

Tartu Ülikool

Loodus- ja tehnoloogiateaduskond

Ökoloogia ja Maateaduste Instituut

Botaanika osakond

Kaarin Parts

NIISKEM ÕHK JA ALUSTAIMESTU KOOSSEIS MÕJUTAVAD ARUKASE
EKTOMÜKORIISASID – FAHMI TULEMUSED

Magistritöö

Juhendajad: vanemteadur Ivika Ostonen

professor Krista Lõhmus

Tartu 2013

Sisukord

Lühendite seletusi.....	3
Sissejuhatus	4
1. Ülevaade uurimustöö temaatikast	6
2. Materjal ja meetodika	13
2.1. FAHM katseala kirjeldus	13
2.2. Imijuurte morfoloogia: juureproovide kogumine ja morfoloogilised mõõtmised	17
2.3. EcM seenekoosluste analüüs: proovide kogumine ja molekulaarsed meetodid	17
2.4. Statistiline analüüs.....	18
3. Tulemused	19
3.1. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu koosseisu mõju imijuurte morfoloogiale	19
3.1.1. Imijuurte morfoloogilised parameetrid: RTD, SRA, SRL, D, TipL, RTFL, TipW	23
3.2. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu mõju EcM seenekoosluse struktuurile	24
4. Arutelu	26
4.1. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu koosseisu mõju imijuurte morfoloogiale	26
4.2. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu mõju EcM seenekoosluse struktuurile	28
Kokkuvõte	30
Summary	31
Tänuavaldused	32
Kasutatud kirjandus	33
Lisad	

Lühendite seletusi

D – imijuurte läbimõõt (*diameter*; mm)

SRA – imijuurte eripind (*specific root length*; $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)

RTD – imijuurte kudede tihedus (*root tissue density*; kg m^{-3})

SRL – imijuurte eripikkus (*specific root length*; m g^{-1})

TipL – imijuurte pikkus (*root tip length*; mm)

TipW – imijuurte mass (*root tip weight*; mg)

RTFL – juuretippe pikkusühiku kohta (*root tip frequency per unit of length*; mm^{-1})

TF – võraresi (*throughfall*; mm)

SWP – mulla veepotentsiaal (*soil water potential*; kPa)

ST – mulla temperatuur (*soil temperature*; °C)

AT – õhu temperatuur (*air temperature*; °C)

RH – suhteline õhuniiskus (*relative humidity*; %)

G – pioneerikõrrelised (*early-successional grasses*)

F – liigirikas „metsa“ alustaimestu (*diverse “forest” understory*)

H – õhuniisutus (*humidification*)

C – kontroll (*control*)

Sissejuhatus

Kliimamuutuste raames prognoositakse Põhja-Euroopas ja Eestis järgneva sajandi jooksul temperatuuritõusu (2,3–4,5°C) ning sademetehulga suurenemist (5–30%) (Kont *et al.* 2003; IPCC 2007), millega kaasneb ka õhuniiskuse tõus. Niiskema õhu mõju uurimiseks on Rõkale rajatud maailmas seni ainulaadne FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) katseala, millel on läbi viidud käesoleva töö raames tehtud mõõtmised. Suurenenud õhuniiskus vähendab lehe ja õhu vahelist niiskusgradienti ning keskmist ööpäevast ksüleemivoolu intensiivsust (Kupper *et al.* 2011). Ksüleemivoolu aeglustumise mõjul pidurdub massivool mullast juurteni ning raskendub toitainete omastamine juurte poolt (Cramer *et al.* 2009), mis võib omakorda takistada kiirekasvuliste puuliikide arengut. Suurendatud õhuniiskuse tingimustes kasvanud arukaskedel (*Betula pendula* Roth.) on esialgu tõepoolest tuvastatud madalamat lehtede lämmastiku- ja fosforisisaldust (Sellin *et al.* 2013), millest võib järeldada puude kehvemat toitumust. Ühtlasi tõuseb transpiratsiooni vähenemise tõttu mullaniiskuse (Hansen *et al.* 2012), mis mõjutab otseselt imijuurte ja koloniseerivate EcM seente kasvukeskkonda.

Kliimamuutuste taustal on tõusnud päevakorda ökosüsteemide võimalike reaktsioonide ennustamine ning aklimatiseerumisvõime hindamine. Metsade kohanemises muutuvate keskkonnaoludega mängivad olulist rolli imijuured, mis vastutavad puude vee ja mineraaltoitainetega varustamise eest ning moodustavad peenjuurte (kokkuleppeliselt <2mm diameetriga juurtefraktsioon) biomassist 5-55% sõltuvalt puuliigist, puistu vanusest ja kasvukohatingimustest (Ostonen *et al.* 2011; Leppälammil-Kujansuu *et al.* 2013; Rosenvald *et al.* 2013). Boreaalsetes okas- ja segametsades on juuretippud valdavalt koloniseeritud ektomükoriisete (EcM) seente poolt, mille vahendusel tõuseb imamispind kuni 60 korda (Simard *et al.* 2002) ning näiteks arukasel võib kuni 95% juuretippudest moodustada ektomükoriisid (Uri *et al.* 2007). Seetõttu on käesolevas töös uuritud õhuniiskuse tõusu mõju ka EcM seenekoosluse struktuurile.

Taimed reageerivad keskkonnaolude muutustele (temperatuuri ja CO₂-kontsentratsiooni tõus, toitainete vähesus, muutused niiskustingimustes jmt), modifitseerides imijuurte morfoloogiat, biomassi ja käivet ning stimuleerides valikuliselt juurte vahetus ümbruses elavaid mikroorganisme (Lõhmus *et al.* 2006a; Phillips & Fahey 2006). Näiteks CO₂-ga rikastamine ja

pikaajaline soojendamine soodustavad suurt biomassi moodustavate proteolüütiliste omadustega seeneliikide arengut ning vastavalt väheneb labiilsest lämmastikust sõltuvate seente osakaal (Godbold *et al.* 1997; Deslippe *et al.* 2011). Taolised nihked risosfääriskoosluses ja puude juurestikes võivad kaasa tuua märgatavaid muutusi taimede toitumuses ning seega ka nende elujõulisuses (Gorissen & Kuyper 2000; Fransson *et al.* 2005), ökosüsteemide produktiivsuses ja süsinikusidumisvõimes, atmosfäärse süsihappegaasi hulgas ning koguni globaalsetes kliimatingimustes. Kui CO₂-ga rikastamise ja temperatuuritõusu mõju peenjuurtele ja koloniseerivatele seentele on praeguseks juba mõnevõrra uuritud (Cudlin *et al.* 2007; Lukac *et al.* 2009; Simard & Austin 2010; Leppälammki-Kujansuu *et al.* 2013), siis õhuniiskuse tõusu võimalike tagajärgede kohta peen- ja imijuurtele puuduvad praeguseni avaldatud andmed.

Imijuurte funktsionaalseid omadusi kirjeldatakse sageli eripikkuse (SRL – specific root length), eripinna (SRA – specific root area) ja juurekudede tiheduse (RTD – root tissue density) kaudu. Võttes eelduseks, et toitainete omastamine on võrdeline pikkuse või pindalaga ning juurte moodustamise ja säilitamise kulu on võrdeline massiga (Eissenstat & Yanai 1997; Ostonen *et al.* 2007ab), võib SRA-d ja SRL-i käsitleda juure potentsiaalse omastamistõhususe indikaatoritena (Lõhmus *et al.* 1989; Ostonen *et al.* 2007ab). Stressitingimuste korral suurendavad puud lisaks juurestiku biomassile ka imavat pinda massiühiku kohta – SRA-d, SRL-i ja harunemist (Ryser 2006; Rosenvald *et al.* 2011a).

Lisaks geneetilistele ja abiootilistele keskkonnateguritele sõltuvad EcM imijuurte morfoloogilised parameetrid ka taime vanusest ja koloniseerivast seenpartnerist (Ryser 2006; Ostonen *et al.* 2009; Rosenvald *et al.* 2013). Noorte puude imijuured on väiksema läbimõõdu ning madalama RTD ja massi tõttu suurema eripinna ja eripikkusega (Rosenvald *et al.* 2013). Peamiselt määrab EcM imijuure läbimõõdu, pikkuse ja massi seenpartner, mõjutades oluliselt ka SRA-d ja SRL-i (Ostonen *et al.* 2009; Sun *et al.* 2010; Makita *et al.* 2012). Varieeruvate toitumisstrateegiatega EcM seenetaksid erinevad ka oma ensümaatilise aktiivsuse, toitainete omastamise ja taimele edastamise poolest (Lilleskov *et al.* 2002; Courty *et al.* 2010; Lilleskov *et al.* 2011; Tedersoo *et al.* 2012). Seetõttu on EcM sümbiontidel märkimisväärne mõju puude toitumisele nii otseselt kui ka morfoloogiliste parameetrite mõjutamise kaudu.

Arukask (*Betula pendula* Roth.) on majanduslikult olulisim lehtpuuliik Põhja-Euroopas ja Eestis, suurepärase pioneerliiki ja mullaviljakuse parandaja nii mahajäetud põllumaadel,

kaevandusaladel kui muudel väheviljakatel kasvukohtadel (Uri *et al.* 2008, Rosenvald *et al.* 2010). Seetõttu on siinses magistritöös uuritavaks puuliigiks valitud arukask, mida koos hübriidhaavaga FAHM katsealal suurendatud õhuniiskuse tingimustes kasvatatakse.

Käesoleva magistritöö eesmärk on hinnata suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu koosseisu mõju arukase imijuurte morfoloogiale ja koloniseerivale EcM seenekooslusele. Juuremorfoloogia pikemaajalise dünaamika kirjeldamiseks võeti juureproove enne õhuniisutuse algust 2007. aastal ning kolmel järjestikusel aastal pärast kahte niisutushooaega. Morfoloogilise reaktsiooni põhjal hinnati arukase imijuurte kohanemisvõimet prognoositavaid kliimamuutusi imiteeriva õhuniiskuse tõusuga.

Töös püstitati järgnevad hüpoteesid: 1) õhuniiskuse tõus mõjutab imijuurte morfoloogiat, peegeldades nende kohanemist muutunud keskkonnatingimustega; imijuurte morfoloogia varieeruvus kahaneb ajas; 2) mitmekesisem metsale omane alustaimestu leevendab niisutuse mõju, võrreldes pioneerkõrrelistega; 3) suurendatud õhuniiskus ja alustaimestu koosseis mõjutavad EcM seenekooslust.

1. Ülevaade töö temaatikast

Kliimamuutuste taustal pööratakse aina rohkem tähelepanu metsaökosüsteemidele kui peamistele atmosfäärses süsihappegaasi sidujatele maismaal. Globaalselt paikneb metsaökosüsteemides kaks kolmandikku süsinikuvarust just mullas (787 Gt võrrelduna 359 Gt-ga, mis on seotud taimestikuga) (Dixon *et al.* 1994). Eesti viljakates kaasikutes moodustab vastav süsinikuvaru 29 - 38% kogu metsaökosüsteemi süsinikuvarust (Uri *et al.* 2012). Seetõttu on mullaprotsesside mõistmine oluline prognoosimaks tulevast süsinikubilanssi. Metsade aineringes on võtmerollis puude peenjuured, sest nende kaudu liigub mulla varudesse märkimisväärne kogus süsinikku, erinevatel andmetel kuni 75% puistu aastasest netoproduktioonist võidakse suunata peenjuurestiku ülesehituseks ja säilitamiseks (Persson 1983, Finér *et al.* 2011). Eestis, viljakas keskealises jänese-kapsakuusikus on vastav voog hinnatud 13 % (Ostonen *et al.* 2005).

Peenjuurteks loetakse kokkuleppeliselt <2 mm läbimõõduga juuri, mis jagunevad funktsionaalsete omaduste alusel primaarse ehitusega imijuurteks ja sekundaarse ehitusega

juhtejuurteks. Peente juhtejuurte ülesanne on toitainete transport taime maapealsetesse osadesse. Imijuured vastutavad puu vee ja mineraaltoitainetega varustamise eest, moodustades juurestikust füsioloogiliselt kõige aktiivsema osa, ning on boreaalsetes ja parasvöötmelistes metsades valdavalt ektomükoriisat moodustavate seente poolt koloniseeritud. Tegemist on distaalsete I ja II järku juurtega (Pregitzer *et al.* 2002), millele on erinevates töödes viidatud ka kui lühijuurtele (*short roots*) (Rosenvald *et al.* 2011a), ektomükoriissetele juurtele (*EcM roots*) (Leppälammikujansuu *et al.* 2013) ja juuretippudele (*root tips*) (Makita *et al.* 2012) ning siiani pole nende tähistamiseks ühte kindlat mõistet kasutusele võetud. Peenjuured kohanevad kliima- ja kasvukohatingimustega, mis peegeldub nii imijuurte morfoloogias kui ka peenjuurte osatähtsuses kogu puu (puistu) biomassist.

Lõhmus *et al.* (2006) eristasid taimedel kahte põhistrateegiat mineraaltoitumise tagamiseks – ekstensiivset ning intensiivset strateegiat. Ekstensiivne strateegia seisneb peenjuurte kogumassi ja pikkuse (pikkustiheduse) suurendamises laiendamaks juurestikku. Intensiivse strateegia käigus suurendatakse imijuurte morfoloogiliste adaptatsioonide ja mükorisosfääri mikroobikoosluse valikulise toetamise kaudu toitainete omastamisefektiivsust. Üldiselt rakendavad taimed mõlemat strateegiat ning praegu on uurimisel, millisel määral (Ostonen *et al.* 2011).

Peenjuurte biomass ja pikkustihedus mullas

- 1) Peenjuurte biomass (g m^{-2}) võimaldab kaudselt hinnata taimede assimilaatide suunamist juurestikku ning seega ekstensiivse strateegia rakendamist. Muutused peenjuurte ja ektomükoriisade biomassis on tihti suuremad kui morfoloogilistes karakteristikutes (Ostonen *et al.* 2007b). Sellest tulenevalt võib järeldada, et ebasoodsate olude korral on taimede esmane strateegia moodustada intensiivsemalt peenjuuri ning mullaruumi ulatuslikumalt hõivata.
- 2) Juurte pikkustihedus (RLD, *root length density*, m m^{-3} , m m^{-2}) näitab samuti mullaruumi hõivamist juurte poolt. Pikkustiheduse tõus toob kaasa intensiivsema vee- ja toitainete omastamise ning suurema juurehingamise (Coleman 2007).
Nii biomass kui RLD suurenevad väetamise või niisutuse mõjul (Majdi 2001; Coleman 2007), mis näitab taimede võimet soodsatele muutustele kiiresti ja plastiliselt vastata ning

ressursiomastamist tõsta. Peenjuurte biomass ja pikkustihedus kasvavad koos puistu vanusega ning vähenevad mullakihi sügavusega (Jackson *et al.* 1996, Leuschner & Hertel 2002, Coleman 2007).

Imijuurte morfoloogilised parameetrid

Imijuurte uurimisel vaadeldakse järgmisi karakteristikuid:

- 3) Keskmine diameeter (D, mm). Peenjuurte keskmise diameetri muutumist sõltuvalt kasvukeskkonna mineraaltoitainete sisaldusest on erinevate taimeliikide puhul näidanud Zobel *et al.* (2007). Puittaimede imijuurte keskmist läbimõõtu mõjutab lisaks mullatingimustele ka puuliik, olles okaspuudel võrreldes lehtpuudega selgelt suurem (Withington *et al.* 2006, Ostonen *et al.* 2007b; Kuznetsova *et al.* 2009). Ühtlasi on näidatud, et EcM kolonisatsiooni mõjul võivad taimed moodustada peenemaid imijuuri ning konkreetsed diameetri väärtused sõltuvad koloniseerivast seeneliigist (Makita *et al.* 2012).
- 4) Juurte kudede tihedus (RTD, *root tissue density*, kg m^{-3}) sõltub eelkõige juure vanusest – üldiselt on noored juured väiksema kuivainesisalduse ja tihedusega. RTD seost juurte elueaga on näidatud Poolas 11 puuliigiga tehtud katses (Withington *et al.* 2006), kuid autorid rõhutavad, et RTD-st paremad juurte eluea indikaatorid on juurekudede N:C suhe (mida suurem, seda lühiealisemad juured) ning spetsiifilised anotoomilised iseärasused (paksemad rakukestad). Samas varieerub RTD erinevate mükoriisamoodustajate puhul oluliselt (Ostonen *et al.* 2009). Ostonen *et al.* (1999) näitasid, et viljakatel muldadel kasvanud kuusikutes esineb trend RTD vähenemisele, mis viitab imijuurte suuremale funktsionaalsele efektiivsusele.
- 5) Eripind (SRA, *specific root area*, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) iseloomustab juurte kokkupuutepinda ümbritseva keskkonnaga ja seega kaudselt ka funktsionaalset efektiivsust. Stressitingimustele reageerivad puud üldiselt eripinna suurendamisega (Lõhmus *et al.* 1989; Rosenvald *et al.* 2011a). Ka viljakatel muldadel küllaldastes veeoludes kasvanud peen- ja imijuurte eripind on toitainetevaesemate kasvukohtadega võrreldes suurem (Ostonen *et al.* 1999), mida võib põhjendada vajadusega tagada kõrge konkurentsi tingimustes kiire kasv. Anotoomiliselt põhjustab sellisel juhul eripinna suurenemise suurte ja vesiste rakkude moodustumine (Ostonen & Lõhmus 2003) ning juurte kõrgem N:C suhe, mis vähendab rakkude tihedust

(Comas & Eissenstat 2009). Eripind 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 rohkem rohttaimedele omased.

- 6) Eripikkus (SRL, *specific root length*, m kg^{-1}) on kõige laialdasemalt kasutatav juuremorfoloogia parameeter, mille abil on iseloomustatud peenjuurte adaptatiivseid mustreid keskkonnatingimuste muutumisel (Ryser 2006; Ostonen *et al.* 2007a). Juure pikkuse ja massi suhe väljendab tulu:kulu suhet st juure pikkus loetakse proportsionaalseks toitainete omastamisega ja juure mass kulutustega, mis taim vastava juure moodustamiseks ja säilitamiseks ära kasutas (Eissenstat & Yanai 1997). Kõrge SRL viitab juurte kiirele kasvule ning suurendab oluliselt fosfori omastamist mullast (Silberbush & Barber 1983). Sarnaselt SRA-ga, on stressirikastes kasvutingimustes täheldatud juurte SRL-i tõusu (Rosensvald *et al.* 2011a,b). Ühtlasi esineb suurem SRL ka kiirekasvulistel liikidel viljakates kasvukohtades, kus konkurentsi tõttu on kiire toitainete omastamine hädavajalik (Ostonen *et al.* 2007b; Kupper *et al.* 2012). Lisaks toitainete kättesaadavusele mõjutavad SRL-i ka paljud teised keskkonnategurid (nt mulla lasuvustihedus, temperatuur, sademetehulk, õhu CO_2 kontsentratsioon) ning nende koosmõjud (Ostonen *et al.* 2007a; Rosensvald *et al.* 2011a). Juurte läbimõõt ja kudede tihedus võivad muutustele kasvukeskkonnas reageerida vastassuunaliselt, mistõttu reaktsioon stressitingimustele ei pruugi juurte eripinna ega eripikkuse väärtuste muutustes kajastuda (Ostonen *et al.* 2007a).

Ektomükoriisat moodustavate puude, sh arukase imijuurte eripinda ning eripikkust mõjutab oluliselt ektomükoriisne sümbioos seentega: koloniseeritud imijuurtel on tuvastatud oluliselt kõrgemat SRL-i kui koloniseerimata imijuurtel ning konkreetsed SRA ja SRL-i väärtused sõltuvad seeneliigist (Ostonen *et al.* 2009; Makita *et al.* 2012). SRA ja SRL sõltuvad ka puuliigist, olles nt lehtpuudel suuremad kui okaspuudel (Withington *et al.* 2006; Ostonen *et al.* 2007ab).

- 7) Hargnevus (RTFL, *root tip frequency per length*, cm^{-1}). Tippude arv imijuurte pikkusühiku kohta iseloomustab kasvukoha mullatingimusi ning võib stressioludes muutuda (Jozefaciukowa 1990). Hargnevust arvutatakse ka imijuurte massiühiku kohta (RTFW; *root tip frequency per unit of weight*). Hargnevus ei pruugi otseselt mükoriisest kolonisatsioonist

sõltuda, kuigi EcM seened võivad mõningal määral hargnevust stimuleerida (Kottke & Oberwinkler 1986).

Kuna SRA, SRL-i ja hargnevuse suurenemine võimaldavad taimel saavutada sama biomassiühiku kohta suurema imijuurte pinna, iseloomustavad kõik need näitajad imijuurte süsinikukasutuse efektiivsust toitainete omastamise tagamisel.

- 8) Keskmine imijuurte pikkus (*TipL*, *tip length*, mm) sõltub puuliigist, mullatingimustest ning ektomükoriissetel puudel ka koloniseerivast seeneliigist (Ostonen *et al.* 2009). Sesoonselt on keskmine imijuure pikkus väikseim juuretippude intensiivse moodustumise ajal, seega iseloomustab *TipL* uute juuretippude (kasvukuhikute) moodustumise aktiivsust (Ostonen 1997).
- 9) Keskmise imijuurte massi (*TipW*, *tip weight* mg) abil on samuti võimalik tuvastada intensiivseimat imijuurte moodustumise aega, kuna vastmoodustunud juuretippude mass on väike.

Ülalnimetatud morfoloogilised parameetrid on mõõdetud ka käesoleva töö eksperimentaalses osas, et hinnata arukase imijuurte kohanemisstrateegiat manipuleeritud õhuniiskuse tingimustes. Ühtlasi toimub taimejuurte intensiivne aklimatiseerumine ka mükorisosfäärikooslust valikuliselt toetades (Richardson *et al.* 2009), mille üht osa – juuri koloniseerivat EcM seenekooslust – on samuti antud töös uuritud. Mõistes puude juurestike kohanemisviise, saame hinnata uuritavate liikide vastupidavust muutuvate kliimatingimuste suhtes ning ennustada, kuidas seetõttu võiks muutuda ökosüsteemide liigiline koosseis ja produktsioon.

Boreaalse ja parasvöötme okas- ja segametsade puudel domineerib ektomükoriisne sümbioos. Erinevatel andmetel võib kuni neljandik puistu aastasest netoproduktsioonist minna ektomükoriisesele seenpartnerile (Hobbie 2006). Kuna ektomükoriisale on iseloomulik mantli olemasolu, siis toimub ainevahetus seenjuure ja teda ümbritseva keskkonna vahel seene vahendusel. Näiteks eritavad EcM koloniseerijad mulda erinevaid seenespetsiifilisi alkohole ja suhkruid, mõjutades sel viisil risosfääri bakterikooslusi (Frey-Klett *et al.* 2005).

EcM seenekooslustele on iseloomulik tohtu taksonoomiline ja funktsionaalne mitmekesisus, mis on muutuvate kliimaolude taustal metsaökosüsteemide stabiilsuse alus. Näiteks täiendavad

erinevad seenetaksonid üksteist ensümaatilisel (Courty *et al.* 2005), mis kindlustab taimedele ühtlase ja laialdase toitainete kättesaadavuse. Puistu siseselt võib seenekooslus koosneda 100-200 liigist ning Eestis Järvelja ürgmetsas teostatud uuringud on näidanud, et juba ühtainsat puud koloniseerib mitusada EcM liiki ning mitukümmend ühe seeneliigi isendit (Bahram *et al.* 2011).

EcM seened võivad omastada süsinikku kahest allikast: assimilaatidena peremeestaimedelt või mulla orgaanilisest ainest (edaspidi SOM – *soil organic matter*). Peamiselt sõltuvad nad peremeestaimedest, kuigi on näidatud, et seente viljakehades sisalduvast süsinikust võib kuni 43% olla pärit SOM-ist (Hobbie & Hobbie 2006, viidatud Courty *et al.* 2010 kaudu). EcM seente suutlikkus orgaanilist ainet lagundada on seletatav nende saprotroofse evolutsioonilise päritoluga. Samas on vastav võime liigiti väga varieeruv ning sõltub lisaks seenetaksonile veel ka abiootilistest ning biootilistest teguritest (aastaaeg, puu fenoloogia, temperatuur, varise kvaliteet, mulla pH ja lämmastikuisaldus) (Courty *et al.* 2010). EcM seente lagundamisaktiivsuse kasv kevadeti ning C-voovõimalikkus seenelt taimetele lubavad oletada, et lisaks toitainetele ja veele võivad mõned puuliigid oma intensiivsematel arenguperioodidel seenpartnerilt ka süsiniku näol tuge saada (Courty *et al.* 2010). Ühtlasi on Philip *et al.* (2010) kirjeldanud süsiniku kahesuunalist korduvat ülekannet EcM seenevõrgustiku vahendusel puistu heitlehiste ja igihaljaste taimede vahel, sõltuvalt vegetatsiooniperioodi etappidest.

Taimespetsiifiliste suhkrute (glükoos, fruktoos) näol peremeestaimelt saadav süsinik muundatakse seenes alkoholideks ja suhkruteks, mida taim kasutada ei saa (nt trehaloos, mannitool, arabitool, glütserool). Trehaloos ja mannitool täidavad seentes varuainete ja osmootikumide rolli (Shi *et al.* 2002). Ühtlasi eritatakse neid mulda ning mõjutatakse sel viisil seenjuurestikuga seotud bakterikoosluste struktuuri (Frey-Klett *et al.* 2005). Mükoriisadelt, mükorisosfäärist ja seda ümbritsevast mullast isoleeritud bakteritüvesid võrreldes on selgunud, et seened soodustavad mükorisosfääris valikuliselt nende bakteritüvede kasvu, mis on võimelised lahustama fosfaate, produtseerima rohkem või efektiivsemaid rauda siduvaid siderofoore, siduma molekulaarset lämmastikku ning näitama üles laiemaspektrilist patogeenidevastast aktiivsust (Frey-Klett *et al.* 2005). Ühtlasi on teatud EcM seeneliikidel ja nendega kaasnevatel bakterikooslustel võime leevendada raskmetallidest, põuast ja püsivatest orgaanilistest saasteainetest tulenevat stressi. Eelmainitu tõttu mängivad EcM seened olulist rolli

taimekoosluste kujundajatena ning metsauuenemise soodustajatena (Finlay 2008; Simard & Austin 2010).

Ektomükoriisid jagatakse mantli värvi, tekstuuri ning juurest lähtuvate hüüfide, risomorfide ja tsüstiidide olemasolu järgi morfotüüpideks, mille alusel on teatud määral võimalik ennustada koloniseerivate seenetaksonite funktsionaalset rolli (Agerer 2001; Hobbie & Agerer 2010). Viimasel ajal kogub populaarsust morfotüüpide funktsionaalne klassifitseerimine mütseelitüübi (*exploration type*) alusel kauglevi- (*long-distance*), kesklevi- (*medium-distance*), lähilevi- (*short-distance*) ning kontakttüüpideks (*contact-type*), mis omakorda jaotatakse alamtüüpideks. Kontakt-tüüpi iseloomustab sile mantel väheste juureväliste hüüfidega ning see tüüp on valdavalt hüdrofiilne. Lähilevi-mütseelitüüp esineb arvukate juurest lähtuvate hüüfidega ning on samuti hüdrofiilne. Kesklevi-tüüp jaguneb risomorfidest ning hüüfidest moodustuvate struktuuride alusel varieeruva tiheduse ja hüdrofoobsusega alamtüüpideks. Risomorfid võivad vastava mütseelitüübi korral ulatuda juurest 3-5 cm kaugusele mulda. Kauglevi-tüübile on omane väga pikkade ja hästi arenenud risomorfide esinemine (moodustavad juurest mitme detsimeetri kaugusele ulatuvaid trahhee-laadseid struktuure) ning hüdrofoobsus (Agerer 2001). Wallander *et al.* (2013) hinnangul moodustavad kauglevi-tüüpi mükoriisaseened kuni 15 korda rohkem juurevälist biomassi ning juurest 8 korda kaugemale ulatuvaid hüüfe kui lähilevi-tüüpi koloniseerijad.

Ülalkirjeldatud mütseelitüüpe seostatakse erinevate EcM seente toitumisstrateegiatega. Vähest juurevälist biomassi moodustavad hüdrofiilsed morfotüübid esindavad oportunistlikku ruderaalset strateegiat ning valdavad niisketes kasvutingimustes, kus labiilse lämmastiku kättesaadavus on piisav (Unestam & Sun 1995; Hobbie & Agerer 2010). Hüdrofiilsed morfotüübid taluvad liigniiskust ning hapnikuvaegust paremini ning suisa eelistavad märga mulda, võrreldes hüdrofoobsete seentega, mille keerukaid juureväliseid struktuure ohustab isegi lühiajaline liigniiskus (Stenström 1991). Ühtlasi on täheldatud vähest juurevälist biomassi moodustavate morfotüüpide oluliselt sagedasemat esinemist suure juuretippude tiheduse korral mullas, kus ei ole vaja koloniseerimata juuri kaugelt otsida ning selleks suuri süsinikukulutusi teha (Peay *et al.* 2011).

Suurt juurevälist biomassi ning kaugeleulatuvaid risomorfe moodustavad morfotüübid on eelisseisundis keskkondades, kus lahustuvaid lämmastikuühendeid on vähe ning mittelahustuva

orgaanilise lämmastiku allikad paiknevad mullas hajutatult ja ruumiliselt kontsentreeritult. Hüdrofoobsed risomorfid võimaldavad vett efektiivselt pika vahemaa taha transportida, takistavad lahustunud ainete leket ja taluvad edukalt põuda ning sellest tulenevat toitainete defitsiiti. Sellistes oludes tasub laialdase juurevälise mütseeli kasvatamine ning orgaanilisi substraate lagundavate ensüümide kulukas eritamine end ära. Laialdase hüdrofoobse hüüfimati moodustamine võib hõivatavast mullaruumist teisi mikroorganisme välja tõrjuda ning seega teatud tingimustel suurendada vastavate seenetaksonite konkurentsivõimet (Unestam & Sun 1995). Ulatuslik mütseel võimaldab edukamalt koloniseerida juuretippe nende hõredama paiknemise korral (nt metsaservades) ning ühtlasi moodustada puude vahel laialdasi mükoriisavõrgustikke (Simard & Austin 2010; Peay *et al.* 2011). Eespool kirjeldatud arusaama ilmekaks näiteks on asjaolu, et lõunapoolsetes kõrge produktiivsusega kuusikutes, kus kiire kasvu tagamiseks on vajalik suuremahuline mineraalainete omastamine, on juuretipud 19% võrra enam koloniseeritud kaugeleulatuvaid risomorfe ja laialdast mütseeli moodustavate EcM seente poolt, võrreldes põhjapoolsete metsadega (Ostonen *et al.* 2011).

Lisaks kontaktpinna suurendamisele ümbritseva mullaga, muudab koloniseeriv seen ka juuremorfoloogiat, mõjutades sel viisil kontaktpinda taime ja seene vahel. Näiteks võib seentaksoni üksi määrata kuni 28% lepa EcM juurte funktsionaalsetest parameetritest (Ostonen *et al.* 2009). Seega võib imijuurte eripinna või eripikkuse suurendamist stressioludes vaadelda kui mehhanismi sümbioosisuhte ning sellest tuleneva toitainetevahetuse intensiivistamiseks, säilitades samas madalat juurte ülalpidamiskulu.

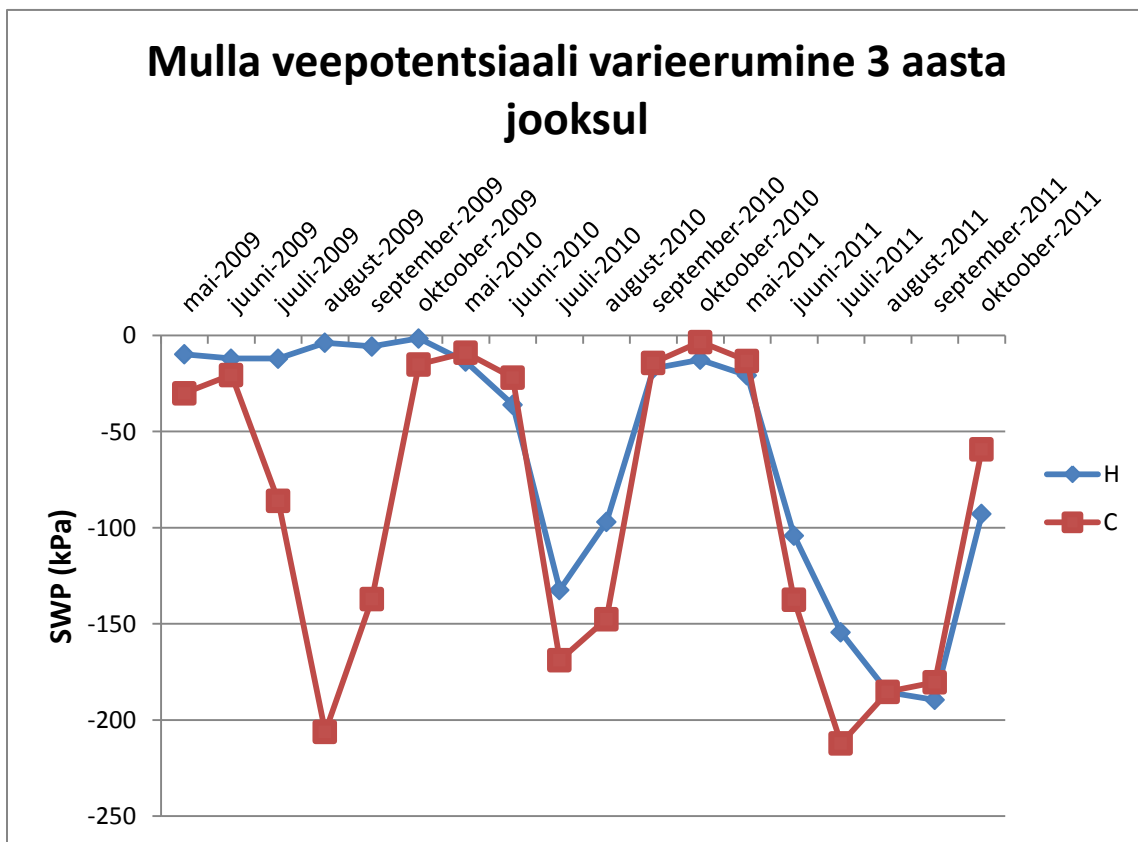
2. Materjal ja meetodika

2.1. FAHM katseala kirjeldus

Õhuniisutuse katseala (FAHM – *Free Air Humidity Manipulation*) asub SA Järvelja Õppe- ja Katsemetskonna maal Rõka külas Meeksi vallas Tartumaal (geograafiliste koordinaatidega 58°24'N ja 27°18'E). Katseala on rajatud söötis põllumaale. Mullatüüp on kahkjast liivsavimuld (Stagnic Luvisol, WRB), mille huumushorisont on 27 cm tüsedune. Mulla lämmastikusisaldus varieerub piirides 0,10–0,17%, pH 4,0–4,7 ja C/N suhe on 11,8. 2005. a. sügisel tehti katsealal umbrohutõrje ja sügiskünn, 2006. a. kevadel ja sügisel istutati sinna 2,7 ha suurune hübriidhaava

(*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) puistu (puude vahekaugus 2 m), milles omakorda paiknevad 14-meetrise läbimõõduga õhuniisutus- (H1, H2, H4) ja kontrollkatseringid (C1, C2, C4). Iga katsering on jagatud kaheks – ühel poolel kasvavad hübriidhaavad, teisel poolel arukased. Puude vahekaugus katseringides on üks m. Niisutust alustati 2008. aasta kevadel, seega jäi imijuureproovide võtmise ning katse alustamise vahele kaks vegetatsiooniperioodi. Õhku niisutati igapäevaselt kõikide järgnevate vegetatsiooniperioodide jooksul v.a. juhtudel, kui suhteline õhuniiskus oli kõrgem kui 75%, õhutemperatuur madalam kui 10°C või tuulekiirus ületas 4 m s⁻¹. FAHM-süsteem võimaldab niisutuse ajal õhuniiskust tõsta keskmiselt 7% (maksimaalselt 18%). Õhuniisutust ning kontrolli nimetan edaspidi ka töötlusteks.

Katseala ülesehitust ja niisutussüsteemi tööpõhimõtteid on põhjalikumalt kirjeldanud Kupper *et al.* (2011). Ilmastikunäitajate keskmised väärtused kuude kaupa on esitatud Lisas 1 ning mulla veepotentsiaali kolmeaastane dünaamika joonisel 1.



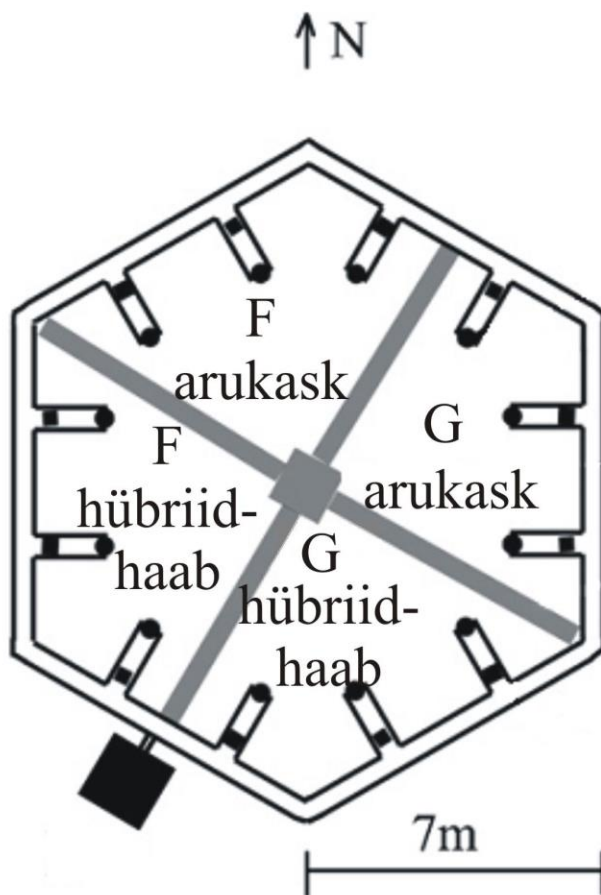
Joonis 1. Mulla veepotentsiaali (SWP; kPa) varieerumine kolme katseaasta jooksul. H – õhuniisutus, C – kontroll.

Üleüldiselt oli niisutusringide mulla veepotentsiaal (SWP – *soil water potential*) kolme suve jooksul oluliselt kõrgem kui kontrollringides, mille peamine põhjus oli vähenenud transpiratsioon (Hansen *et al.* 2012). 2010. ja 2011. aasta sügisel langes niisutusringide SWP madalamale kui kontrollringides. Seda saab seletada hilisema lehtede langemisega, mis võimaldas niisutusringide kaskedel kuni kuu aega kauem transpireerida (P. Kupper, kommentaar).

Tähelepanu tasub pöörata ka 2010. ja 2011. aasta kesksuvisele sademetevähesusele (Lisa 1), mille mõju mulla veepotentsiaalile niisutus oluliselt pehmendas. Mulla temperatuuris ei esinenud märkimisväärseid erinevusi töötluste vahel ühelgi katseaastal (Lisa 1). Niisutusringide pH oli kõrgem 2009. aastal (keskmised: $4,41 \pm 0,08$ H-ringides ja $4,15 \pm 0,04$ C-ringides, paarikaupa t-test, $p=0,05$) ja 2011. aastal (keskmised: $4,48 \pm 0,04$ H-ringides ja $4,29 \pm 0,04$ C-ringides, paarikaupa t-test, $p < 0,01$).

Samaaegselt läbi viidud lehelämmastiku mõõtmised näitasid 2009. aastal niisutusringides madalamaid väärtusi (2,4 % võrreldes kontrollringide 2,7%-ga), kuid 2011 aastaks oli olukord vastupidine – niisutusringide lehed sisaldasid oluliselt rohkem lämmastikku (3,1 % võrreldes kontrollringide 2,7%-ga). Mullaproovide keemiliste elementide kontsentratsioon määrati induktiivsisestunud plasma mass-spektromeetriga (ICP-MS) abil Soome Metsauuringute Instituudi (METLA) laboratooriumis (K. Lõhmus, avaldamata andmed).

Uurimaks mullaelustiku ja alustaimestu liigilise koosseisu ning mitmekesisuse mõju metsaökosüsteemi toimimisele, rajati katseringidesse kahte eri tüüpi alustaimestud: häiringujärgne metsa taimestu (F – *forest*) ning liigivaene pioneerkõrrelistest koosnev taimestu (G – *early-successional grasses*), nagu seda esineb söötis põllumaadel. Et inokuleerida kaseseemikud küpsele metsale omase mullaelustikuga ning sel viisil võimendada risosfääri positiivset efekti, toodi metsast mättaid ning loodi sel viisil eksperimentaalne “metsakooslus”, milles domineerisid roomav tulikas (*Ranunculus repens* L.), aas-seahernes (*Lathyrus pratensis* L.), punane aruhein (*Festuca rubra* L.) ja külmamailane (*Veronica chamaedrys* L.) ning mis koosnes kokku 67 taimeliigist. Varasuktessiooniline kõrrelistekooslus koosnes 31 taimeliigist ning selles oli tugevas ülekaalus harilik orashein (*Elymus repens* (L.) Gould) koos hariliku naadiga (*Aegopodium podagraria* L.). Katseringide ülesehitus on esitatud joonisel 2.



Joonis 2. FAHMi katseringi ülesehitus. Lühendid: F – liigirikas “metsa” alustaimestu, G – pioneerkõrrelistest. Käesoleva töö jaoks võeti proove vaid arukase veeranditest. Originaaljoonise allikas: Kupper *et al.* (2011).

2.2. Imijuurte morfoloogia: juureproovide kogumine ja morfoloogilised mõõtmised

Arukase imijuurte (esimest ja teist järku juurte) proovid võeti H1 ja H4 ning C1 ja C4 katseringide "metsa" alustaimestu (F) ja kõrreliste (G) alustaimestu veeranditest. Igast veerandist kaevati 0-10 cm sügavuselt labidaga välja 4 proovi, juured pesti ning igast proovist võeti kuni 5 alamproovi, kokku 10-20 alamproovi. Mikroskoobi all eemaldati alamproovide juurtelt pintsliga mullaosakesed ja loendati juuretippud. Proovid võeti 2007. aastal enne õhuniisutuse alustamist ning 2009.-2011. aasta oktoobris (vastavalt analüüsiti 2589, 2266 ja 3013 juuretippu). Kõikidest imijuurte alamproovidest mõõdeti programmiga WinRHIZO™ Pro 2003b (Regent Instruments Inc. 2003) järgmised karakteristikud: juurte kogupikkus L (cm), projektsioonpindala PA (cm²), pindala SA (cm²) ja läbimõõt D (mm). Järgnevalt juuri kuivatati 2-3 h 70°C juures ning kaaluti analüütilise kaaluga 0,05 mg täpsusega. Metoodikat on täpsemalt kirjeldanud Ostonen *et al.* (2007b).

Ülalnimetatud näitajate järgi arvutati järgmised karakteristikute keskväärtused:

- 1) Proovi ruumala $V = \frac{\pi * D^2 * L}{4}$ (m³)
- 2) Imijuurte eripind $SRA = \frac{SA}{W} = \frac{SA}{RTD * V}$ (m² kg⁻¹)
- 3) Imijuurte eripikkus $SRL = \frac{L}{W} = \frac{L}{RTD * V}$ (m g⁻¹)
- 4) Imijuurte kudede tihedus $RTD = \frac{W}{V}$ (kg m⁻³)
- 5) Imijuurte pikkus $TipL = \frac{L}{N}$ (mm), kus N – juuretippude arv
- 6) Imijuurte ruumala $TipV = \frac{V}{N}$ (mm³)
- 7) Imijuurte mass $TipW = \frac{W}{N}$ (mg)
- 8) Juuretippe pikkusühiku kohta $RTFL = \frac{N}{L}$ (cm⁻¹)

2.3. EcM seenekoosluse analüüs: proovide kogumine ja molekulaarsed meetodid.

EcM seenekoosluse koosseisu määramiseks võeti 2010. aasta oktoobris 4 juureproovi igast alustaimestu veerandist, kokku 32 proovi kahest niisutus- ja kahest kontrollringist. Juured lõigati 5 cm pikkusteks fragmentideks ning igast proovist jagati 2-3 fragmenti mantli värvi, tekstuuri

ning hüüfide, risomorfide ja tsüstiidide olemasolu järgi morfotüüpideks. Anti hinnang iga morfotüübi suhtelisele ohtrusele. Morfotüübid jagati hüdrofiilsesse ja hüdrofoobsesse rühma ning rühmadesse kuuluvus kontrolliti üle kirjanduse põhjal. Proovi kohta võeti vähemalt kaks juuretippu igast morfotüübist, kasteti tsetüül-trimetüül-ammoonium-bromiidil (CTAB) põhinevasse lüüsi puhverlahusesse [100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB] ning säilitati DNA analüüsi läbiviimiseni toatemperatuuril. Seenetaksonite identifitseerimiseks teostati tuuma ribosomaalse DNA ITS-regiooni (ITS – *Internal Transcriber Spacer*) järjestuse analüüs. DNA ekstraheeriti Qiagen DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen, Crawley, UK) abil tootjapoolse juhendi järgi. Kasutatud primereid, PCR tingimusi, saaduse puhastamist, sekveneerimist ja järjestuste analüüsi on põhjalikumalt kirjeldanud Tedersoo *et al.* (2010). Järjestused grupeeriti OTUdeks (OTU – *operational taxonomic unit*) ITS-regiooni järjestuse 97,0%-se identsuse (*barcoding threshold*) alusel (Tedersoo *et al.* 2003), v.a. prk *Laccaria* ja *Hebeloma* puhul, mille ITS-regioon varieerub vähe, mistõttu rakendati 99,0%-st identsuse läve. EcM seeneliikide ja võimaliku reostuse määramiseks rakendati iga OTU esinduslikule järjestusele Rahvusvahelistes Nukleotiidjärjestuse Andmebaasides (INSD – *International Nucleotide Sequence Databases*) ja UNITE'is (Abarenkov *et al.* 2010) megablast otsingut.

2.4. Statistiline analüüs

Andmeanalüüsiks kasutati STATISTICA 7, R ja CANOCO programme. Ektomükoriisade morfoloogiliste parameetrite normaaljaotust kontrolliti Lillieforsi, Shapiro-Wilki ja Kolmogorov-Smirnovi testidega. Korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi abil kontrolliti aasta mõju olulisust ning õhuniisutuse ja alustaimestu koosseisu aastateülest mõju imijuurte morfoloogiale. Iga aasta siseselt kontrolliti õhuniisutuse ja alustaimestu mõju kahefaktorilise dispersioonanalüüsiga. Juuremorfoloogia ning koloniseeriva seenekoosluse varieerumise selgitamiseks testiti järgnevate meteoroloogiliste tegurite mõju: summaarne võravesi (TF; mm) ning mulla veepotentsiaali (SWP; kPa), mulla temperatuuri (ST, °C), õhu temperatuuri (AT, °C) ja suhtelise õhuniiskuse (RH, %) kuude keskmised väärtused maist oktoobrini. Kontrolliti ka järgmiste mullaparameetrite mõju imijuurte morfoloogiale ning EcM seenekooslusele: mulla pH, mulla orgaanilise aine (%) ning Ca, K, Mg, N ja P kontsentratsioonid (mg kg^{-1}).

Morfoloogiliste parameetrite, töötluste, alustaimestu tüüpide ning keskkonnamuutujate vaheliste seoste määramiseks ja kolme-aastase dünaamika visualiseerimiseks tehti mitmemõõtmeline otsene gradientanalüüs (RDA - *Redundancy analysis*) (CANOCO programm; ter Braak & Šmilauer 2002). RDA tulemuste olulisust testiti Monte Carlo permutatsioonitestiga.

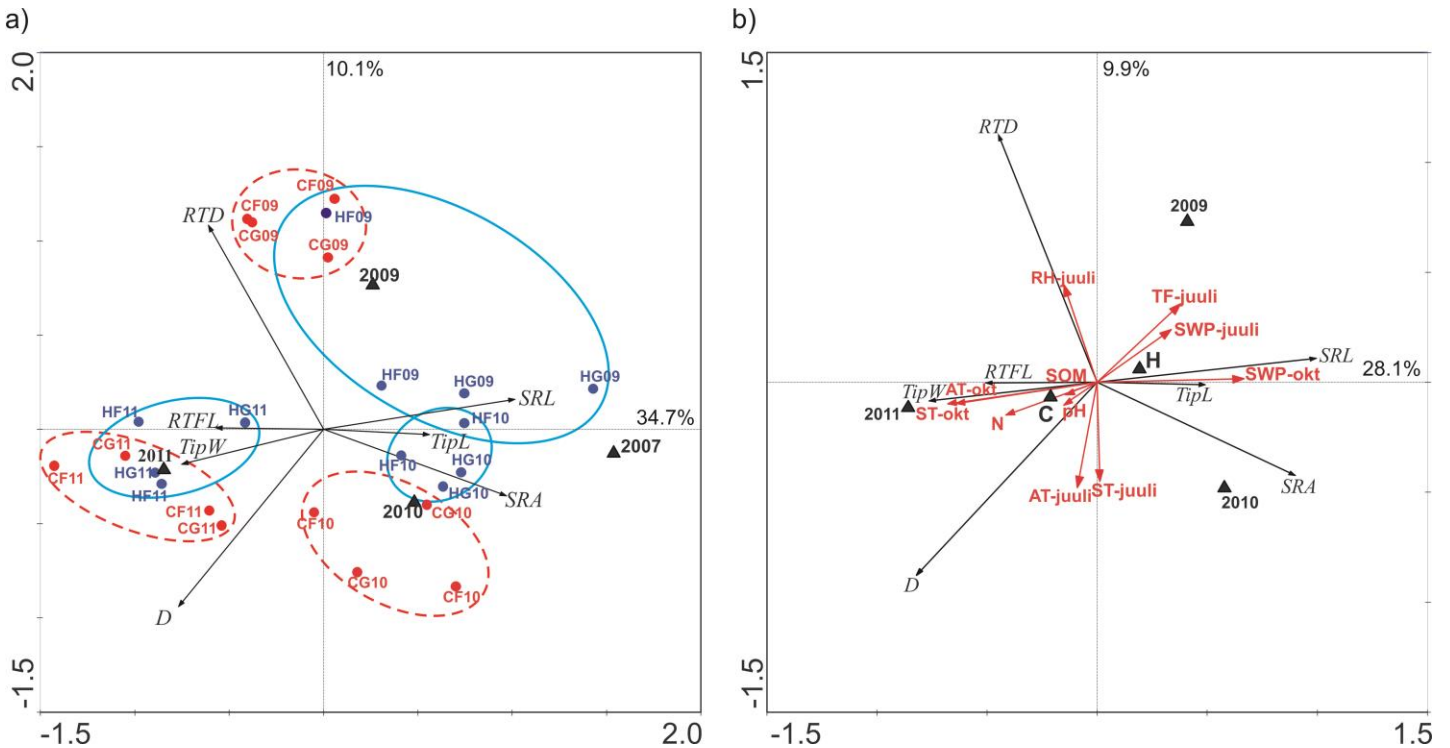
Õhuniisutuse, alustaimestu, mullaparameetrite ja meteoroloogiliste faktorite mõju seenekoosluse liigilisele koosseisule („esineb“; „ei esine“) kontrolliti Adonis testiga (vegan pakett, R). Töötlustevahelise erinevuse selgitamiseks eri liikide kolonisatsiooniprotsendis ning hüdrofoobsusel põhineva jagunemise illustreerimiseks rakendati kanoonilist korrespondentsanalüüsi (CCA). Monte Carlo testi abil tuvastati, kas mullafaktoritel ja meteoroloogilistel näitajatel oli seeneliikide kolonisatsiooniprotsendile oluline mõju. Töötlustevahelist erinevust hüdrofoobsete ja hüdrofiilsete morfotüüpide kolonisatsioonis kontrolliti paarikaupa t-testiga. Seenekooslust oluliselt mõjutanud keskkonnategurite töötlustevahelist erinevust kontrolliti samuti paarikaupa t-testiga. Kõigi nimetatud analüüside puhul kasutati olulisusnivood $\alpha = 0,05$.

3. Tulemused

3.1. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu koosseisu mõju imijuurte morfoloogiale.

Niisutusel oli oluline mõju imijuurte morfoloogiale igal katseaastal (Tabel 2, Lisa 2) ning SRA, SRL-i, RTD ja D puhul ka aasta mõju üleselt (Korduvmõõtmistega dispersioonanalüüs; p varieerus 0,023st 0,048ni). Korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi põhjal sõltusid katseaastast oluliselt kõik imijuurte morfoloogilised parameetrid (p varieerus 0,000st 0,001ni), v.a. imijuurte pikkus ja RTFL. 2009. ja 2010. aastal oli töötlustevaheline erinevus viiel parameetril kaheksast, kuid 2011. aastal vähenes niisutuse poolt mõjutatud tunnuste arv vaid kaheni (D ja RTFL) (Tabel 2, Lisa 2). Töötlustesisese ja -vahelise varieeruvuse vähenemist ning puistu arenedes aina jämedamate ja suurema massiga imijuurte moodustumist on kujutatud ordinatsiooniskeemil (Joonis 3 a). Ordinatsioonigraafikul on esitatud ka algne seis 2007. aastal enne niisutuse alustamist, et paremini kirjeldada imijuurte morfoloogia dünaamikat. Kuna 2007. aastal töötluste vahel olulist erinevust ei olnud (Tabel 2), on niisutus- ja kontrollringide mõõtmised ordinatsiooniskeemil vastavalt üheks punktiks koondatud.

RDA järgi mõjutasid juuremorfoloogiat oluliselt õhu ja mulla temperatuur, mulla veepotentsiaal, juulikuu sademetehulk ja suhteline õhuniiskus, mulla orgaanilise aine hulk (SOM), Ca, Mg ja N kontsentratsioon ja mulla pH. Ca ja Mg kontsentratsioone ordinatsiooniskeemil ei kajastata, kuna nende korrelatsioon esimese kahe teljega oli nõrk. Esimene telg korreleerus peamiselt oktoobri SWPga. Kokku seletasid nimetatud tegurid 40,9% juurte morfoloogiliste parameetrite varieeruvusest (Joonis 3 b).

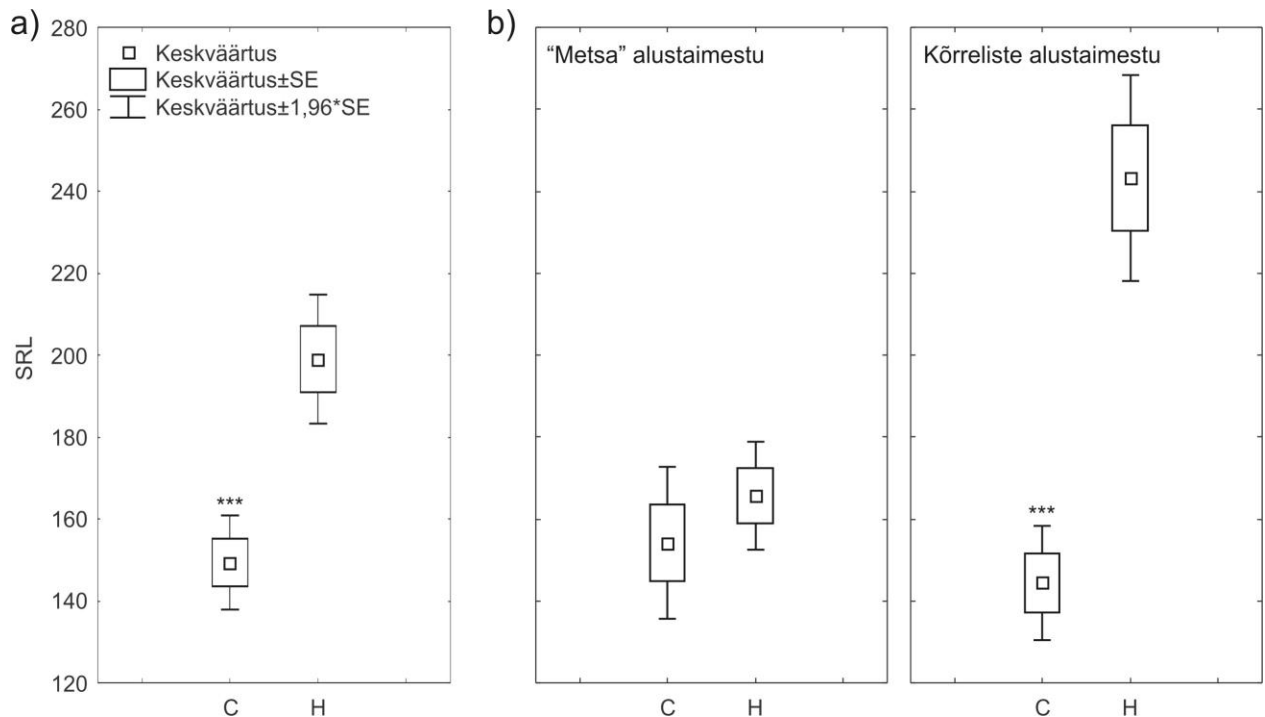


Joonis 3 a) Arukase imijuurte morfoloogiliste parameetrite mitmemõõtmelisel otsesel gradientanalüüsil (RDA – *redundancy analysis*) põhinev ordinatsiooniskeem, mis kujutab niisutuse mõju kolme katseaasta jooksul ja **b)** meteoroloogilised tegurid, mis oluliselt morfoloogilisi parameetreid mõjutavad (Monte Carlo permutatsioonitest, a) $p = 0,001$; b) $p = 0,001$). Katseaastate keskpunktid (märgitud aastaarvuga, joonis a ja b) ning töötluste keskpunktid (C, H) (joonis b) on kujutatud kolmnurkadega. Iga alustaimestu-veerandi keskmist väärtust ($n = 214 - 404$ mõõdetud juuretippu) on kujutatud täpiga ja tähistatud vastava töötluse ja alustaimestu tüübi lühendi ning aastaga. Joonisel a ümbritsevad sinised pidevad ringid niisutustöötluste proovide keskpunkte ning punased katkendjoonega ringid iga aasta kontrollringide proovide keskpunkte. Lühendid: C – kontroll, H – õhuniisutus, G – pioneerkõrrelised, F – liigirikas „metsa“ alustaimestu. Meteoroloogiliste näitajate ja morfoloogiliste parameetrite lühendid on seletatud lk 3.

Tabel 2. Uuritud morfoloogiliste parameetrite keskväärtused ja standardvead enne niisutuse algust 2007. aastal ning kontroll- ja niisutusringides kolme katseaasta jooksul. * P<0,05; ** P<0,01, *** P<0,001; õhuniisutuse mõju olulisus kahefaktorilisel dispersioonanalüüsil (faktorid: õhuniisutus (C/H) ja alustaimestu (F/G))

	D (mm)	SRA (m ² kg ⁻¹)	RTD (kg m ⁻³)	SRL (m g ⁻¹)	TipL (mm)	TipW (mg)	RTFL (nr mm ⁻¹)
2007 C (algseis)	0,212±0,007	181,0±18,6	112,7±11,8	277,6±32,5	1,95±0,13	0,0077±0,001	5,27±0,34
2007 H (algseis)	0,207±0,009	212,0±29,4	103,9±10,2	337,0±51,9	1,68±0,08	0,0061±0,0009	6,09±0,29
2009 C	0,216±0,004	98,6±2,5***	194,4±4,1***	150,0±5,9***	1,48±0,04	0,0106±0,0005***	7,00±0,18
2009 H	0,215±0,003	131,5±4,3***	152,0±4,6***	199,0±8,1***	1,56±0,04	0,0085±0,0003***	6,66±0,15
2010 C	0,273±0,003***	137,3±3,0	111,4±2,5**	163,4±4,6***	1,51±0,04**	0,0096±0,0003	6,98±0,20*
2010 H	0,242±0,003***	140,3±2,9	121,8±2,2**	188,3±5,4***	1,67±0,05**	0,0093±0,0004	6,40±0,20*
2011 C	0,303±0,004*	93,1±2,4	148,4±3,0	100,2±3,2	1,32±0,05	0,0135±0,0004	8,41±0,31**
2011 H	0,289±0,004*	92,1±1,9	155,6±2,7	103,8±3,0	1,42±0,03	0,0142±0,0004	7,38±0,19**

Alustaimestul oli oluline mõju enamikule morfoloogilistele parameetritele (v.a. D ja TipW), kuid ainult niisutusringides ja vaid 2009. aastal, kui puude võrastik polnud veel liitunud. Erandiks oli TipL, mida alustaimestu mõjutas ka 2011. aastal. Kõrrelistest koosnev alustaimestu võimendas töötlustevahelisi erinevusi. Näiteks oli 2009. aastal SRL niisutusringides oluliselt kõrgem kui kontrollringides, olles eriti kõrge just G alustaimestuga veerandites (Joonis 4). Sama ilmnes ka juurte eripinna puhul.



Joonis 4. a) Õhuniisutuse mõju imijuurte eripikkusele (SRL; m g⁻¹) ning b) õhuniisutuse ja alustaimestu koosmõju 2009. aastal. Kahefaktoriline dispersioonanalüüs; * P<0,05; ** P<0,01, *** P<0,001.

Alustaimestu mõjutas ka parameetreid (TipL ja RTFL), millele niisutus 2009. aastal olulist mõju ei avaldanud. G veerandites kasvavatel kaskedel olid oluliselt pikemad imijuured (p=0,007) ja vähem juuretippe pikkusühiku kohta (p=0,004). Imijuurte pikkuse puhul täheldati sama ka 2011. aastal (p=0,014).

3.1.1. Imijuurte morfoloogilised parameetrid: RTD, SRA, SRL, D, TipL, RTFL, TipW

2009. aastal oli niisutusringides juurte **SRA** oluliselt kõrgem (eriti G alustaimestuga veerandites analoogiliselt SRLiga; Joonis 4, Tabel 2, Lisa 2). Niisutuse mõju kadus 2010. aastaks RTD ja D vastassuunaliste muutuste tõttu (Tabel 2, Lisa 2). **SRLi** dünaamika oli SRAGA sarnane. 2009. ja 2010. aastal oli SRL niisutuses oluliselt suurem kui kontrollis (Joonis 3, Tabel 2, Lisa 2), vastavalt 33% ja 15%. 2011. aastaks niisutuse oluline efekt kadus ning nii SRLi kui SRA absoluutväärtused olid märkimisväärselt langenud ($p < 0,01$). 2009. aasta suur eripind ja eripikkus saavutati oluliselt madalama **RTD**-ga niisutusringides (eriti G alustaimestuga veerandites) (Tabel 2, Lisa 2). 2010. aastal ilmnis vastupidine olukord, kus niisutuses oli oluliselt kõrgem RTD, kuigi keskväärtuste vahelised erinevused olid 4 korda väiksemad kui 2009. aastal. 2011. aastaks olulised erinevused kadusid, kuigi niisutuse RTD püsis ikka veidi kõrgem.

Juurte **läbimõõdus** 2009. aastal erinevusi ei tuvastatud (Tabel 2, Lisa 2). 2010. aastaks suurenes D oluliselt, eriti kontrollringides. 2011. aastaks oli D tõusnud veelgi ning ikka olid kontrollringide juuretupid oluliselt jämedamad kui niisutuses.

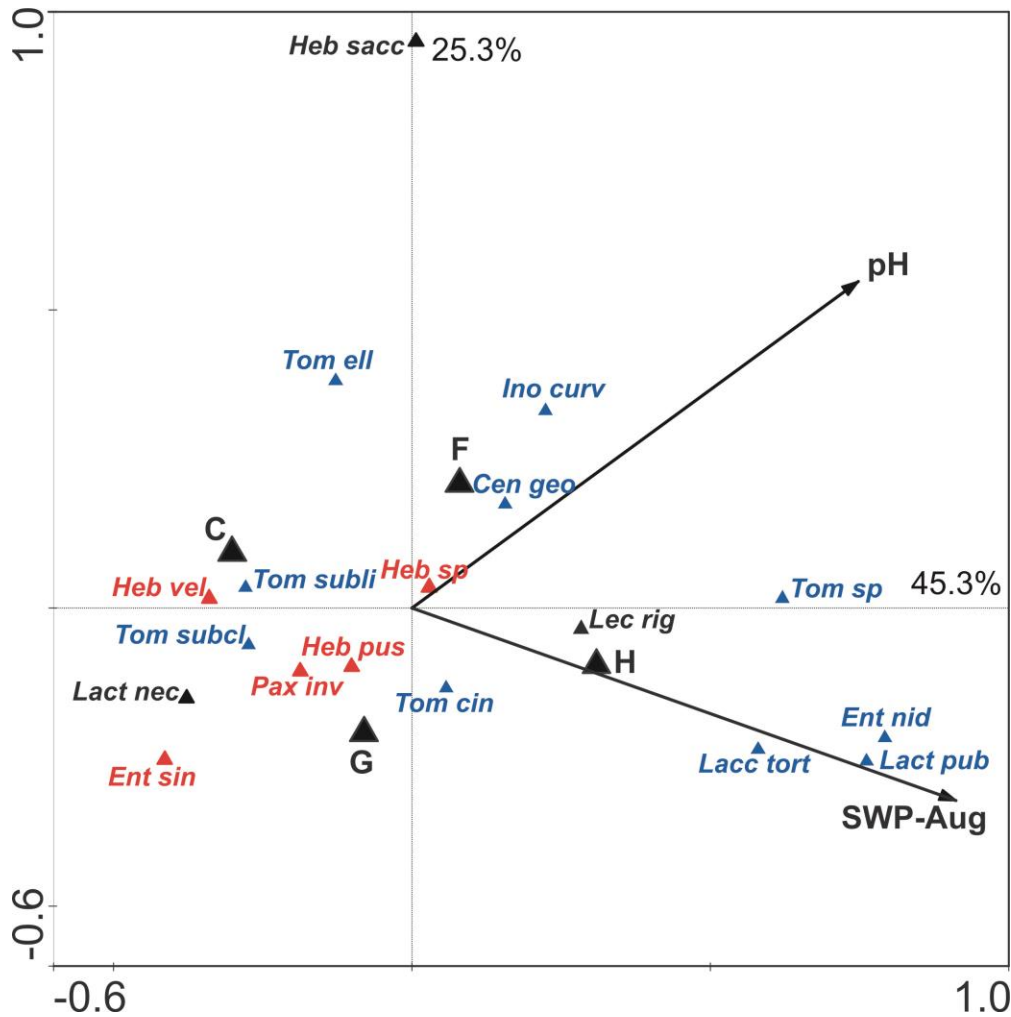
2009. aastal ei ilmnenu **imijuurte pikkuses** töötluste vahel olulist erinevust. 2010. aastal hakkas niisutus mõju avaldama – niisutuses olid oluliselt pikemad imijured (Tabel 2, Lisa 2). 2011. aastaks usaldusväärsed erinevused kadusid, kuid säilis püsiv trend niisutuses pikemaid imijuuri moodustada. Töötlusteülelel langes TipL 2011. aastaks eelmiste aastatega võrreldes oluliselt ($p < 0,001$). **RTFL**, imijuurte pikkuse pöördväärtus, oli üks kahest parameetrist, mida niisutus 2011. aastal jätkuvalt oluliselt mõjutas – niisutuses oli püsivalt vähem juuretippe pikkusühiku kohta (Tabel 2, Lisa 2). 2009. aastal oli niisutuses usaldusväärselt väiksem **TipW**, eriti G alustaimestuga veerandites ($p < 0,003$). Niisutuse oluline mõju ning interaktsioon alustaimestuga kadusid 2010. aastaks. Üleüldiselt olid juuretupid 2011. aastal oluliselt raskemad kui eelmistel aastatel ($p < 0,001$).

3.2. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu mõju EcM seenekoosluse struktuurile.

Tuuma ribosomaalse DNA ITS-regiooni järjestuste analüüsi alusel eristati 64 seenetaksonit (OTU), millest 44 olid singeltonid s.t. esinesid vaid ühes proovis. Nendest 64st OTUst suudeti liigini määrata 32 taksonit 16 monofüleetilisest rühmast (*lineage*). Kõige sagedasemalt esinevad OTUd olid *Paxillus involutus*, *Tomentella cinerascens* ja *Tomentella sublilacina*. Kõige OTU-rikkam rühm oli /tomentella-thelephora, mis esines kolonisatsiooniprotsendi osas laialdasemalt niisutusringides. Liigirikka „metsa“ alustaimestuga veerandites esines trend suurema OTU-rikkuse suunas.

ADONISE analüüsi tulemusena ei olnud niisutusel otsest usaldusväärset mõju seenekoosluse liigilisele koosseisule. Samas mõjutas suurendatud õhuniiskus oluliselt hüdrofoobsete ja hüdrofiilsete morfotüüpide suhtelist osakaalu, viimased domineerisid niisutusringides ($p = 0,001$; t-test; Joonis 5). Hüdrofiilsete morfotüüpide keskmine kolonisatsiooniprotsent oli 72% niisutusringides ja 33% kontrollringides.

Kõiki keskkonnategureid testides ilmnes oluline mõju seenekoosluse liigilisele koosseisule vaid pH ($F_{x,y}=2,705$; $p=0,0015$; ADONIS) ning augusti veepotentsiaali puhul ($F_{x,y}=2,188$; $p=0,0063$; ADONIS). Seenekoosluse struktuuri seoses töötluste, alustaimestu tüübi, pH ning augusti SWP-ga on kujutatud CCA ordinatsiooniskeemil (Joonis 5). Kuigi CCA järgi ei mõjutanud pH seenekooslust usaldusväärset ($p=0,098$), kaasati ta ordinatsiooni, kuna ADONISE järgi avaldus oluline mõju seenekoosluse liigilisele koosseisule. 2009. ja 2011. aastal kaasnes õhuniisutusega mulla pH tõus, 2010. aastal olulist erinevust töötluste vahel ei tuvastatud.



Joonis 5. Liikide ja keskkonnategurite vaheliste mõjude kanoonilisel korrespondentsanalüüsil põhinev ordinatsiooniskeem, mis kujutab niisutusest põhjustatud EcM seenekoosluse nihet hüdrofiilsuse suunas (Monte Carlo permutatsioonitest, $p < 0,05$). Sinine tekstivärv tähistab hüdrofiilseid morfotüüpe, punane tekstivärv hüdrofoobseid morfotüüpe, mustaga tähistatud liigid moodustasid erinevates proovides nii hüdrofiilseid kui hüdrofoobseid morfotüüpe. Suured kolmnurgad kujutavad töötusi ja alustaimestu tüüpe (H – niisutus, C – kontroll, F – liigirikas “metsa” alustaimestu, G – pioneerkõrrelistest koosnev alustaimestu). Lühendid: Cen geo – *Cenococcum geophilum*, Ent sin – *Entoloma sinuatum*, Ent nid – *Entoloma nidorosum*, Heb pus – *Hebeloma pusillum*, Heb sacc – *Hebeloma sacchariolens*, Heb sp – *Hebeloma sp*, Heb vel – *Hebeloma velutipes*, Ino curv – *Inocybe curvipes*, Lacc tort – *Laccaria tortilis*, Lact nec – *Lactarius necator*, Lact pub – *Lactarius pubescens*, Lec rig – *Leccinum rigidipes*, Pax inv – *Paxillus involutus*, Tom cin – *Tomentella cinerascens*, Tom ell – *Tomentella ellisii*, Tom subcl – *Tomentella subclavigera*, Tom subli – *Tomentella sublilacina*, Tom sp – *Tomentella sp*.

4. Arutelu

4.1. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu koosseisu mõju imijuurte morfoloogiale.

Õhuniisutuse tulemusel kasvatasid arukased püsivalt pikemaid ja peenemaid imijuuri. Kui diameetri puhul säilisid kolmandaks katseaastaks olulised erinevused, siis imijuurte pikkuse töötlustevaheline oluline erinevus kadus (tendents püsis). Sellegipoolest väljendus niisutuse mõju imijuurte pikkusele väiksema juuretippude arvuna pikkusühiku kohta. Ühtlasi moodustasid pioneerkõrreliste alustaimestuga veerandites kasvavad arukased püsivalt pikemaid imijuuri (statistiliselt oluline erinevus avaldus 2009. ja 2011. aastal), mis ilmnes eriti rõhutatult just niisutusringides.

Pikemate ja peenemate juurte moodustumist võib tõlgendada stressireaktsioonina (Ostonen *et al.* 2007a) toitainete raskendatud omastamisele, mida põhjustas transpiratsiooni ja ksüleemivoolu intensiivsuse vähenemine (Kupper *et al.* 2011) ning võimendas liigivaene kõrrelistest koosnev alustaimestu. 2009. aastal oli niisutusringides kaselehtede lämmastikuisaldus madalam kui kontrollis, mis viitab kehvemale toitumusele (Sellin *et al.* 2013). Samaaegselt oli niisutusringide imijuurtel oluliselt kõrgem eripind ja eripikkus ning madalam kudede tihedus – erinevuse põhjustasid peamiselt kõrreliste veeranditest pärinevad mõõtmised. Meie vaatlused on vastavuses Rosenvaldi *et al.* (2011a) teadustöö tulemustega, mille kohaselt madala lehe lämmastikuisaldusega kaasnevad kõrged SRLi ja SRA väärtused, peegeldades toitainete raskendatud kättesaadavust.

Alustaimestu peenjuurte ja risoomide biomass moodustas 2009. aastal ligikaudu 90% kogu peenjuurte biomassist ning kõrreliste alustaimestu peenjuurte biomass ületas niisutusringides oluliselt „metsa“ alustaimestu peenjuurte biomassi (2009. aasta septembri keskmised väärtused olid vastavalt 1207 g m⁻² ja 601 g m⁻², I. Ostonen-Märtin, avaldamata andmed), kontrollringides alustaimestu tüüpide vahel erinevust ei olnud (I. Ostonen-Märtin, kommentaar). Kõrreliste veerandites ülekaalukalt domineeriv harilik orashein võis algselt pakkuda arukase juurtele tugevat maa-alust konkurentsi ning sellest tulenevalt lisastressi. 2010. aastaks, kui puuvõrad olid liitunud, oli alustaimestu biomass oluliselt vähenenud (eriti kontrollringides, millele suvine põud mõjus rängemalt) ning alustaimestu mõju juuremorfoloogiale kadus. Ühtlasi võis mullatingimusi

mõjutada alustaimestu varise kvaliteet, mis on kõrrelistel tavaliselt lämmastikuvaesem ning mineraliseerub kehvemini (Semmartin *et al.* 2004, Cheng *et al.* 2010).

2010. aastat iseloomustasid üleüldiselt suhteliselt madalad RTD väärtused ning sellest tulenevalt kõrge imijuurte SRA ja SRL. Madala RTD põhjuseks võis olla uue juurepõlvkonna moodustumine pärast suhteliselt kuiva suve, samas kui 2009. aasta vegetatsiooniperiood oli vihmane ning kesksuvist kuivaperioodi ei esinenud. Vastupidiselt 2009. aastale, oli põuasel 2010. ja 2011. aastal kontrollringide RTD madalam kui niisutuses, mis viitab niisutuse põuda leevendavale mõjule. Kuigi imijuured olid niisutusringides peenemad, kadus juurekudede tiheduses toimunud muutuste tõttu tööstustevaheline erinevus eripinnas ning 2011. aastal ka eripikkuses.

Vastupidiselt 2010. aastale, langesid kolmandaks katseaastaks mõlema töötuse puhul SRA ja SRL oluliselt. Selle põhjuseks oli üldine juurte läbimõõdu suurenemine (ehkki niisutusringide juured olid ikka peenemad) ning suhteline RTD ja imijuure massi tõus, võrreldes 2010. aastaga. Sarnast dünaamikat (D, TipW ja RTD suurenemist ning SRA ja SRLi vähenemist) on kirjeldatud ka varasemates arukase juuremorfoloogiat käsitlevates töedes ning seletatud puistu vananemisest tingitud muutustega (Rosenvald *et al.* 2013).

Ühtlasi vähenes kolme aasta jooksul oluliselt tööstustevaheline varieeruvus ning niisutus- ja kontrollringide juuremorfoloogia hakkas suuresti kattuma (Joonis 3a). Sellest järeldub, et nooremad kiirekasvulised puud on keskkonnamuutustele palju tundlikumad kui vanemad ning alid muutma oma juureparameetreid.

Morfoloogiliste uuringutega paralleelselt on FAHMil teostatud ka peenjuurte biomassi mõõtmisi, mille esialgseid tulemusi siinkohal autorite loal põgusalt kirjeldan. Kui 2007. aastal enne töötuse algust oluline erinevus katseringide vahel puudus (Lõhmus *et al.*, avaldamata andmed), siis pärast nelja aastat niisutust oli peenjuurte biomass niisutusringides oluliselt suurem kui kontrollis (Ostonen *et al.*, avaldamata andmed). Lehtede lämmastikusisaldus oli niisutusringides tõusnud kontrolliga võrreldes samuti kõrgemaks. Meie tulemustest nähtub, et muutunud keskkonningimustes tuginevad noored taimed mineraaltoitumise tagamiseks esialgu intensiivsele strateegiale, modifitseerides juurte morfoloogilisi parameetreid (Lõhmus *et al.* 2006b). Pikemaajaliselt panustavad niiskes kliimas kasvavad arukased peamiselt peenjuurestiku

laiendamisse (ekstensiivne strateegia). Imijuurte morfoloogilise vastuse nõrgenemist niisutusringides tasakaalustab peenjuurte biomassi tõus puu kohta (Ostonen *et al.*, avaldamata andmed), mis paistab olevat taimede toitumust märgatavalt parandanud.

4.2. Suurendatud õhuniiskuse ja alustaimestu mõju ektomükoriisile seenekooslusele

Kolm õhuniisutusaastat põhjustas EcM seenekoosluses olulise nihke hüdrofiilsete morfotüüpide ülekaalu suunas, kusjuures kontrollringides domineerisid hüdrofoobsed morfotüübid. Kuna hüüfide hüdrofoobsus on tugevalt seotud mütseelitüübi (*exploration type*) ning risomorfide esinemisega, on ootuspärane, et niisutusringides domineerivad lähilevi- ning kontakttüüpi mütseelimoodustajad (Hobbie & Agerer 2010). Käesoleva töö tulemused langevad kokku Bakkeri *et al.* (2006) kirjeldatuga, mille kohaselt esines niisketes kasvukohtades oluline hüdrofiilsete kontakttüüpi mütseeliga morfotüüpide ülekaal ning kuivades kasvukohtades domineerisid lähilevi- ja kauglevi-mütseelitüübid. Kõige arvukamad koloniseerijad niisutusringides olid *Tomentella-thelephora* rühma esindajad, keda iseloomustavad kontakt- ja lähilevi-mütseelitüübid ning hüdrofiilsed hüüfid. Tähtsat nihe seenekoosluses langeb kokku arusaamaga hüdrofiilsetest vähese juurevälise biomassiga morfotüüpidest kui ruderaalse strateegia esindajatest, kes on kohastunud niisketele kasvuoludele, mida iseloomustab piisav labiilse lämmastiku kättesaadavus (Unestam & Sun 1995; Hobbie & Agerer 2010). Ühtlasi on hüdrofiilsed morfotüübid liigniiskuse ja hapnikupuuduse suhtes vastupidavamad ning paistavad liigniiskust lausa eelistavat, võrreldes hüdrofoobsete seentega, kelle keerukat juurevälist mütseeli ohustab isegi lühiajaline märgumine (Stenström 1991).

Kuigi suurendatud õhuniiskusel ei olnud EcM seenekoosluse liigilisele koosseisule olulist otsest efekti, avaldus mõju kaudselt mulla veepotentsiaali ja pH muutuste kaudu. Niiskem õhk suurendab mulla veesisaldust peamiselt taimede veemastamise vähendamise kaudu (väiksem transpiratsioon). Õhust pärineva veeauru difusioon mulda on kaduvväike (Hansen *et al.* 2012). Asjaolu, et augusti veepotentsiaal mõjutas oluliselt seenekoosluse koosseisu, langeb kokku intensiivse juuretippude moodustumisega pärast 2010. aasta suvist põuaperioodi. Selleaegsed ilmastikutingimused, eriti mullaniiskus, võib anda hüdrofiilsetele morfotüüpidele niisketes kasvukohtades juurte koloniseerimisel eelise.

On näidatud, et mulla happesus mõjutab EcM seente kolonisatsioonipotentsiaali (Erland & Söderström 1990), konkurentsivõimet (McAfee & Fortin 1987) ning viljakehade produktsiooni (Agerer *et al.* 1998), vormides sel viisil seenekooslust. Ka erinevate EcM liikide ensümaatilise võimekus sõltub suuresti mullahorisondist ja pHst (Courty *et al.* 2005). Sama liigi ensümaatilise aktiivsus võib isegi ühes horisondis paiknedes ruutmeetri piires oluliselt varieeruda, mistõttu vajab EcM seeneliikide toitainete omastamiseefektiivsus erinevate pH väärtuste juures täiendavat uurimistööd.

Võrreldes varasuktsessioonilistest kõrrelistest koosnevate veeranditega, eristati liigirikka „metsa“ alustaimestu puhul arukase juurtel rohkem OTUsid, mis võis teatud määral kasvukeskkonda taimede jaoks soodsamaks muuta ning täiendada 2009. aastal esinenud tugevat alustaimestu mõju. On väidetud, et EcM koloniseeriija identiteet on taime toitumuse seisukohast olulisem kui EcM liigirikkus, kuid kahtlemata on liigirikkas seenekoosluses suurem tõenäosus, et sinna satub ka selliseid seeneliike, mis märkimisväärselt taimekasvu soodustavad (Kipfer *et al.* 2012). Mis oli alustaimestu efekti peapõhjus – arenenum mikroobikooslus, alustaimestu konkurentsipurve või erinev varise kvaliteet – vajab täiendavat analüüsi.

Kokkuvõte

Seoses kliimamuutustega prognoositakse kõrgematel laiuskraadidel sademetehulga ja õhuniiskuse suurenemist. Käesolevas magistritöös uuriti õhuniiskuse tõusu mõju arukase imijuurte morfoloogiale ning koloniseeriva EcM seenekoosluse struktuurile kahe erineva alustaimestu tüübi puhul (liigivaene pioneerkõrrelistest koosnev alustaimestu ning mitmekesine „metsa“ alustaimestu). Eksperiment viidi läbi FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) katsealal. Imijuurte morfoloogiliste muutuste dünaamika usaldusväärsemaks kirjeldamiseks tehti mõõtmised kolme järjestikuse aasta jooksul. EcM seenekoosluse koosseis identifitseeriti molekulaarsete meetodite abil.

Antud töö tulemustest nähtub, et ennustatav õhuniiskuse suurenemine võib taimedes juuretasandil esile kutsuda märkimisväärse morfoloogilise stressireaktsiooni, mõjutades puude toitainete omastamist. Noored arukased ilmutasid suurt aklimatiseerumisvõimet, produtseerides pikemaid ja peenemaid imijuuri ning suurendades seega oma juurestike eripinda ja eripikkust. Ühtlasi võib stressitingimusi leevendada mitmekesine alustaimestu koos väljakujunenud mulla mikrobikooslusega. Õhuniiskuse tõus põhjustas EcM seenekoosluses nihke hüdrofiilsete ja üldiselt vähest juurevälist mütseeli moodustavate taksonite domineerimise suunas. Hindamaks kliimamuutuste võimalikke tagajärgi metsaökosüsteemidele tuleb lisaks puude reaktsioonide uurimisele arvesse võtta ka nende juuresümbiontide ning alustaimestu omavahelisi keerukaid interaktsioone.

Increased air humidity and understory composition shape ectomycorrhizal root traits and the colonizing fungal community in a silver birch stand – a FAHM experiment

Kaarin Parts

Summary

Climate change is predicted to bring about a rise in precipitation and air humidity at northern latitudes. We investigated the effect of increased air humidity and understory composition on ectomycorrhizal (EcM) root morphology and on the relative abundance of colonizing fungal associates in silver birch (*Betula pendula* Roth.) stands.

EcM root morphological traits of silver birch were analysed at increased air humidity (H) and ambient conditions (C) for two different understories (early-successional grasses and diverse “forest” understory) in three consecutive years (2009-2011). The fungal community was determined in 2010 using molecular methods. The study was conducted on the Free Air Humidity Manipulation (FAHM) experimental facility established in Estonia.

Silver birches responded to the rise in air humidity by forming longer and thinner roots, which can be interpreted as a stress reaction leading to an increase in the absorptive area. The response was stronger in the species-poor quarters of grasses. In 2009 (two years after misting started), SRL of EcM roots in humidified plots was 30% higher than in control; in 2010, SRL was still 15% higher. The inter- and intra-treatment variation in short root morphological parameters decreased by the third year. Using molecular methods, overall 64 EcM taxonomic units (OTUs) were distinguished. Hydrophilic fungal morphotypes dominated significantly in humidified plots, hydrophobic morphotypes in control plots.

Our results suggest that rising air humidity causes a stress response in EcM roots. Young trees show the ability to adapt to climate change with great plasticity by modifying EcM root length, diameter and SRL. Humidification leads to a shift in the fungal colonizers towards the dominance of hydrophilic taxa, which may alter ecosystem functioning.

Tänuavaldused

Täna oma juhendajaid Ivika Ostonen-Märtinit ja Krista Lõhmust, kes ohverdasid minu juhendamiseks rohkesti oma aega ning näitasid üles erakordset kannatlikkust. Ühtlasi avaldan tänu samal teemal valminud artikli kaasautoritele Leho Tedersoole, Priit Kupperile, Katrin Rosenvaldile ja Anu Sõbrale konstruktiivse kriitika eest. Suur tänu Martin Zobelile ja Ülle Jõgarile taustaandmete eest alustaimestu liigilise koosseisu kohta, Jaak Sõbrale, kes vastutab FAHM-katseala igapäevase tööshoidmise eest, ning Heljä-Sisko Helmisaarile, kes korraldas mulla keemilise koostise analüüside tegemist Soomes. Käesoleva töö teostamist finantseerisid Eesti Teadusfond uurimistoetustest nr 7792 ja 7452, Euroopa Liit Euroopa Regionaalarengu Fondi kaudu (Keskkonnamuutustele kohanemise tippkeskus (ENVIRON) – morfoloogilised analüüsid ja Bioloogilise mitmekesisuse tippkeskus (FIBIR) – seenekoosluse analüüsid) ning EV Haridus- ja Teadusministeerium projektidega SF0180025s12 ja IUT2-16.

Kasutatud kirjandus

1. Abarenkov K, Nilsson R H, Larsson K-H, Alexander I J, Eberhardt U, Erland S, Høiland K, Kjølner R, Larsson E, Pennanen T, Sen R, Taylor A F S, Tedersoo L, Ursing B M, Vrålstad, T., Liimatainen K, Peintner U, Kõljalg U (2010) The UNITE database for molecular identification of fungi – recent updates and future perspectives. *New Phytol* 186 (2): 281-285.
2. Agerer R (2001) Exploration types of ectomycorrhizae: A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza* 11: 107–114.
3. Agerer R, Taylor A F S, Treu R (1998) Effects of acid irrigation and liming on the production of fruit bodies by ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 199: 83–89.
4. Bahram M, Pölme S, Kõljalg U, Tedersoo L (2011) A single European aspen (*Populus tremula*) tree individual may potentially harbour dozens of *Cenococcum geophilum* ITS genotypes and hundreds of species of ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 75: 313-320.
5. Bakker M R, Augusto L, Achat D L (2006) Fine root distribution of trees and understory in mature stands of maritime pine (*Pinus pinaster*) on dry and humid sites. *Plant Soil* 286: 37-51.
6. Buée M, Vairelles D, Garbaye J (2005) Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus silvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15: 235–245.
7. Cheng X, Luo Y, Su B, Zhou X, Niu S, Sherry R, Weng E, Zhang Q (2010) Experimental warming and clipping altered litter carbon and nitrogen dynamics in a tallgrass prairie. *Agr Ecosyst Environ* 138 (3-4): 206-213.
8. Coleman M (2007) Spatial and temporal patterns of root distribution in developing stands of four woody crop species grown with drip irrigation and fertilization. *Plant Soil* 299: 195-213.
9. Comas L H & Eissenstat D M (2009) Patterns in root trait variation among 25 co-existing North American forest species. *New Phytologist* 182 (4): 919-928

10. Courty P-E, Buée M, Diedhiou A G, Frey-Klett P, Le Tacon F, Rineau F, Turpault M-P, Uroz S, Garbaye J (2010) The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biol Biochem* 42: 679-698.
11. Courty P-E, Pritsch K, Schloter M, Hartmann A, Garbaye J (2005) Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic tests. *New Phytol* 167: 309–319.
12. Cramer M D, Hawkins H-J, Verboom G A (2009) The importance of nutritional regulation of plant water flux. *Oecologia* 161: 15–24.
13. Cudlin P, Kieliszewska-Rokicka B, Rudawska M, Grebenc T, Alberton O, Lehto T, Bakker M R, Børja I, Konôpka B, Leski T, Kraigher H, Kuyper T W (2007) Fine roots and ectomycorrhizas as indicators of environmental change. *Plant Biosystems* 141: 406-425.
14. Deslippe J R, Hartmann M, Mohn W W, Simard S W (2011) Long-term experimental manipulation of climate alters the ectomycorrhizal community of *Betula nana* in Arctic tundra. *Glob Change Biol* 17: 1625-1636.
15. Dixon R K, Brown S, Houghton R A, Solomon A M, Trexler M C, Wisniewski J (1994) Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science* 263: 185-190.
16. Eissenstat D M and Yanai R D (1997) The ecology of root life span. *Adv Ecol Res* 27: 1-62
17. Erland S and Söderström B (1990) Effects of liming on ectomycorrhizal fungi infecting *Pinus sylvestris* L. 1. Mycorrhizal infection in limed humus in the laboratory and isolation of fungi from mycorrhizal roots. *New Phytol* 115 (4): 675-682.
18. Finér L, Ohashi M, Noguchi K, Hirano Y (2011) Factors causing variation in fine root biomass in forest ecosystems. *Forest Ecology and Management* 261: 265–277.
19. Finlay R D (2008) Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59 (5): 1115–1126.
20. Fransson P M A, Taylor A F S and Finlay R D (2005) Mycelial production, spread and root colonisation by the ectomycorrhizal fungi *Hebeloma crustuliniforme* and *Paxillus involutus* under elevated atmospheric CO₂. *Mycorrhiza* 15 (1): 25-31.

21. Frey-Klett P, Chavatte M, Clausse M L, Courrier S, Le Roux C, Raaijmakers J, Martinotti M G, Pierrat J C, Garbaye J (2005) Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist* 165: 317-328.
22. Godbold D L, Berntson G M, Bazzaz F A (1997) Growth and mycorrhizal colonization of three North American tree species under elevated atmospheric CO₂. *New Phytol* 137: 433-440.
23. Gorissen A and Kuyper Th W (2000) Fungal species-specific responses of ectomycorrhizal Scots pine (*Pinus sylvestris*) to elevated [CO₂]. *New Phytol* 146: 163-168.
24. Hansen R, Mander Ü, Soosaar K, Maddison M, Lõhmus K, Kupper P, Kanal A, Sõber J (2012) Greenhouse gas fluxes in an open air humidity manipulation experiment. *Landscape Ecol.* DOI 10.1007/s10980-012-9775-7
25. Hobbie E A (2006) Carbon allocation to ectomycorrhizal fungi correlates with belowground allocation in culture studies. *Ecology* 87: 563-569.
26. Hobbie E A and Agerer R (2010) Nitrogen isotopes in ectomycorrhizal sporocarps correspond to belowground exploration types. *Plant Soil* 327: 71–83.
27. Hobbie J E, Hobbie E A (2006) 15N in symbiotic fungi and plants estimates nitrogen and carbon flux rates in Arctic tundra. *Ecology* 87: 816–822. (viidatud Courty *et al.*, 2010 kaudu)
28. IPCC (2007) *Climate Change 2007: The Physical Science Basis* - Cambridge University Press, Cambridge.
29. Jackson R B, Canadell J, Ehleringer J R, Mooney H A, Sala O E, Schulze E D (1996) A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* 108 (3): 389-411.
30. Kipfer T, Wohlgemuth T, van der Heijden M G A, Ghazoul J, Egli S (2012) Growth Response of Drought-Stressed *Pinus sylvestris* Seedlings to Single- and Multi-Species Inoculation with Ectomycorrhizal Fungi. *PLOS ONE* 7 (4).
31. Kont A, Jaagus J, and Aunap R (2003) Climate change scenarios and the effect of sea-level rise for Estonia. *Global Planet Change* 36 (1-2): 1-15.
32. Kottke I, Oberwinkler F (1986) Mycorrhiza of forest trees – structure and function. *Trees* 1: 1-24.

33. Kupper P, Rohula G, Saksing L, Sellin A, Lõhmus K, Ostonen I, Helmisaari H-S, Sõber A (2012) Does soil nutrient availability influence night-time water flux of aspen saplings? *Environ Exp Bot* 82: 37-42.
34. Kupper P, Sõber J, Sellin A, Lõhmus K, Tullus A, Räim O, Lubenets K, Tulva I, Uri V, Zobel M, Kull O, Sõber A (2011) An experimental facility for free air humidity manipulation (FAHM) can alter water flux through deciduous tree canopy. *Environ Exp Bot* 72 (3): 432-438.
35. Kuznetsova T, Rosenvald K, Ostonen I, Helmisaari H-S, Mandre M, Lõhmus K (2010) Survival of black alder (*Alnus glutinosa* L.), silver birch (*Betula pendula* Roth.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings in a reclaimed oil shale mining area. *Ecological Engineering* 36: 495–502.
36. Leppälammil-Kujansuu J, Ostonen I, Strömberg M, Nilsson L O, Kleja D B, Sah S P, Helmisaari H-S (2013) Effects of long-term temperature and nutrient manipulation on Norway spruce fine roots and mycelia production. *Plant Soil* 366 (1-2): 287-303.
37. Leuschner C, Hertel D (2002) Fine root biomass of temperate forests in relation to soil acidity and fertility, climate, age and species. *Prog. Bot.* 64: 405-438.
38. Lilleskov E A, Hobbie E A and Horton T R (2011) Conservation of ectomycorrhizal fungi: exploring the linkages between functional and taxonomic responses to anthropogenic N deposition. *Fungal Ecology* 4: 174-183.
39. Lilleskov E A, Hobbie E A and Fahey T J (2002) Ectomycorrhizal fungal taxa differing in response to nitrogen deposition also differ in pure culture organic nitrogen use and natural abundance of nitrogen isotopes. *New Phytol* 154 (1): 219-231.
40. Lukac M, Lagomarsino A, Moscatelli M C, De Angelis P, Cotrufo M F, Godbold D L (2009) Forest soil carbon cycle under elevated CO₂ – a case of increased throughput? *Forestry* 82: 75-86.
41. Lõhmus K, Truu M, Truu J, Ostonen I, Kaar E, Vares A, Uri V, Alama S, Kanal A (2006a) Functional diversity of culturable bacterial communities in the rhizosphere in

- relation to fine-root and soil parameters in alder stands on forest, abandoned agricultural, and oil-shale mining areas. *Plant and Soil* 283: 1–10.
42. Lõhmus K, Truu J, Truu M, Kaar E, Ostonen I, Alama S, Kuznetsova T, Rosenvald K, Vares A, Uri V, and Mander Ü (2006b). Black alder as a promising deciduous species for the reclaiming of oil shale mining areas. In: Brebbia CA, Mander Ü (eds) *Brownfields III. Prevention, Assessment, Rehabilitation and Development of Brownfield Sites*, WIT Transactions on Ecology and Environment, WIT Press Southampton, Boston Vol. 94, pp. 87-97.
 43. Lõhmus K, Oja T, Lasn R (1989) Specific root area: A soil characteristic. *Plant Soil* 119: 245-249.
 44. Majdi H (2001) Changes in fine root production and longevity in relation to water and nutrient availability in a Norway spruce stand in northern Sweden. *Tree Physiology* 21:1057–1061.
 45. Makita N, Hirano Y, Yamanaka T, Yoshimura K, Kosugi Y (2012) Ectomycorrhizal-fungal colonization induces physio-morphological changes in *Quercus serrata* leaves and roots. *J Plant Nutr Soil Sc* 175: 900–906.
 46. McAfee B J and Fortin J A (1987) The influence of pH on the competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under field conditions. *Can J Forest Res* 17(8): 859-864.
 47. Ostonen I, Helmisaari H-S, Borken W, Tedersoo L, Kukumägi M, Bahram M, Lindroos A-J, Nöjd P, Uri V, Merilä P, Asi E, Lõhmus K (2011) Fine root foraging strategies in Norway spruce forests across a European climate gradient. *Global Change Biology* 17: 3620–3632.
 48. Ostonen I, Tedersoo L, Suvi T, Lõhmus K (2009) Does a fungal species drive ectomycorrhizal root traits in *Alnus* spp.? *Can J Forest Res* 39: 1787-1796.
 49. Ostonen I, Püttsepp Ü, Biel C, Alberton O, Bakker M R, Lõhmus K, Majdi H, Metcalfe D, Olsthoorn A F M, Pronk A, Vanguelova E, Weih M, Brunner I (2007a) Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems* 141 (3): 426–442.

50. Ostonen I, Lõhmus K, Helmisaari H-S, Truu J, Meel S (2007b) Fine root morphological adaptations in Scots pine, Norway spruce and silver birch along a latitudinal gradient in boreal forests. *Tree Physiology* 27: 1627-1634.
51. Ostonen I, Lõhmus K, Pajuste K (2005) Fine root biomass, production and its proportion of NPP in a fertile middle-aged Norway spruce stand: comparison of soil core and ingrowth core methods. *Forest Ecology and Management*, 212: 264–277.
52. Ostonen I & Lõhmus K (2003) Proportion of fungal mantle, cortex and stele of ectomycorrhizas in *Picea abies* (L.) Karst. in different soils and site conditions. *Plant and Soil* 257: 435–442.
53. Ostonen I, Lõhmus K and Lasn R (1999) The role of soil conditions in fine root ecomorphology in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Plant Soil* 208: 283–292.
54. Peay K G, Kennedy P G, Bruns T D (2011) Rethinking ectomycorrhizal succession: are root density and hyphal exploration types drivers of spatial and temporal zonation? *Fungal Ecology* 4: 233–240.
55. Persson H A (1983) The distribution and productivity of fine roots in boreal forests. *Plant and Soil* 1-3: 87-101.
56. Philip L J, Simard S W & Jones M D (2010) Pathways for belowground carbon transfer between paper birch and Douglas-fir seedlings. *Plant Ecology & Diversity*, in press.
57. Phillips R P and Fahey T J (2006) Tree species and mycorrhizal associations influence the magnitude of rhizosphere effects. *Ecology* 87(5): 1302–1313.
58. Pregitzer K S, DeForest J L, Burton A J, Allen M F, Ruess R W, Hendrick R L (2002) Fine root architecture of nine North American trees. *Ecological Monographs* 72(2): 293-309.
59. Richardson A E, Barea J-M, McNeill A M, Prigent-Combaret C (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321: 305-339.
60. Rosenvald K, Ostonen I, Uri V, Varik M, Tedersoo L, Lõhmus K (2013) Tree age effect on fine root and leaf morphology in a silver birch forest chronosequence. *Eur J Forest Res.* DOI 10.1007/s10342-012-0669-7

61. Rosenvald K, Ostonen I, Truu M, Truu J, Uri V, Vares A, Lõhmus K (2011a) Fine-root rhizosphere and morphological adaptations to site conditions in interaction with tree mineral nutrition in young silver birch (*Betula pendula* Roth.) stands. *Eur J Forest Res* 130 (6): 1055-1066.
62. Rosenvald K, Kuznetsova T, Lõhmus K, Ostonen I, Truu M, Truu J, Uri V (2011b) Dynamics of rhizosphere processes and soil formation in a chronosequence of silver birch stands on reclaimed oil shale post-mining areas. *Ecol Eng* 37: 1027-1034.
63. Rosenvald K, Kuznetsova T, Ostonen I, Truu M, Truu J, Uri V, Lõhmus K (2010) Rhizosphere effect and fine-root morphological adaptations in a chronosequence of silver birch stands on reclaimed oil shale post-mining areas. *Ecol Eng*, 37 (7): 1027-1034.
64. Ryser P (2006) The mysterious root length. *Plant Soil* 286: 1-6.
65. Sellin A, Tullus A, Niglas A, Õunapuu E, Karusion A, Lõhmus K (2013) Humidity-driven changes in growth rate, photosynthetic capacity, hydraulic properties and other functional traits in silver birch (*Betula pendula*). *Ecol Res*, DOI 10.1007/s11284-013-1041-1
66. Semmartin M, Aguiar M R, Distel R A, Moretto A S, Ghersa C M (2004) Litter quality and nutrient cycling affected by grazing-induced species replacements along a precipitation gradient. *OIKOS* 107 (1): 148-160.
67. Shi L, Gутtenberger M, Kottke I, Hampp R (2002) The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica*L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* 12: 303–311.
68. Silberbush M and Barber S A (1983) Sensitivity of simulated phosphorus uptake to parameters used by a mechanistic-mathematical model. *Plant Soil* 74: 93–100.
69. Simard S W and Austin, M E (2010) The role of mycorrhizas in forest soil stability with climate change. *Climate Change and Variability*, Suzanne Simard (Ed.), ISBN: 978-953-307-144-2, Sciyo, Chapter 15, pp 275-302.
70. Simard S W, Jones M D & Durall D M (2002) Carbon and nutrient fluxes within and

between mycorrhizal plants. Pages 33-61 in M. van der Heijden and I. Sanders, eds. Mycorrhizal Ecology. Springer-Verlag, Heidelberg. Ecological Studies, Vol. 157.

71. Stenström E (1991) The effects of flooding on the formation of ectomycorrhizae in *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant Soil* 131: 247-250.
72. Sun Y, Gu J-C, Zhuang H-F, Wang Z-Q (2010) Effects of ectomycorrhizal colonization and nitrogen fertilization on morphology of root tips in a *Larix gmelinii* plantation in northeastern China. *Ecol Res* 25: 295-302.
73. Zobel R W, Kinraide T B, Baligar V C (2007) Fine root diameters can change in response to changes in nutrient concentrations. *Plant and Soil* 297: 243-254.
74. Tedersoo L, Naadel T, Bahram M, Pritsch K, Buegger F, Leal M, Kõljalg U, Põldmaa K (2012) Enzymatic activities and stable isotope patterns of ectomycorrhizal fungi in relation to phylogeny and exploration types in an afro-tropical rain forest. *New Phytol* 195: 832–843.
75. Tedersoo L, Sadam A, Zambrano M, Valencia R, Bahram M (2010) Low diversity and high host preference of ectomycorrhizal fungi in Western Amazonia, a neo-tropical biodiversity hotspot. *ISME Journal* 4: 465–471.
76. Tedersoo L, Kõljalg U, Hallenberg N, Larsson K-H (2003) Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytol* 159: 153–165.
77. ter Braak CJF, Šmilauer P (2002) CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA. Available at: <http://www.pri.wur.nl/uk/products/canoco/> (accessed 31 March 2011).
78. Thomson B D, Grove T S, Malajczuk N, Hardy G E St J (1994) The effectiveness of ectomycorrhizal fungi in increasing the growth of *Eucalyptus globules* Labill. in relation to root colonization and hyphal development in soil. *New Phytol* 126: 517-524.

79. Unestam T and Sun Y-P (1995) Extramatrical structures of hydrophobic and hydrophilic ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5: 301-311.
80. Uri V, Varik M, Aosaar J, Kanal A, Kukumägi M, Lõhmus K (2012) Biomass production and carbon sequestration in a fertile silver birch (*Betula pendula* Roth) forest chronosequence. *Forest Ecology and Management* 267: 117–126.
81. Uri V, Lõhmus K, Kund M, Tullus H (2008) The effect of land use type on net nitrogen mineralization on abandoned agricultural land: Silver birch stand versus grassland. *Forest Ecology and Management* 255: 226–233.
82. Uri V, Lõhmus K, Ostonen I, Tullus H, Lastik R, Vildo M (2007) Biomass production, foliar and root characteristics and nutrient accumulation in young silver birch (*Betula pendula* Roth.) stand growing on abandoned agricultural land. *European Journal of Forest Research*, 126: 495-506.
83. Wagg C, Jansa J, Stadler M, Schmid B, van der Heijden M G A (2011) Mycorrhizal fungal identity and diversity relaxes plant-plant competition. *Ecology* 92 (6): 1303-1313.
84. Wallander H, Ekblad A, Godbold D L, Johnson D, Bahr A, Baldrian P, Björk R G, Kieliszewska-Rokicka B, Kjølter R, Kraigher H, Plassard C, Rudawska M (2012) Evaluation of methods to estimate production, biomass and turnover of ectomycorrhizal mycelium in forests soils - A review. *Soil Biology & Biochemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.08.027>
85. Withington J M, Reich P B, Oleksyn J, Eissenstat D M (2006) Comparisons of structure and life span in roots and leaves among temperate trees. *Ecological Monographs* 76: 381–397.

Käsikirjad:

1. Ostonen I (1997) Hariliku kuuse imijuurte ökomorfoloogia. Magistritöö. TÜ, Botaanika ja Ökoloogia Instituut, ökofüsioloogia õppetool. Tartu. 76 lk.

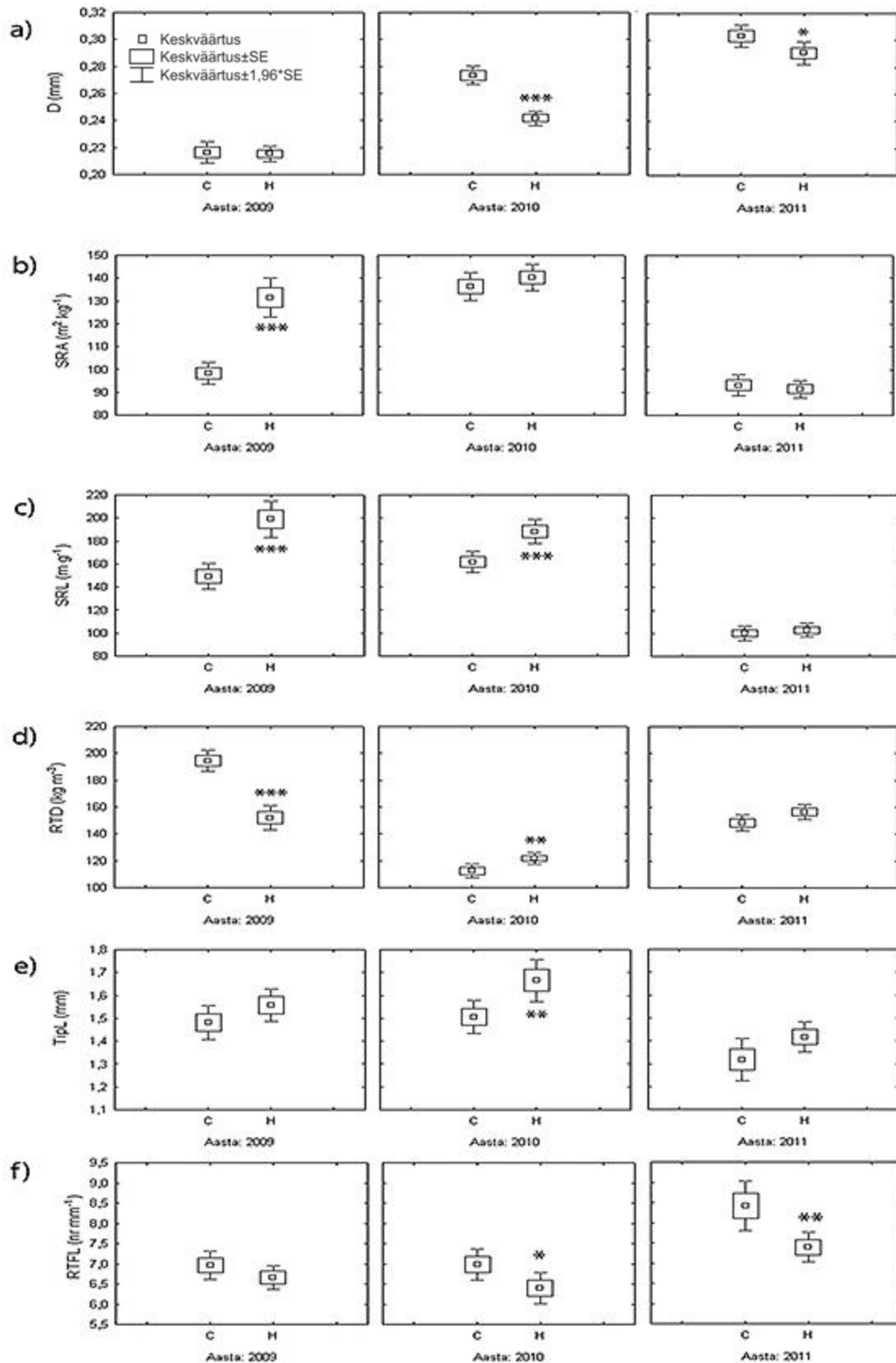
LISAD

Lisa 1. Kolme katseaasta (2009-2011) kõigi vegetatsiooniperioodi kuude keskmised ilmastikunäitajate väärtused: võravesi (TF; mm), mulla veepotentsiaal 15 cm sügavusel (SWP – *soil water potential*; kPa), mulla temperatuur 15 cm sügavusel (ST – *soil temperature*; °C), õhu temperatuur (AT – *air temperature*; °C) ja suhteline õhuniiskus (RH – *relative humidity*; %); C – kontroll, H – niisutus.

	2009 Mai		Juuni		Juuli		August		September		Oktoober	
	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
TF	14,4	23,7	107,0	105,0	71,4	97,4	35,2	42,5	56,5	63,8	70,8	67,7
SWP	-30,0	-9,8	-20,5	-12,0	-85,9	-12,0	-206,2	-3,8	-137,1	-5,7	-15,0	-1,5
ST	9,1	9,5	12,1	13,0	15,3	15,7	14,9	15,4	13,2	13,4	7,1	7,0
AT	11,5	11,2	14,1	14,0	17,0	16,6	15,2	14,7	12,7	12,2	4,0	3,8
RH	67,0	68,4	78,6	78,9	82,1	83,7	83,3	84,6	86,1	88,2	90,7	91,3
	2010 Mai		Juuni		Juuli		August		September		Oktoober	
	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
TF	38,0	45,0	93,7	85,1	33,4	25,6	103,4	104,8	93,9	108,0	41,5	41,4
SWP	-8,9	-13,6	-21,9	-36,0	-168,9	-132,4	-147,5	-97,0	-14,2	-17,2	-3,4	-12,6
ST	10,6	11,4	13,0	13,7	17,7	18,5	17,7	17,7	12,5	12,2	6,9	6,5
AT	12,5	12,5	14,8	14,9	22,1	21,7	18,2	17,9	10,9	10,7	3,9	3,8
RH	76,0	77,3	77,0	77,1	73,7	75,7	81,6	84,1	86,8	88,9	85,7	86,2
	2011 Mai		Juuni		Juuli		August		September		Oktoober	
	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
TF	39,2	38,0	28,3	24,6	17,7	15,3	38,6	37,9	32,8	29,5	42,9	45,8
SWP	-13,2	-20,8	-137,4	-104,1	-212,2	-154,4	-185,3	-185,6	-180,4	-189,5	-59,2	-92,8
ST	9,8	9,8	14,1	14,5	17,2	17,4	16,0	15,9	13,1	13,1	8,6	8,6
AT	11,2	11,4	17,3	17,1	20,7	20,4	16,7	16,3	12,4	12,4	7,0	6,9
RH	69,2	69,6	73,4	75,4	77,7	80,5	79,7	82,3	85,7	87,2	86,5	87,1

Lisa 2. Õhuniisutuse mõju imijuurte morfoloogilistele parameetritele kolme katseaasta jooksul.

Joonistel on näidatud aritmeetiline keskmine, selle viga ja 95%-lised usalduspiirid; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kaarin Parts,

(sünnikuupäev: 20.03.1988)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Niiskem õhk ja alustaimestu koosseis mõjutavad arukase ektomükoriisid – FAHMi tulemused“,

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 alates **31.04.2014** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 23.05.2013