise klonaalse aretustöö tarbeks oluline mõõta ka kloonide maa-alust biomassi ja biomassi paigutust.

Kokkuvõte

Kliimamuutuste ja keskkonnareostuste kontekstis on Põhjamaades ökoloogiliselt ja majanduslikult tähtsa hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) abiootilise keskkonnastressiga kohanemise uurimine aina aktuaalsem.

Käesoleva töö katselises osas analüüsiti hübriidhaava imijuurte morfoloogilist plastilisust suurenenud õhuniiskuse, pinnase õlireostuse ja sooldumisega kohanemisel. Kloonide imijuureproovid koguti Rõka metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise katsealalt (FAHM) 2009. aastal ja õliga reostunud, sooldunud ning kontrollalalt Soome metsainstituudi (METLA) Haapastensyrjä uurimisjaamas 2010. aastal. Mõõtmiste võrreldavuse tagamiseks koguti proovid vegetatsiooniperioodi lõpus, septembris-oktoobris. Iga klooni iga töötuse kohta analüüsiti ligikaudu 700 imijuuretippu, millest määrati keskmine imijuuretipu mass, pikkus ja diameeter ning arvutati imijuurte eripind ja -pikkus, kudede tihedus, imijuuresagedus nii massi- kui pikkusühiku kohta.

Töö laiemaks eesmärgiks oli hinnata hübriidhaava kloonide imijuurte morfoloogilist plastilisust ja reaktsiooninormi kohanemisel kliimamuutuse ja keskkonnareostusega, mida käsitleti ka käesoleva töö teoreetilises osas. Eraldi tähelepanu pöörati morfoloogiliste parameetrite kasutatavusele stressiindikaatoritena ja uuriti, kas keskkonnastress põhjustab imijuurte morfoloogias alati samasuunalisi muutusi, kas hübriidhaava imijuurte plastilisus erineb genotüübiti ning kuidas kajastub plastilisus hübriidhaava stressitaluvuses.

Imijuureproovide analüüsist selgus, et kõige selgema stressivastuse andis imijuurte eripikkus (SRL), mis suurenes pinnases ühtlaselt jaotunud 1% õlireostuse puhul võrreldes kontrolliga kuni 79% ning oli ka kõige suurema plastilisuse indeksiga imijuureparameeter. SRL reageeris ka keskmiselt 7% suurenenud suhtelisele õhuniiskusele ja 80–160 mM soolalahusele, kuid reaktsioon oli kas nõrgem või puudus üldse. Taime SRL-i suurenemist seostati abiootilisest keskkonnastressist tuleneva vee- ja toitainete puuduse kompenseerimise vajadusega. Seetõttu käsitleti seda funktsionaalset imijuureparameetrit antud katsetingimustes stressiindikaatorina. Samuti ilmnedid märkimisväärsed erinevused hübriidhaava genotüüpide imijuurte morfoloogilises plastilisuses, mille alusel oli võimalik eristada rohkem ja vähem plastilisi genotüüpe. Näiteks ületasid kahe uuritud klooni keskmised plastilisuse indeksid teiste kloonide vastavaid väärtusi 2,5–3 korda. SRL-i plastilisus erines plastilisemate ja vähem

plastiliste kloonide vahel kuni 5,5 korda. Kloonide imijuurte morfoloogilise plastilisuse ja maapealse kasvu võrdlemisel täheldati plastilisematel taimedel suuremat kõrguskasvu vähenemise tendentsi (kuni 67%), mis andis alust hüpoteesile, mille järgi hübriidhaava stressitaluvus on sõltuvuses imijuurte plastilisusest, kuid selle kinnitamiseks oleks tarvis täiendavaid kloonide maa-aluse biomassi ja biomassi paigutuse uuringuid.

Summary

Morphological reaction norm of fine roots of hybrid aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) clones adapting to climate change and environmental pollution

Research of the adaptation of ecologically and economically important hybrid aspen to abiotic environmental stress has become more and more topical on Nordic countries in the context of climate change and environmental pollutions.

Morphological plasticity of the hybrid aspen adapting to increased air humidity, soil oil pollution and salinity was analysed in the experimental part of this thesis. Fine root samples of hybrid aspen clones were collected in 2009 from the forest ecosystem free air humidity manipulation (FAHM) experimental site located in Rõka village, and fine root samples of hybrid aspen clones growing on oil polluted, saline and control soil were collected in 2010 from the Finnish Forest Research Institute's (METLA) research base located in Haapastensyrjä. To ensure the comparability of measurements, the samples were collected at the end of the growing period, in September-October. Approximately 700 fine root tips were analysed for each treatment of each clone, from which average root tip mass, length and diameter was determined and specific root length, specific root area, root tissue density and root tip frequency per weight/length of the fine roots was calculated.

The wider aim of the thesis was to assess the morphological plasticity and reaction norm of fine roots of hybrid aspen clones adapting to climate change and environmental pollution, which was also provided in the theoretical part of this thesis. The usability of morphological parameters as stress indicators was of particular interest and it was examined whether environmental stress always causes confluent changes in the morphology of fine roots, whether the plasticity of hybrid aspen's fine roots differs by genotype and how plasticity is reflected in the stress tolerance of hybrid aspen. The analysis of the fine root samples showed that the most distinct stress response was that of the fine root specific length (SRL), which in the case of soil 1% homogeneous oil pollution, increased up to 79% as compared to the control, and which was also the fine root parameter with the highest plasticity index. SRL also responded to the on average 7% increase of relative air humidity and the 80-160 mM saline solution, but the reaction was either weaker or absent. The increased SRL was associated with the need to compensate the water and nutrient deficiency resulting from the abiotic stress.

That particular fine root functional parameter was therefore considered as a stress indicator in given experimental conditions. Significant differences in the morphological plasticity of fine roots of the hybrid aspen genotypes also became evident, on the basis of which it was possible to distinguish between more and less plastic genotypes. For example, the average plasticity indexes of two investigated clones exceeded the respective values of other clones 2,5 to 3 times. SRL plasticity differed between the more plastic and less plastic clones up to 5,5 times. A trend of greater decrease (up to 67%) in height growth of more plastic plants was observed comparing the fine root plasticity and above-ground growth of the clones, which gave rise to the hypothesis, according to which the stress tolerance of hybrid aspen is related to the plasticity of fine roots, but it would be necessary to further study the below-ground biomass and biomass allocation of the clones to confirm it.

Tänuavaldus

Täna oma kannatlikke juhendajaid Ivika Ostoeni ja Krista Lõhmust väärtusliku abi eest antud töö kõigis etappides. Suur tänu Priit Kupperile, kelle pildimaterjali on käesolevas töös kasutatud ja Maris Maasikale keeleliste nõuannete eest.

Kasutatud kirjandus

Abenavoli, M., Panuccio, M., & Sorgonà, A. (2012). Root Form and Function in Plant as an Adaptation to Changing Climate. rmt: P. Ahmad, & M. Prasad (Toim-d), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change* (lk 175–199). New York: Springer Science+Business Media, LLC.

Aroca, R., Porcel, R., & Ruiz-Losano, J. (2012). Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* , 63, 43–57.

Bampton, M. (1999). Anthropogenic Transformation. rmt: D. Alexander, & R. Fairbridge (Toim-d), *Encyclopedia of Environmental Science* (lk 22–27). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Bartha, R. (1976). The Effect of Oil Spills On Trees. *National Arborist Association seminar on pollution damage to trees*, (lk 180). New Brunswick.

Bernstein, N., & Kafkafi, U. (2002). Root Growth Under Salinity Stres. rmt: Y. Waisel, A. Eshel, & U. Kafkafi (Toim-d), *Plant Roots, the Hidden Half* (3 tr., lk 787–805). New York: Marcel Dekker, Inc.

Bloom, A. J., Chapin, F. S., & Mooney, H. A. (1985). Resource limitation in plants – an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* , 16, 363–392.

Bonos, S., & Huang, B. (2006). Breeding and Genomic Approaches to Improving Abiotic Stress Tolerance in Plants. rmt: B. Huang, & B. Huang (Toim.), *Plant-Environment Interactions* (3 tr., lk 357–372). Boca Raton: Taylor & Francis.

Brian, K. (1977). *Soil Processes* (1 tr.). London: George Allen & Unwin.

Cardon, Z., & Whitbeck, J. (Toim-d). (2007). *The Rhizosphere: An Ecological Perspective*. New York: Elsevier Academic Press.

Carrow, R. D. (1998). *Salt affected Turfgrass Sites: Assessment and Management*. Chelsea: Ann Arbor Press.

Chen, S., Li, J., Fritz, E., Wang, S., & Hüttermann, A. (2002). Sodium and chloride distribution in roots and transport in three poplar genotypes under increasing NaCl stress. *Forest Ecology and Management* , 168, 217–230.

Crutzen, P., & Stoermer, E. (2000). The Anthropocene. *Global Change Newsletter* , 41, 17–18.

de Kroon, H., & Visser, E. (Toim-d). (2003). *Root Ecology*. Heidelberg: Springer-Verlag.

Dickmann, D., & Kuzovkina, J. (2008). *Poplars and willows of the world, with emphasis on silviculturally important species*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Eissenstat, D., & Yanai, R. (1997). The ecology of root lifespan. *Advances in Ecological Research* , 1–60.

Essien, O., & John, I. (2010). Impact of Crude-Oil Spillage Pollution and Chemical Remediation on Agricultural Soil Properties and Crop Growth. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* , 14 (4), 147–145.

Finèr, L., Helmisaari, H.-S., Lõhmus, K., Majdi, H., Brunner, I., Borja, I., et al. (2007). Variation in fine root biomass of three European tree species: Beech (*Fagus sylvatica* L.), Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.), and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant Biosystems* , 141, 1–12.

Freschet, G., Bellingham, P., Lyver, P., Bonner, K., & Wardle, D. (2013). Plasticity in above- and belowground resource acquisition traits in response to single and multiple environmental factors in three tree species. *Ecology and Evolution* , 3 (4), 1065–1078.

- Fung, L., Wang, S., Altman, A., & Hüttermann, A. (1998). Effect of NaCl on growth, photosynthesis, ion and water relations of four poplar genotypes. *Forest Ecology and Management*, *107* (1–3), 135–146.
- Ghalambor, C., McKay, J., Carroll, S., & Reznik, D. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* (21), 395.
- Gu, J., Yu, S., Sun, Y., Wang, Z., & Guo, D. (2011). Influence of root structure on root survivorship: an analysis of 18 tree species using a minirhizotron method. *Ecological Research*, *26* (4), 755–762.
- Guo, D., Mitchell, R., & Hendricks, J. (2004). Fine root branch orders respond differentially to carbon source-sink manipulations in a longleaf pine forest. *Oecologia*, *140*, 450–457.
- Hao, S., Zhao, T., Xia, X., & Yin, W. (2011). Genome-wide comparison of two poplar genotypes with different growth rates. *Plant Molecular Biology*, *76*, 575–591.
- Harvey, D. (1985). The effects of salinity on ion concentrations within the root cells of *Zea mays* L. *Planta*, *165*, 242–248.
- Held, I., & Soden, B. (2000). Water vapor feedback and global warming. *Annual Review of Energy and the Environment*, *25*, 441–475.
- IPCC. (2007). *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jackson, R., Canadell, J., Ehleringer, J., Mooney, H., Sala, O., & Schulze, E. (1996). A global analysis of root distribution for terrestrial biomes. *Oecologia*, *108*, 389–411.
- Jozefaciukowa, W. (1990). Influence of industrial emissions on the biomass and other characteristics of root system of Scots pine. *Air Pollution Research Report*, *32*, 74–78.

- Kalyn, A., & Van Rees, K. (2006). Contribution of fine roots to ecosystem biomass and net primary production in black spruce, aspen, and jack pine forests in Saskatchewan. *Agricultural and Forest Meteorology* , 140, 236–243.
- King, J., Pregitzer, K., Zak, D., Söber, J., Isebrands, J., Dickson, R., et al. (2001). Fine-root biomass and fluxes of soil carbon in young stands of paper birch and trembling aspen as affected by elevated atmospheric CO₂ and tropospheric O₃. *Oecologia* , 237–250.
- Kont, A., Jaagus, J., & Aunap, R. (2003). Climate change scenarios and the effect of sea-level rise for Estonia. *Global and Planetary Change* , 36, 1–15.
- Kottke, I. (1986). Wurzelentwicklung und Wachstum der Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) auf unterschiedlichen Böden und künstlichen Substraten. rmt: G. Einsele (Toim-d), *Das landschaftsökologische Forschungsprojekt Naturpark Schönbuch* (lk 443–462). Weinheim: Deutsche Forschungsgemeinschaft.
- Kucbel, S., Jaloviar, P., & Špišák, J. (2011). Quantity, vertical distribution and morphology of fine roots in Norway spruce stands with different stem density. *Plant Root* , 5, 46–55.
- Kukumägi, M., Ostonen, I., Kupper, P., Truu, M., Tulva, I., Varik, M., et al. (2014). The effects of elevated atmospheric humidity on soil respiration components in a young silver birch forest. *Agricultural and Forest Meteorology* , 104, 167–174.
- Kupper, P., Söber, J., Sellin, A., Lõhmus, K., Tullus, A., Räim, O., et al. (2011). An experimental facility for free air humidity manipulation (FAHM) can alter flux through deciduous tree canopy. *Environmental and Experimental Botany* , 72, 432–438.
- Langer, I., Syafruddin, S., Steinkellner, S., Puschenreiter, M., & Wenzel, W. (2010). Plant growth and root morphology of *Phaseolus vulgaris* L. grown in a split-root system is affected by heterogeneity of crude oil pollution and mycorrhizal colonization. *Plant Soil* , 332, 339–355.
- Lõhmus, K., Oja, T., & Lasn, R. (1989). Specific root area: A soil characteristic. *Plant and Soil* , 119, 245–249.

Lõhmus, K., Truu, J., Truu, M., Kaar, E., Ostonen, I., Alama, S., et al. (2006). Black alder as a promising deciduous species for the reclaiming of oil shale mining areas. rmt: C. Brebbia, & Ü. Mander (Toim-d), *Brownfields III. Prevention, Assessment, Rehabilitation and Development of Brownfield Sites* (Kd. 94, lk 87–97). Boston: WIT Transactions on Ecology and Environment, WIT Press.

Makita, N., Hirano, Y., Dannouro, M., Kominami, Y., Mizoguchi, T., Ishii, H., et al. (2009). Fine root morphological traits determine variation in root respiration of *Quercus serrata*. *Tree Physiology*, 29, 579–585.

Michael, A. (1978). *Irrigation: Theory and Practice*. New Delhi: Vikas Publishing House Private.

Miidla, H. (1984). *Taimefüsioloogia*. Tallinn: Valgus.

Mukherjee, S., Heinonen, M., Dequvire, M., Sipilä, T., Pulkkinen, P., & Yrjälä, K. (2013). Secondary succession of bacterial communities and co-occurrence of phylotypes in oil-polluted *Populus* rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, 58, 188–197.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt tolerance and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 239–250.

Nilsen, E., & Orcutt, D. (1996). *The Physiology of Plants Under Stress, Abiotic Factors* (Kd. 1). New York: John Wiley & Sons.

Ostonen, I. (1997). Hariliku kuuse imijuurte ökomorfoloogia. Tartu: TÜ, Botaanika ja Ökoloogia Instituut, ökofüsioloogia õppetool.

Ostonen, I., Lõhmus, K., & Lasn, R. (1999). The role of soil conditions in fine root ecomorphology in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Plant and Soil*, 208, 283–292.

Ostonen, I., Lõhmus, K., & Pajuste, K. (2005). Fine root biomass, production and its proportion of NPP in a fertile middle-aged Norway spruce forest: Comparison of soil core and ingrowth core methods. *Forest Ecology and Management* , 212 (1-3), 264–277.

Ostonen, I., Lõhmus, K., Helmisaari, H.-S., Truu, J., & Meel, S. (2007a). Fine root morphological adaptations in Scots pine, Norway spruce and silver birch along a latitudinal gradient in boreal forests. *Tree Physiology* , 27, 1627–1634.

Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C., Alberton, O., Bakker, M., Lõhmus, K., et al. (2007b). Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana* , 141 (3), 426–442.

Ostonen, I., Tedersoo, L., Suvi, T., & Lõhmus, K. (2009). Does a fungal species drive ectomycorrhizal root traits in *Alnus* spp.?. *Canadian Journal of Forest Research* , 39, 1787–1796.

Ostonen, I., Helmisaari, H.-S., Borke, W., Tedersoo, L., Kukumägi, M., Bahram, M., et al. (2011). Fine root foraging strategies in Norway spruce forests across a European climate gradient. *Global Change Biology* , 17 (12), 3620–3632.

Ostonen, I., Rosenvald, K., Helmisaari H.-S., Godbold, D., Parts K., Uri, V. & Lõhmus, K. (2013). Morphological plasticity of ectomycorrhizal short roots in *Betula* sp and *Picea abies* forests across climate and forest succession gradients: its role in changing environments. *Frontiers in Plant Science*, 4, 335.

Pagani, M., Pedentchouk, N., Huber, M., Sluijs, A., Schouten, S., Brinkhuis, H., et al. (2006). Arctic hydrology during global warming at the Palaeocene/Eocene thermal maximum. *Nature* , 442, 671–675.

Parts, K. (2010). Peenjuurte adapteerumine kliimamuutustega: arukase (*Betula pendula* Roth.) imijuurte morfoloogilised adaptatsioonid õhuniiskuse ja alustaimestiku mitmekesisusega manipuleeritud puistutes. (Bakalaureusetöö, Tartu Ülikool) Tartu: Tartu Ülikool.

- Parts, K., Tedersoo, L., Lõhmus, K., Kupper, P., Rosenthal, K., Sõber, A., et al. (2013). Increased air humidity and understory composition shape short . *Forest Ecology and Management* , 310, 720–728.
- Pregitzer, K., DeForest, J., Burton, A., Allen, M., Ruess, R., & Hendrick, R. (2002). Fine root architecture of nine North American trees. *Ecological Monographs* , 72 (2), 293–309.
- Robertson, S., McGill, W., Massicotte, H., & Rutherford, P. (2007). Petroleum hydrocarbon contamination in boreal forest soils: a mycorrhizal ecosystems perspective. *Biological Reviews* , 82, 213–240.
- Romantschuk, M., Sarand, I., Petänen, T., Peltola, R., Jonsson-Vihanne, M., Koivula, T., et al. (2000). Means to improve the effect of in situ bioremediation of contaminated soil: an overview of novel approaches. *Environmental Pollution* , 107 (2), 179–185.
- Rosenthal, K. (2011). Factors affecting ectomycorrhizal roots and rhizosphere in silver birch stands. (Doktoritöö, Tartu Ülikool) Tartu: Tartu University Press
- Rosenthal, K., Ostonen, I., Uri, V., Varik, M., Tedersoo, L., & Lõhmus, K. (2012). Tree age effect on fine-root and leaf morphology in a silver birch forest chronosequence. *European Journal of Forest Research* , 132 (2), 219–230.
- Rytter, L. (2006). A management regime for hybrid aspen stands combining conventional forestry techniques with early biomass harvests to exploit their rapid early growth. *Forest Ecology and Management* , 236 (2-3), 422–426.
- Rytter, L., Johansson, T., Karačić, A., & Weih, M. (2011). *Investigation for a Swedish research program on the genus Populus*. Uppsala: Skogforsk, Uppsala, Sweden.
- Schaberg, P., DeHayes, D., Hawley, G., & Nijensohn, S. (2008). Anthropogenic alterations of genetic diversity within tree populations: Implications for forest ecosystem resilience. *Forest Ecology and Management* , 256 (5), 855–862.

Schlichting, C., & Pigliucci, M. (1998). *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Sellin, A., & Kupper, P. (2004). Within-crown variation in leaf conductance of Norway spruce: effects of irradiance, vapour pressure deficit, leaf water status and plant hydraulic constraints. *Annals of Forest Science* , 61, 419–429.

Sellin, A., & Kupper, P. (2005). Effects of light availability versus hydraulic constraints on stomatal responses within a crown of silver birch. *Oecologia* , 142, 388–397.

Singh, M., Jain, M., & Pant, R. (1999). Clonal variability in photosynthetic and growth characteristics of *Populus deltoides* under saline irrigation. *Photosynthetica* , 36 (4), 605–609.

Stener, L.-G., & Karlsson, B. (2004). Improvement of *Populus tremula* × *P. tremuloides* by phenotypic selection and clonal testing. *Forest Genetics* , 11, 13–27.

Sultan, S. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* , 5 (12), 537–542.

Suvanto, L., & Pulkkinen, P. (2004). Gene Flow between European (*Populus tremula*) and Hybrid Aspen (*P. tremula* x *P. tremuloides*). rmt: L. Bailian, & S. McKeand (Toim.), *IUFRO Joint Conference of Division 2* (lk 171–173). Charleston: North Carolina State University.

Zalesny, J., Zalesny, R., Coyle, D., Hall, R., & Bauer, E. (2009). Clonal Variation in Morphology of *Populus* Root Systems Following Irrigation with Landfill Leachate or Water during 2 Years of Establishment. *BioEnergy Research* , 2, 134–143.

Zobel, R., Kinraide, T., & Baligar, W. (2007). Fine root diameters can change in response to changes in nutrient concentrations. *Plant Soil* , 297, 243–254.

Taylor, G., & Davies, W. (1986). Yield Turgor of Growing Leaves of *Betula* and *Acer*. *New Phytologist* , 104, 347–353.

- Truu, J., Truu, M., Lõhmus, K., Ostonen, I., Ivask, M., & Kanal, A. (2001). Structure and activity of microbial communities in soil-root interface and bulk soil in coniferous and deciduous stands. *Proceedings of the 6th Symposium of the International Society of Root* (lk 402–403). Nagoya: Japanese Society of Root.
- Tullus, A., Soo, T., Tullus, H., Vares, A., Kanal, A., & Roosaluuste, E. (2008). Early growth and floristic diversity of hybrid aspen (*Populus × wettsteinii* Hämet-Ahti) plantations on a reclaimed opencast oil shale quarry in North-Estonia. *Oil Shale* , 25 (1), 57–74.
- Tullus, A., Tullus, H., Soo, T., & Pärn, L. (2009). Above-ground biomass characteristics of young hybrid aspen (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) plantations on former agricultural land in Estonia. *Biomass and Bioenergy* , 33, 1617–1625.
- Tullus, A., Kupper, P., Sellin, A., Parts, L., Sõber, J., Tullus, T., et al. (2012a). Climate Change at Northern Latitudes: Rising Atmospheric Humidity Decreases Transpiration, N-Uptake and Growth Rate of Hybrid Aspen. *PLoS ONE* , 7 (8), e42648.
- Tullus, A., Rytter, L., Tullus, T., Weih, M., & Tullus, H. (2012b). Short-rotation forestry with hybrid aspen (*Populus tremula* L.×*P. tremuloides* Michx.) in Northern Europe. *Scandinavian Journal of Forest Research* , 27 (1), 10–29.
- Udo, E., & Fayemi, A. (1975). The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. *Journal of Environmental Quality* , 4, 537–540.
- Ugawa, S., Miura, S., Iwamoto, K., Kaneko, S., & Fukuda, K. (2010). Vertical patterns of fine root biomass, morphology and nitrogen concentration in a subalpine fir-wave forest. *Plant Soil* , 335, 469–478.
- Vaario, L.-M., Yrjälä, K., Rousi, M., Sipilä, T., & Pulkkinen, P. (2011). Leaf number indicates salt tolerance of young seedling families of European Aspen (*Populus tremula* L.) growing in different soils. *Silva Fennica* , 45 (1), 19–33.
- Valladares, F. G. (2007). Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* , 176, 749–763.

Wahl, S., & Ryser, P. (2000). Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist*, 148, 459–471.

Wang, H., & Yamauchi, A. (2006). Growth and Function of Roots under Abiotic Stress in Soils. rmt: B. Huang, & B. Huang (Toim.), *Plant-Environment Interactions* (3 tr., lk 271–299). Boca Raton: Taylor & Francis.

Wentz, F., Ricciardulli, L., Hillburn, K., & Mears, C. (2007). How much more rain will global warming bring? *Science*, 317, 233–235.

Worrell, R. (1995). European aspen (*Populus tremula* L.): a review with particular reference to Scotland I. Distribution, ecology and genetic variation I. *Forestry*, 68 (2), 93–105.

Xue, Q., Weiss, A., Arkebauer, T., & Baenziger, P. (2004). Influence of soil water status and atmospheric vapor pressure deficit on leaf gas exchange in field-grown winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 51, 167–179.

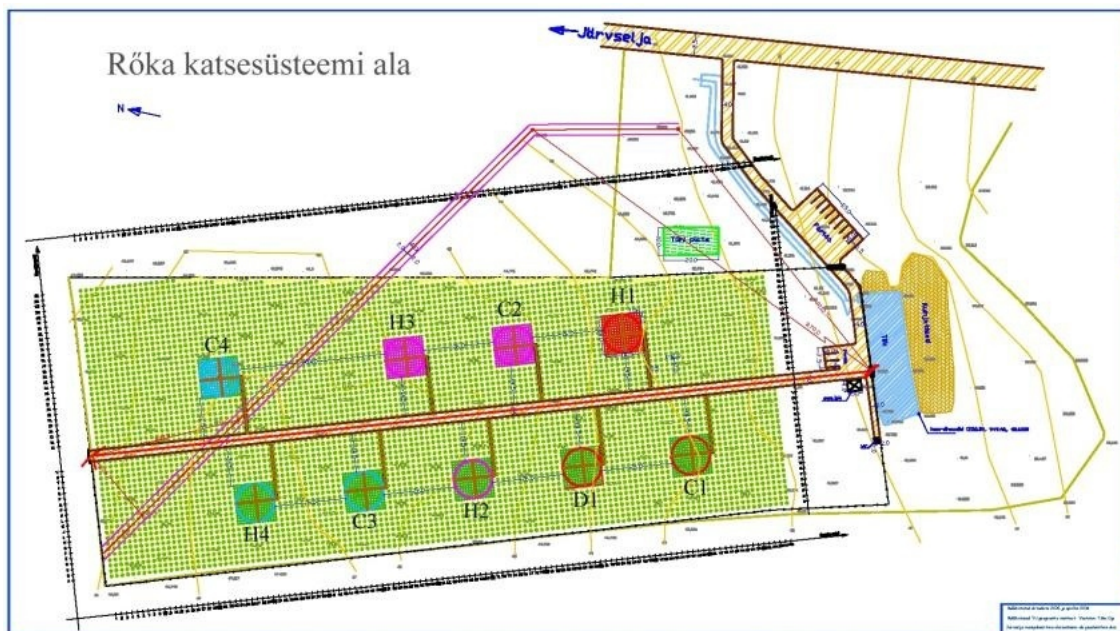
Yanai, R., Fahey, T., & Miller, S. (1995). Efficiency of nutrient acquisition by fine roots and mycorrhizae. rmt: W. Smith, & T. Hinckley (Toim-d), *Resource Physiology of Conifers* (lk 75–103). New York: Academic Press.

Yrjälä, K., Mukherjee, S., Sipilä, T., Ostonen, I., Vaario, L.-M., Varis, S., et al. (2011). Aspen phytotechnology in cold climate: remediation of polluted soils recognizing plant associated microbes. *International Phytotechnology Society, 8th Conference: Putting Plants to Work Where We Live, Labor, Breathe, and Play*. Portland.

Internetileheküljed:

Kupper, P., & Söber, J. (23.12.2009. a.). *FAHM*. Kasutamise kuupäev: 25.5.2014. a., allikas Tartu Ülikooli Loodus- ja Tehnoloogiateaduskond: <http://www4.lote.ut.ee/FAHM>

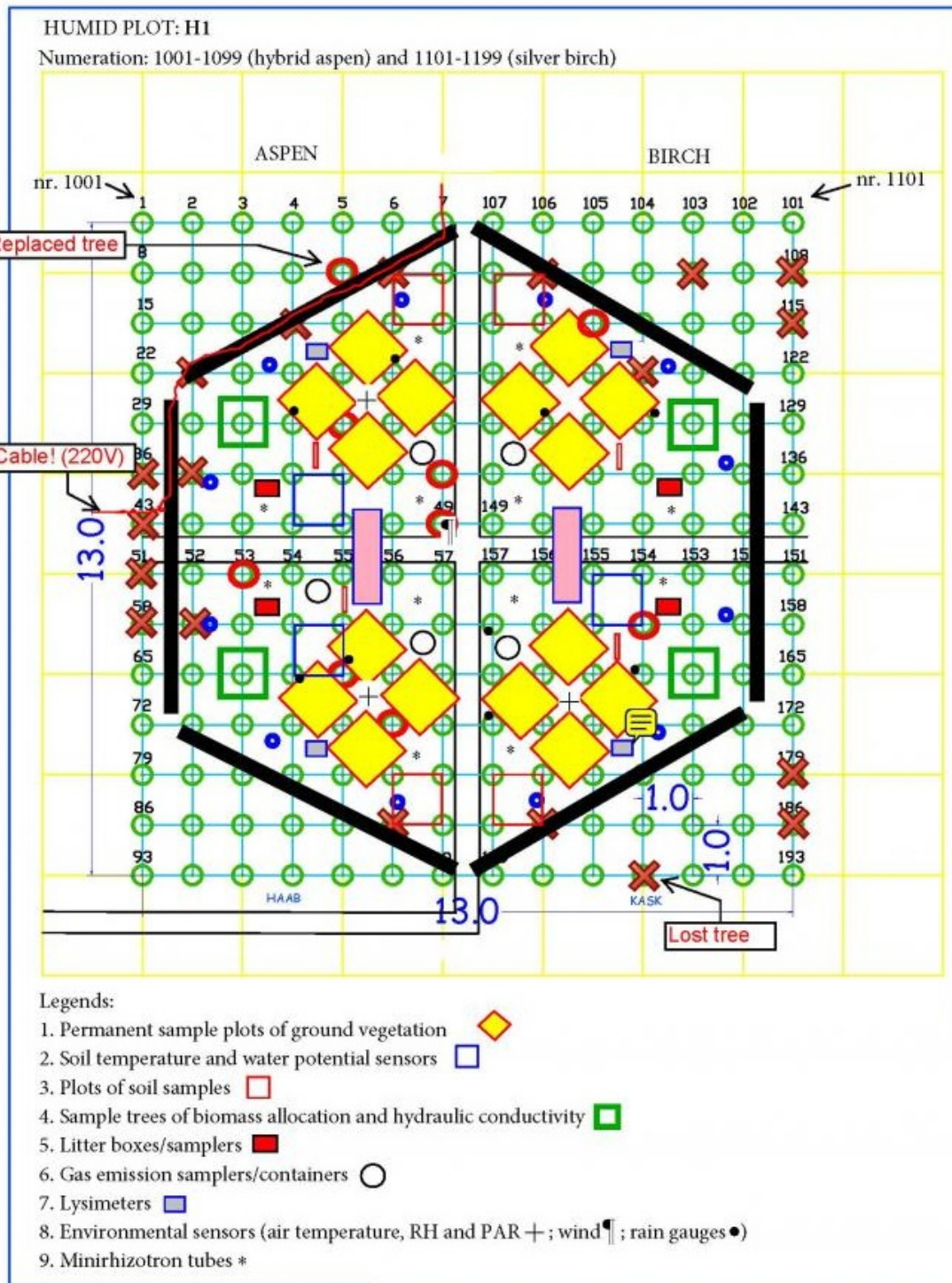
LISAD



Lisa 1. Rõka (FAHM) katseala skeem (Kupper & Söber, 2009)



Lisa 2. Soome Metsainstituudi (METLA) Haapastensyrjä uurimisjaam (allikas: METLA/R. Viirros)



Lisa 3. Rõka (FAHM) katseala katseringi skeem (Kupper & Sõber, 2009)

Lisa 4, tabel 1. Imijuuretippude parameetrite aritmeetilised keskmised ja standardvead kaheteistkümnes (12) katsevariandis, milles K – klooninumber, St – stressor, N – statistiliselt usaldusväärsete vaatluste (alamproovide) arv, C – kontroll, H – niisutus, O – õlireostus ja S – sooldumine. Tähtedega a ja b tähistatakse statistiliselt olulisi erinevusi töetluste vahel.

K	St	N	AvgDiam, mm	SRA, m ² kg ⁻¹	SRL, m kg ⁻¹	RTD, kg m ⁻³	TipL, mm	TipW, mg	RTFW, nr mg ⁻¹	RTFL, nr mm ⁻¹
14	C	28	^b 0,219±0,006	^a 167±6	^a 253±14	114±3	^a 1,88±0,08	^b 0,0079±0,0004	^a 136±6	^{ab} 5,6±0,3
	O	10	^a 0,175±0,006	^b 249±22	^b 452±34	102±12	^b 2,52±0,14	^a 0,0057±0,0004	^b 181±11	^a 4,1±0,3
	S	22	^b 0,209±0,003	^a 165±7	^a 254±14	121±5	^a 1,76±0,10	^{ab} 0,0070±0,0003	^{ab} 147±6	^b 6,1±0,3
23	C	22	^b 0,194±0,005	181±8	306±20	^{ab} 118±3	1,92±0,10	0,0065±0,0003	161±7	5,5±0,3
	O	11	^a 0,163±0,004	176±15	353±39	^b 147±9	2,01±0,18	0,0059±0,0005	178±12	5,4±0,5
	S	23	^b 0,194±0,004	188±10	312±20	^a 117±7	1,93±0,11	0,0064±0,0003	165±7	5,5±0,3
457	C	28	^a 0,196±0,004	^a 163±6	^a 271±13	^a 129±4	^a 1,75±0,06	^a 0,0068±0,0003	^a 157±8	^a 5,9±0,2
	O	16	^b 0,171±0,005	^b 240±14	^b 461±37	^b 102±5	^b 2,32±0,12	^b 0,0053±0,0003	^b 196±10	^b 4,5±0,2
476	C	20	0,203±0,006	175±9	281±17	119 ±6	1,85±0,09	0,0071±0,0006	^b 155±9	^b 5,6±0,2
	S	20	0,208±0,004	167±7	259±14	118±4	2,08±0,09	0,0084±0,0006	^a 127±7	^a 5,0±0,2
34	C	39	0,202±0,003	^a 113±4	^a 179±7	187±7	1,49±0,06	0,0087±0,0004	127±6	7,2±0,3
	H	38	0,192±0,004	^b 126±5	^b 209±7	184±11	1,71±0,08	0,0084±0,0004	130±6	6,4±0,3

Lisa 5, tabel 2. Kloonte morfoloogilistele parameetritele vastavad plastilisuse indeksid, milles K – kloontinumber, jämedas trükis on vastava parameetri kõige suurema plastilise vastusega kloont ja kursiiuis kõige väiksema vastusega ning CAvg – vastava kloonti parameetriülene keskmine plastilisuse indeks.

K	AvgDiam	SRA	SRL	RTD	TipL	TipW	RTFW	RTFL	CAvg
14	0,2	0,34	0,44	0,16	0,3	0,28	0,25	0,32	0,29
23	0,16	0,06	0,13	0,2	<i>0,04</i>	0,09	0,1	0	0,1
457	0,13	0,32	0,41	0,21	0,25	0,22	0,2	0,24	0,25
476	<i>0,03</i>	<i>0,04</i>	<i>0,08</i>	<i>0,01</i>	0,11	0,15	0,18	0,12	0,09
34	0,05	0,1	0,14	0,02	0,13	<i>0,04</i>	<i>0,03</i>	0,11	<i>0,08</i>

Lisa 6, tabel 3. Klooni töötuste keskmine kloonide kõrgus ja standardhälve ning töötustele reageerinud parameetrite võrdlus, milles K – klooninumber, St – stressor, C – kontroll, H – niisutus, O – õlireostus ja S – sooldumine, h – kloonide keskmine kõrgus (cm) ja standardhälve, CAvg – vastava klooni parameetriülene keskmine plastilisuse indeks, ↑ – parameetri väärtuse suurenemine, ↓ – parameetri väärtuse vähenemine.

K	St	h, cm	CAvg	AvgDiam	SRA	SRL	RTD	TipL	TipW	RTFW	RTFL
14	C	126,2±19,4 [⊙]	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	43,4±9,8 [⊙]		↓	↑	↑	-	↑	↓	↑	↓
	S	96,4±28,2 [⊙]		-	-	-	-	-	↓	↑	↑
23	C	74,6±16,8 [⊙]	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	35,8±7,9 [⊙]		↓	-	-	↑	-	-	-	-
	S	67,2±28,9 [⊙]		-	-	-	-	-	-	-	-
457	C	89,6±29,1 [⊙]	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	29,6±3,6 [⊙]		↓	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↓
476	C	95,8±30,0 [⊙]	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-
	S	84,6±12,07 [⊙]		-	-	-	-	-	-	↓	↓
34	K	215*	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	199,5*		-	↑	↑	-	-	-	-	-

⊙ R. Jaatineni andmed

* Tullus et al., 2012a

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, **Igor Miilvee**

Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Imijuurte morfoloogiline reaktsiooninorm kliimamuutuse ja keskkonnareostusega kohanemisel hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) kloonide näitel,

mille juhendajad on **Ivika Ostonen-Märtin** ja **Krista Lõhmus**

- 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, **26.05.2014**