

EMÜ Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Cätlin Kinz-Kiens

**FOTOSÜNTEESI KIIRUSE JA VEE KASUTAMISE EFEKTIIVSUSE
MUUTUMINE *TAPHRINA* PEREKONNA SEENEGA NAKATUNUD
ARUKASKEDEL**

PHOTOSYNTHETIC CAPACITY AND WATER USE EFFICIENCY
DEPENDING ON *TAPHRINA* FUNGI INFECTION IN *BETULA PENDULA*

Bakalaureusetöö

Põllumajandussaaduste tootmise ja turustamise erialal

Juhendajad: dotsent Tiina Tosens, PhD
nooremteadur Liisa Kübarsepp, MSc

Tartu 2016

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Cätlin Kinz-Kiens		Õppekava: Põllumajandussaaduste tootmine ja turustamine	
Pealkiri: Fotosünteesi kiiruse ja vee kasutamise efektiivsuse muutumine <i>Taphrina</i> perekonna seenega nakatunud arukaskedel			
Lehekülgi: 33	Jooniseid: 5	Tabeleid: -	Lisasid: -
Osakond: Taimefüsioloogia osakond Uurimisvaldkond: Seenhaiguse mõju kase füsioloogiale Juhendajad: Tiina Tosens, PhD; Liisa Kübarsepp, MSc Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu 2016			
<p>Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli uurida tuulepesasid põhjustava <i>Taphrina</i> perekonna seene mõju arukaskedele (<i>Betula pendula</i>). Kuna kliima on muutumas aina soojemaks ja niiskemaks ning selline keskkond on soodne seenhaigustele, siis on oluline uurida nende mõju peremeestaimedele. Antud patogeeni mõju arukase füsioloogiale ja anatoomiale uuritakse Eestis esimest korda ning seega on tegemist uute ja oluliste teadmistega seenhaiguste mõju kohta.</p> <p>Töös kasutatud tuulepesad saadi 2015. aasta suvel Tartust ning seejärel teostati gaasivahetuse mõõtmised nii tuulepesadel kui ka kontrollvariantidel. Mõõdeti fotosünteesi kiirust (A_n) ja õhulõhede juhtivust (g_s) ning nende põhjal arvutati ka vee kasutamise efektiivsus (WUE). Lisaks mõõdeti nii lehe- kui ka mesofüllil paksust ning määrati klorofüllil sisaldused.</p> <p>Tulemusteks saadi, et seenega nakatunud võrsete lehtedes oli fotosünteesi kiirus $3,78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ja kontrollvõrsete lehtedes keskmiselt $6,51 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Kuna mesofüllil paksus ja klorofüllil sisaldus on tuulepesa lehtedes statistiliselt olulisel määral väiksem, siis sellest võib järeldada, et tuulepesaga nakatunud võrsetel on lehtede struktuur muutunud ja seetõttu on ka nende fotosüntees oluliselt vähenenud. Sama puu teistel võrsetel aga on fotosüntees häirimata arvestades, et fotosünteesi väärtused sarnanevad normaalsete kaskedega tehtud uurimuste tulemustele (Kubiske, Pregitzer, 1996).</p> <p>Nakatamata võrsete vee kasutamise efektiivsus antud katses oli keskmiselt $107,71 \mu\text{mol/mol}$. Kellomäki ja Wang (2001) on katses kasega leidnud kontrolltaime vee kasutamise efektiivsuseks $121 \mu\text{mol/mol}$. Kuna tuulepesalehtede vee kasutamise efektiivsus on keskmiselt $66,97 \mu\text{mol/mol}$, siis võib järeldada, et <i>Taphrina</i> seen mõjutab kaskede vee kasutust negatiivselt.</p>			
Märksõnad: kask, fotosüntees, WUE, <i>Taphrina</i>			

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Cätlin Kinz-Kiens		Speciality: Production and Marketing of Agricultural Products	
Title: Photosynthetic Capacity and Water Use Efficiency Depending on <i>Taphrina</i> Fungi Infection in <i>Betula pendula</i>			
Pages: 33	Figures: 5	Tables: -	Appendixes: -
Department: Department of Plant Physiology Field of research: The impact of fungal disease to birch physiology Supervisors: Tiina Tosens, PhD; Liisa Kübarsepp, MSc Place and date: Tartu 2016			
<p>The aim of current Bachelor's thesis was to study the impact of fungi <i>Taphrina</i> that causes witches' brooms in silver birch (<i>Betula pendula</i>). Future climate conditions in Estonia are increasingly favourable for the spread of fungal diseases as the temperature and precipitation are both predicted to rise. Therefore, it is important to analyse the impact of the possible threats beforehand. While this topic is researched for the first time in Estonia, this knowledge on the impact of <i>Taphrina</i> infection on silver birch physiology and anatomy is new.</p> <p>Witches' brooms were collected in summer 2015 from Tartu. Then gas exchange measurements with infected and control leaves were carried out. The photosynthetic capacity (A_n) and stomatal conductance (g_s) were measured and based on these the water use efficiency (WUE) was calculated. In addition, leaf and mesophyll thickness was measured on microscopy photos. Also chlorophyll content of leaves was measured.</p> <p>Current study shows that photosynthetic capacity in infected and normal leaves was significantly different. Mean rate of photosynthesis in control leaves was $6.51 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and in infected leaves $3.78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Control results are similar to earlier results on shade leaves (Kubiske, Pregitzer, 1996). Furthermore, leaf mesophyll thickness and chlorophyll content were also significantly smaller. Therefore, the decreased photosynthetic capacity of infected leaves' is mainly caused by changes in leaf structure.</p> <p>The mean water use efficiency in uninfected leaves is $107.71 \mu\text{mol/mol}$. Kellomäki and Wang (2001) have previously reported $121 \mu\text{mol/mol}$ for silver birch. The infected leaves' mean water use efficiency is $66.97 \mu\text{mol/mol}$, which implies to reduced water use efficiency due to <i>Taphrina</i> infection in birch.</p>			
Keywords: birch, photosynthesis, WUE, <i>Taphrina</i>			

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	7
1.1 Fotosüntees	7
1.2 Lehtede vee kasutamise efektiivsus	8
1.2.1. Lühiajaline	8
1.2.2. Pikaajaline	9
1.3 Puistu produktiivsuse sõltuvus fotosünteesist ja vee kasutamisest.....	9
1.4 Mesofüllli struktuuri mõju fotosünteesi kiirusele.....	10
1.5 Metsapuude seenhaigused Eestis	11
1.5.1. Tuulepesa seen	12
1.6 Seenhaiguste leviku prognoos sõltuvalt kliima muutuste kontekstis.....	12
2. TÖÖ MATERJAL JA METOODIKA	15
2.1 Taimne materjal	15
2.2 Gaasivahetuse mõõtmised	15
2.2.1 Vee kasutamise efektiivsuse arvutamine	16
2.3 Anatoomia	16
2.3.1 Lehtede fikseerimine ja vaiku viimine	16
2.3.2 Anatoomia mõõtmised	17
2.4. Klorofüllli määramine	17
2.5 Andmete analüüs.....	17
3. TULEMUSED	18
4. ARUTELU.....	23
KOKKUVÕTE	26
KASUTATUD KIRJANDUS	27
Summary	32

SISSEJUHATUS

Kask (*Betula*) on hinnatud puu nii mööbli-, vineeri- kui ka paljudes teistes tööstustes (Spanos, Woodward, 1994). Aina suurenevaks probleemiks tänapäeval peetakse erinevate haigustekitajate poolt põhjustatud saagikadusid. Samuti on kaskedel omad haiguste põhjustajad, mis tekitavad muret metsaomanikele ja metsatööstusfirmadele. Üheks haigustekitajaks arukasel (*Betula pendula*) on seen perekonnast *Taphrina*. See põhjustab rahvakeeli tuntud „nõialuudasid“ või „tuulepesasid“.

Seenega *Taphrina* nakatumise järel muutub puu areng. Põhiliseks muutuseks on puu kasvu vähenemine, millest tuleneb ka majanduslik kadu ettevõtjatele. Lisaks väheneb taime elujõud ning võrsete kvaliteet. (Spanos, Woodward, 1994)

Kuna teemat uuritakse Eestis esmakordselt, siis võrreldavaid andmeid pole. Sarnaseid uurimusi on tehtud näiteks Šotimaal sookasega (*Betula pubescens*) (Spanos, Woodward, 1994) ja Leedus on uuritud üldiselt erinevate seente põhjustatud haigusi arukasel (Bagdžiūnaitė, 2006).

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli uurida seenega *Taphrina* nakatunud ja normaalseid arukase lehti. Uurimuse jaoks vajalik materjal saadi 2015. aasta suvel Tartust ning mõõtmised teostati Eesti Maaülikooli laborites. Mõõdeti fotosünteesi kiirust (A_n) ja õhulõhede juhtivust (g_s) ning nende põhjal arvutati ka vee kasutamise efektiivsus (WUE). Lisaks võrreldi nende parameetrite muutumist normaalsetel ja nakatunud puudel. Uurimuse teema olulisus seisneb nakatunud ja normaalsete võrsete vaheliste erinevuste kindlakstegemisel. Kuna selliseid uurimusi pole varem Eestis korraldatud, siis tegemist on uute teadmistega, mida saab kindlasti edasi uurida. Edasisteks uurimisteedeks võiks olla seenhaiguse levik, vältimine ja tõrje ning seenhaiguste mõju majanduslikele näitajatele. Laiemalt on teema oluline kõigi jaoks, kes tegelevad kaskede kasvatamisega, metsandusega või puidutööstusega, kuna nakatunud taim ei kasva normaalselt ja sellest võib tuleneda rahaline kaotus ettevõtjale.

Uurimuse hüpoteesiks püstitas autor: *Taphrina* perekonna seen mõjutab arukaskede fotosünteesi kiirust ja vee kasutamise efektiivsust negatiivselt.

Antud töö algab sissejuhatava osaga ning sellele järgneb neli suuremat peatükki. Esimeses peatükis antakse kirjanduslik ülevaade taime füsioloogia kohta ning tutvustatakse metsapuude seenhaigusi Eestis. Teises osas kirjeldatakse kogutud materjale ning kasutatud meetodikat. Kolmas osa annab ülevaate katse tulemustest ning neid illustreerivad joonised. Viimases osas arutletakse tulemuste üle ning võrreldakse neid juba varasemate uurimustega.

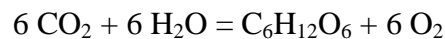
Töö autor soovib tänada oma juhendajaid Tiina Tosensit ja Liisa Kübarseppa osutatud igakülgse abi eest juhendamisel.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Fotosüntees

Fotosünteesi näol on tegemist protsessiga, mille käigus taimed, kuid ka osad vetikad ning bakterid, muudavad valgusenergia keemiliseks energiaks. Fotosünteesi toimumiseks on taimel vaja lisaks valgusenergiale ka klorofüllil ning anorgaanilisi aineid nagu vesi ja süsihappegaas. Lõpp-produktiks on süsivesikud (glükoos, fruktoos ja tärklis) ja kõrvalproduktiks on hapnik. Toodetud süsivesikuid kasutab taim enda elutegevuseks ja hingamiseks. (Miidla, 1984)

Fotosünteesi keemiliseks valemiks on:



Klorofüll on algatavaks lülits valgusenergia muundamisel keemiliseks energiaks ning see asub fotosünteesivates raku organellides - kloroplastides. Klorofüllil peamiseks ülesandeks on päikeseenergia neelamine ja sellest saadud energia edasi kandmine, et käivitada fotosüntees. (Prasad, 1997)

Fotosünteesi käigus toimuvaid reaktsioone saab jaotada kaheks: valgusstaadium ja pimedusstaadium. Valgusstaadium saab toimuda vaid valguse käes. Kõigepealt toimub valgusenergia neeldumine ja siis selle muutumine keemiliseks energiaks. Lõpp produktiks on ühendid ATP ja NADPH. (Hopkins, Hüner, 2009) Pimedusstaadiumi moodustavad reaktsioonid, mis on seotud CO₂ assimilatsiooniga. Reaktsioonid selles staadiumis toimuvad kloroplasti sisemuses ja moodustavad Calvini tsükli, mille lõpp-produktiks on glükoos. (Lambers *et al.*, 2006)

1.2 Lehtede vee kasutamise efektiivsus

Vee kasutamise efektiivsus on muutunud tähtsaks teemaks just väheviljakates ja kuivades kohtades, kus tuleb saagi saamiseks kulutada palju energiat ja ressursse.

Vee kasutamise efektiivsusel (WUE-*Water Use Efficiency*) ei ole ühtset selgitust ning see oleneb rohkem kontekstist, milles seda kasutatakse (Bacon, 2004).

Vee kasutamise efektiivsust saab selgitada kahel viisil. Esiteks näitab see vee hulka, mis kulub taime biomassi tootmiseks (pikaajaline). Vee kadu võib tähendada kas ainult vee aurumist taimedest või sisaldada ka aurustumist mullast. Teise variandina saab vee kasutamise efektiivsust tõlgendada kui vee hulka, mis kulub CO₂ sidumiseks fotosünteesi jaoks (lühiajaline). Viimane tähendab süsiniku juurdekasvu suhet vastavasse veekaosse. (Lambers, *et al.*, 2006) Taime vee kasutamise efektiivsust mõjutavad keskkonnafaktorid nagu niiskus, päikesevalgus ja temperatuur (Hou *et al.*, 2007). Lisaks võib seda mõjutada ka muutuv CO₂ kontsentratsioon, mulla tüüp ja struktuur, mulla niiskuse ja toitainete sisaldus ja taime geneetika. Vee kasutamise efektiivsus sõltub peamiselt fotosünteesist, kuid ka taime morfoloogilistest tunnustest nagu lehe suurus ja paiknemine, võra struktuur ja taimede tihedus. (Loka *et al.*, 2011) Tavaliselt mõõdetakse WUE lehe tasandil, sest teisaldatav seade lehe gaasivahetuse mõõtmiseks võimaldab üheaegselt mõõta nii fotosünteesi kui ka vee aurumist lehest (Medrano *et al.*, 2015).

1.2.1. Lühiajaline

Selleks, et CO₂ sissevool taime saaks toimuda peavad õhulõhed olema avatud. Samal ajal pääseb aga avatud õhulõhedest välja ka vesi ja kui taim üritab vältida veekadu, siis väheneb ka CO₂ sissevool. CO₂ sissevoolu ja aurumise suhet nimetataksegi fotosünteesi vee kasutamise efektiivsuseks (WUE_{ph}). (Larcher 2003)

Fotosünteesi vee kasutamise efektiivsust mõjutavad kliimaatilised tingimused. Varajastel hommikutundidel kui väljas on niiske ja samas piisavalt valge, et fotosüntees saaks toimuda, siis on WUE_{ph} maksimumis. Päeva jooksul kui toimub temperatuuride tõus ja õhk

kuivab, siis fotosünteesi vee kasutamine efektiivsus langeb. Samuti vähendab stress fotosünteesi vee kasutamise efektiivsust. (Larcher, 2003)

Fotosünteesi vee kasutamise efektiivsust arvutatakse järgneva valemiga:

$$WUE_{ph} = \text{fotosüntees } (\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}) / \text{transpiratsioon } (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})$$

1.2.2. Pikaajaline

Ökoloogilistel, põllumajanduslikel ja metsanduslikel eesmärkidel on kuivmassi juurdekasvu ja kulutatud vee hulk kogu kasvuaja kohta informatiivsem kui ajutine gaasivahetuse suhe kasutatud vee kohta. Sellist suhet nimetatakse produktsiooni vee kasutamise efektiivsuseks (WUE_p). See näitab kuivmassi juurdekasvu ja vee kasutamist pikema aja jooksul: nädalast kuni kogu taime kasvuperioodi lõpuni. (Larcher, 2003)

Produktsiooni vee kasutamise efektiivsust arvutatakse järgneva valemiga:

$$WUE_p = \text{kuivmassi juurdekasv } (\text{g DM kg}^{-1}) / \text{kasutatud vee hulk}$$

1.3 Puistu produktiivsuse sõltuvus fotosünteesist ja vee kasutamisest

Puistu produktsiooni all mõeldakse biomassi juurdekasvu ajaühikus. Puude kasvu mõjutavad tugevasti välised mõjurid nagu valgus, vesi, CO_2 , toitained ja kliima. Samas on väga oluline roll ka sisemistel mõjuritel. (Thomas, 2000)

Veedefitsiidi korral häirub toitainete omastamine ja õhulõhed sulguvad. Seetõttu väheneb CO_2 sissevool ning puude juurdekasv väheneb. Pikemaajalise põua tõttu võivad hukkuda väiksemad juured ja mükoriisa ning see võib vähendada puude juurdekasvu ka järgnevatel aastatel. Puistu juurdekasv väheneb ka liigniiskuse korral, kuna sel juhul tõrjutakse välja vaba mullahapnik. Hapnikupuuduse tõttu aeglustub mullas juurte tegevus ja see omakorda põhjustab transpiratsiooni langust. (Laas *et al.*, 2011)

Looduses toimub pidev süsinikuringe. Fotosünteesi käigus seotakse CO_2 ning see talletatakse puidus, vabaneb hapnik. Puidu lagunemisel ja põletamisel vabaneb sama kogus

CO₂ atmosfääri ja tekib süsiniku ringlus. Selleks et hoida süsinik seotuna ja vähendada selle hulka atmosfääris, tuleb ringlus katkestada. (Keskkonnaagentuur, 2016) Selleks võiks puitu kasutada näiteks ehitusmaterjalina või mööblitööstuses, et pikendada puidu loomulikku lagunemist (Riistop, 2002).

Süsiniku kontsentratsiooni tõus atmosfääris kiirendab puude kasvu ja süsiniku akumulierimist puude biomassis, kuid mitte lõputult, kuna valguse (energia) hulk jääb samaks ja see piirab taimede kasvu (Tullus, 2011).

1.4 Mesofüllü struktuuri mõju fotosünteesi kiirusele

Mesofüll on taime peamine fotosünteesiv struktuur, kuna see moodustub kloroplaste sisaldavatest rakkudest, mis omakorda sisaldavad klorofüllü. C3 taimedel eristatakse mesofüllis sammaskude ehk palissaadkude ja kobekude ehk tohkkude. Sannaskoe rakud on kujult piklikud ja paiknevad tihedalt üksteise kõrval ning on risti lehe pinnaga. Kobekoe rakkude kuju ja asetus on vähem korrapärasem ning nende vahel on märgata suuremaid tühimikke – rakuvaheruumi. (Rudall, 2007)

Fotosünteesi kiirust mõjutab suurel määral mesofüllü juhtivus(g_m) ja teatud tingimustes võib see kujuneda peamiseks mõjutajaks. Anatoomilised tunnused nagu rakuseina paksus ja kloroplastide jaotus mõjutavad mesofüllü juhtivust. Kuna praeguseks on teada üle 100 erineva taimeliigi tulemused mesofüllü juhtivuse kohta, siis saab sellest teha ka järeldusi. Keskmise g_m väärtus on suurem evolutsiooniliselt arenenumatel liikidel. Suurim väärtus on leitud puitumata katteseemnetaimedelt ning väiksemad väärtused on helviksammataimedelt ja kõdersammataimedelt. Viimastel õhulõhede juhtivus on nullilähedane, kuna neil taimedel on vähe õhulõhesid ja CO₂ peab difundeerima läbi kutiikula ja epidermise, mis ei ole gaasidele väga hästi läbitavad. (Flexas *et al.*, 2012)

Rakuvaheruumide hulk kasvab lehe arengu käigus, kuni on saavutanud suurima ruumala ja seejärel hakkab uuesti vähenema. Rakuvaheruumide hulk on tähtis, kuna sealt transporditakse CO₂ õhulõhedest fotosünteesivate rakkude pinnale ja edasi kloroplastidesse. Samuti on oluline fotosünteesi jaoks lehe mesofüllü rakkude pindala, sest

selle kaudu toimub CO₂ molekulide sisenemine rakkudesse ja valguskvantide püüdmine. (Dengler *et al.*, 1975)

Lisaks mesofüllil CO₂ juhtivusele (g_m) mõjutab lehtede gaasivahetuse kiirust õhulõhede juhtivus (g_s). Õhulõhede juhtivust väljendatakse enamasti $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ kohta ning see sõltub nende tihedusest, arvust ja kujust (Franks, Beerling, 2009). Õhulõhede juhtivus suureneb lehe arenedes kuni on saavutanud maksimumi, edaspidi juhtivus hakkab vähenema (Miyazawa, Terashima 2001).

Zhenzhu, Guangsheng (2008) leidsid, et õhulõhede suurus väheneb, kui taim ei saa piisavalt vett ehk on stressis. Tihedus oli positiivses korrelatsioonis juhtivusega, fotosünteesi kiirusega ja vee kasutamise efektiivsusega. See tähendab, et mida tihedamalt oli õhulõhesid, seda parem oli juhtivus, kiirem fotosüntees ja efektiivsem vee kasutamine.

1.5 Metsapuude seenhaigused Eestis

Puude ja põõsaste haigusi põhjustavad enamikel juhtudel seened. Enamlevinumaks seenhaiguseks on Eestis leitud kuuse-juurepess (*Heterobasidion parviporum*) ja männi-juurepess (*Heterobasidion annosum*) (Erametsakeskus, 2015). Kuuse-juurepess kahjustab igas vanuses okaspuid ja noori männitaimi. Männi-juurepess kahjustab mändi, kadakat, kuuski ning mitmeid lehtpuuliike, seal hulgas ka kaski (Hanso, S., Hanso, M., 1999).

Teiseks väga ohtlikuks seenhaiguseks on peetud saaresurma (*Hymenoscyphus pseudoalbidus*). Saaresurm on seenhaigus, mis põhjustab hariliku saare (*Fraxinus exelcior*) ja ahtalehelise saare (*Fraxinus angustifolia*) laiaulatuslikku suremist Euroopas. Seda haigust põhjustab seen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. (Gross *et al.*, 2014)

Lisaks esineb Eesti metsades veel punavöötaud, mida põhjustab seen *Mycosphaerella pini*. Üheks kõige tavapärasemaks seenhaiguseks on haavataelik (*Phellinus tremulae*). See seen põhjustab perekonnas *Populus* südamemädanikku. (Erametsakeskus, 2015)

1.5.1. Tuulepesa seen

Taphrina betulina on seen, mis põhjustab nii arukaskedel (*Betula pendula*) kui ka sookaskedel (*Betula pubescens*) tuulepesasid. Tuulepesad näevad välja kui kogumik võrseid, mis kasvavad tihedalt üksteise kõrval. Lehed on väiksed ja võivad muutuda kollaseks. Kuna tegemist on kottseenega (*Ascomycota*), siis paljunemine toimub eoskottides, kus moodustuvad kotteosed, mis pärast valmimist paisatakse välja ja võib alguse saada uue mütseeli teke. Seen jääb aastaringselt võrsetesse. (Phillips, Burdekin, 1992)

Tuulepesa seent on leitud veel ka Leedust, Suurbritanniast, Saksamaalt, Poolast, Rootsist, Norrast jne. Peamiselt on tegemist Põhja-Euroopaga, kuid lisaks on andmeid ka Jaapanist ning Uus-Meremaalt. (Discover Life, 2016)

Seeneperekond *Taphrina* põhjustab ka virsikupuudel (*Prunus persica*) lehtede tõsist haigust (*Taphrina deformans*), mis moonutab taime lehti ning viib oluliste saagikadudeni (Cissé *et al.*, 2013). Lisaks ka Eestis levinud ploomi-kotttõbi (*Taphrina pruni*) on sama seeneperekonna poolt põhjustatud haigus. Jaapanis laialt levinud kirsipuu (*Cerasus Mill.*) liigi *Cerasus X yedoensis* haigustekitajaks on *Taphrina wiesneri*, mis põhjustab nõialuudsust kirsipuudel (Komatsu *et al.*, 2010).

Tuulepesad võivad olla põhjustatud ka mõne muu seeneliigi, viiruse või fütoplasma poolt. Kõik need patogeenid muudavad taime kasvu ebanormaalseks, samas pole kõik tuulepesad põhjustatud patogeenide poolt. Näiteks osad võivad olla põhjustatud mutatsioonidest pungas. Lisaks härmatis (külmumine), põud või loomade poolt põhjustatud korduvad kahjustused võrsete tippudele võivad soodustada tuulepesade teket. (George, Fox, 2014)

1.6 Seenhaiguste leviku prognoos sõltuvalt kliima muutuste kontekstis

Kliimamuutused on üks prioriteetsemaid valdkondi maailmas. Euroopa keskmine temperatuur on viimase saja aasta jooksul tõusnud pea 1° C võrra. Maakera kliima muutmiseks piisabki vaid mõnest kraadist. Kõige ohustatumad on arengumaad, kus kannatatakse juba praegugi toidu- ja veepuuduse all. Eesti jaoks tähendab kliimamuutus

aga keskmiste temperatuuride tõusu, sademete hulga suurenemist ja üleujutuste ohtu. Temperatuuri tõusuga kaasnevad muutused taimekasvus, võõrliikide, sealhulgas uute taimekahjurite ja haigustekitajate tulek. (Keskkonnaagentuur, 2014)

Juba 1° C ulatuva keskmise õhutemperatuuri tõus on metsapatoloogias ohtlik. Kui seni on madal talvine keskmine temperatuur olnud takistuseks mõne lõunapoolse patogeeni invasioonil Eestisse, siis nüüdseks enam takistusi pole ja invasioon on vältimatu. Oletatakse, et punavöötaud (*Mycosphaerella pini*, anamorf *Dothistroma septosporum*), saaresurm (*Hymenoscyphus pseudoalbidus*, anamorf *Chalara fraxinea*), elupuu-pudetõbi (*Didymascella thujina*), *Prosthemia betulinum* kaskedel, *Viscum album* vahtral jt on saanud Eestisse kliimamuutuste tõttu või olnud vähemalt mõjutatud sellest. (Hanso, Drenkhan, 2013)

Kõrgemad keskmised talvised õhutemperatuurid soodustavad seeneeoste levikut. Juuremädanike peamiseks tekitajateks on seened perekondadest juurepess (*Heterobasidion spp.*) ja külmaseen (*Armillaria spp.*). Juuremädanikud põhjustavad väga suuri kahjustusi ja Euroopas on kahjuks hinnanguliselt 800 miljonit eurot aastas. (Drenkhan *et al.*, 2014)

Sturrock *et al.* (2011) on arvamisel, et kliimamuutused mõjutavad metsapuude ja haigustekitajate vastastikuseid suhteid. Näiteks kui kliima muutub soojemaks ja kuivemaks, siis haiguste, mis on põhjustatud kliima poolt otseselt mõjutatud patogeeni poolt, osatähtsus väheneb või jääb samaks. Kui kliima muutub soojemaks ja niiskemaks, siis haiguste levik on suurem, kuna patogeeni elutsüklil on otseselt temperatuurist ja niiskusest. Kliima poolt kaudselt mõjutatud patogeeni põhjustatud haiguste levik suureneb, kui kliima muutub soojemaks ja kuivemaks, sest haigustekitajad põhjustavad stressis taimel infektsioone. Samas kui tingimused muutuvad soojemaks ja niiskemaks, siis haiguste hulk väheneb või jääb muutumatuks.

BioClim projekti jaoks koostatud aruandes (Tullus *et al.*, 2015) on välja toodud võimalikud metsahaiguste mõjud kliimamuutuste kontekstist lähtuvalt. Negatiivsete või teadmata suunaga mõjudest aastani 2030 on välja toodud: keskmise õhutemperatuuri suurenemine (ka talvel), keskmiste sademete hulga suurenemine suvel, tormide sagedasemine, kõrgemad maksimaalsed temperatuurid, põuaste suvede sagedasemine ning ekstreemselt madala temperatuuri esinemise võimalikkus. Seenpatogeeni koha pealt on mainitud, et

negatiivne mõju ei pruugi veel avalduda, kuna ilmastik on pigem sarnane senisele ja majanduslik kahju võib ilmnedagi hiljem. Aastatel 2021-2050 suureneb prognoosi kohaselt keskmine õhutemperatuur ning sellest lähtuvalt kasvab ka invasiivsete haigustekitajate hulk ning üldine haigustekitajate mõju suureneb.

Kokkuvõtteks võib öelda, et nii põllukultuurid, igihaljad taimed kui ka puud kannatavad kliimamuutuste tagajärjel. Kliima seisund, mis annab eelise patogeenidele, võib tekitada olukorra, kus taimed on vastuvõtlikumad haigustele. Kliimamuutused võivad taime mõjutada erinevalt, alustades geenidest kuni populatsioonini ja ökosüsteemist kuni taime levikualadeni. Kliimamuutustel on suur mõju suhtele taim-patogeen ja lähimatel aastatel saab sellest ilmselt üks suurimaid väljakutseid, et hoida ökoloogilist tasakaalu. (La Porta *et al.*, 2008)

2. TÖÖ MATERJAL JA METOODIKA

2.1 Taimne materjal

Katses kasutatud tuulepesadest kaks saadi Tartust Tähtvere pargist (5823'11''N; 2642'2''E) ning kolmteist Anne Looduskaitsealalt (5821'50''N; 2647'19''E). Taimse materjali kasutamiseks oli saadud eelnevalt luba maavaldaja käest. Vastavalt igale tuulepesale võeti ka kontrollloks sama puu küljest. Kuna kaks tuulepesa paari asusid samal puul, siis kummalegi neile võeti üks kontrollloks. Keskmiselt asusid tuulepesad 7,2 meetri kõrgusel. Lisaks teostati valgusmõõtmisi valgusmõõtjaga LI-COR 250A (Lincoln, USA) ning keskmine valgustatus tuulepesade kohal oli $35,18 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.2 Gaasivahetuse mõõtmised

Katses kasutati Walz GFS-3000 Gas Exchange System (Heinz Walz, Germany) gaasivahetuse mõõtmisteks. Leht suleti õhukindlalt mõõtekambrisse. Masin seadistati järgmiste parameetritega: õhuniiskus 60%, CO₂ sisaldus 400PPM, valgus $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Gaasivahetust mõõdeti iga tuulepesa ja kontrolli kohta kolmes korduses ning nende põhjal arvutati keskmised tulemused ja tehti kokkuvõtted. Mesofüllil juhtivus arvutati kombineeritud gaasivahetuse-fluorestsentsi mõõtmistest Harley *et al.* (1992) kirjeldatud meetodiga, kasutades järgnevat valemit:

$$g_m = \frac{A_n}{C_i \frac{\Gamma^*(ETR + 8(A_n + R_d))}{ETR - 4(A_n + R_d)}}$$

kus g_m on mesofüllil juhtivus ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), A_n on fotosünteesi kiirus ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), C_i on CO₂ kontsentratsioon rakuvaheruumides (μbar), Γ^* on CO₂ kompensatsiooni punkt ($42,9 \mu\text{mol l}^{-1}$ 25°C juures), ETR on elektron transpordi kiirus ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), R_d on pimehingamine ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

2.2.1 Vee kasutamise efektiivsuse arvutamine

Vee kasutamise efektiivsuse arvutamiseks kasutati gaasivahetuse mõõtmise andmeid. Vee kasutamise efektiivsus arvutati kirjanduse ülevaates kirjeldatud lühiajalise vee kasutamise efektiivsuse valemi järgi. Selleks kasutati fotosünteesi ja õhulõhede juhtivuse mõõtmistulemusi. Nende andmete põhjal arvutati vee kasutamise efektiivsus, kasutades järgnevat valemit:

$$WUE = \frac{A_n}{g_s}$$

kus WUE on vee kasutamise efektiivsus ($\mu\text{mol}/\text{mol}$), A_n on fotosünteesi kiirus ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), g_s on õhulõhede juhtivus ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

2.3 Anatoomia

2.3.1 Lehtede fikseerimine ja vaiku viimine

Tosens *et al.* (2012) alusel viidi läbi valgusmikroskopeerimine. Kasutades žiletti, lõigati ligikaudu 6 x 4mm suurused lehetükid vältides suuremaid juhtsooni. Tükid lõigati kohast, kust oli eelnevalt mõõdetud fotosüntees. Seejärel viidi lehetükid süstlas vaakumis fiksiivilahusesse. Lahuse pH=6,9 ning koosnes 3% glutaaraldehüüdist ja 2% paraformaldehüüdist 0.1 M fosfaatpuhvril. Lahuses seisis proovid vähemalt 48 tundi. Pärast seda pandi proovid üheks tunniks 2% osmium tetroksiidi lahusesse. Järgnevalt toimus dehüdreerimine etanooli lahuses ja vaiku viimine (LR White Resin, London Resin Company) üldlevinud protokoll järgi (Bozzola, Russell, 1999).

Valgusmikroskoobi piltide jaoks lõigati ultramikrotoomiga (Leica, Vienna) vaiguplokist lehtedest 1 μm paksused ristlõiked, mis värviti toluidiin sinisega, et struktuur oleks paremini eristatav. Ristlõike vaadeldi mikroskoobiga Nikon Eclipse E600 10x suurendusega. Ristlõike pildistati Nikon 5 MP digitaalse mikroskoobi kaameraga DS-Fi1 (Nikon Corporation, Kyoto, Japan).

2.3.2 Anatoomia mõõtmised

Mesofüll- ja lehe paksused (vastavalt T_{mes} ja T_l) mõõdeti 10x suurendusega valgusmikroskoobi fotodelt vabatarkvara programmiga image J (<http://imagej.net/>). Paksused mõõdeti kolmes korduses kolmest vabalt valitud piirkonnast.

2.4. Klorofüllü määramine

Klorofüllisisalduse mõõtmiseks kasutati Porra meetodikat (Porra, 2002). Selleks võeti igalt mõõdetud lehelt korgipuuriga ($d=1$ cm) proov, mida säilitati -80° C juures. Klorofüllisisalduse leidmiseks homogeniseeriti leheproov 80% atsetoonis ja puhverlahuses, eraldati supernatant, millest määrati optiline tihedus klorofüllü a ja b neeldumismaksimumides kasutades spektrofotomeetrit UV-2550 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Kontsentratsioonide arvutamiseks kasutati järgnevaid valemeid:

$$[\text{Chl } a] = 13.71 * A_{663.6} - 2.85 * A_{646.6}$$

$$[\text{Chl } b] = 22.39 * A_{646.6} - 5.42 * A_{663.6}$$

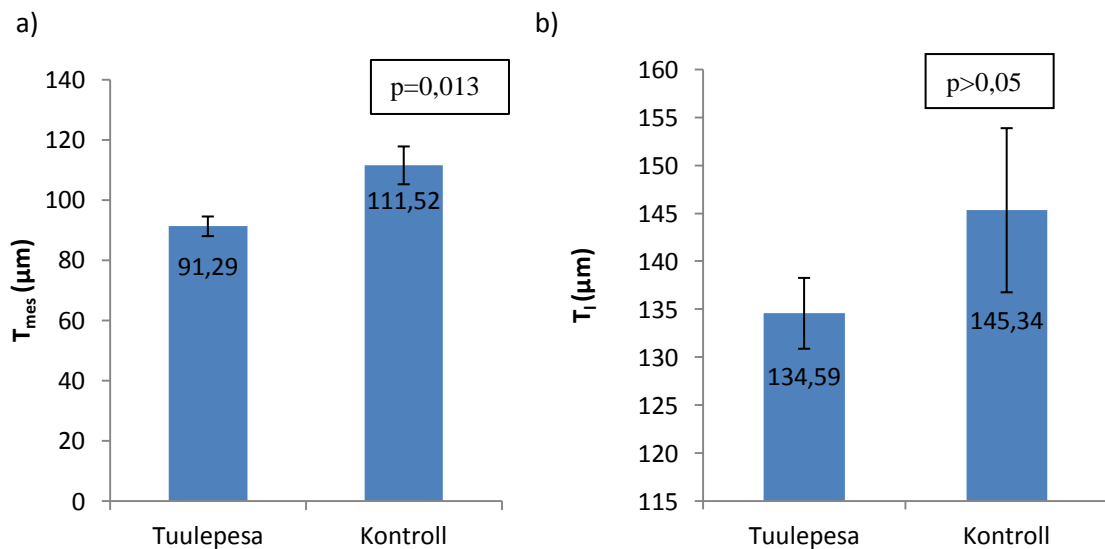
Kus $[\text{Chl } x]$ on vastavalt a ja b klorofüllü kontsentratsioon ja A_x on neeldumine kindlal lainepikkusel. Lainepikkused on valitud klorofüllü neeldumismaksimumi järgi atsetooni lahuses, mis on vastavat klorofüll a jaoks 663nm ja klorofüll b jaoks 645nm.

2.5 Andmete analüüs

Tuulepesade ja kontrollide vahelist erinevust testiti t-testiga, mille eelduseks oleva normaaljaotuse kontrolliks kasutati Shapiro-Wilk'i testi. Tunnuste vaheliste seoste iseloomustamiseks kasutati lineaarset regressiooni. Kõik statistilised analüüsid teostati statistikaprogrammiga R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. TULEMUSED

Mesofüllli paksus erines *Taphrina* seenega nakatunud võrsete lehtedel keskmiselt ~ 19% (joonis 1a). Nakatunud lehtede mesofüllli keskmine paksus oli $91,28 \pm 3,3\mu\text{m}$, samas kui tervete võrsete lehtede keskmine mesofüllli paksus oli $111,52 \pm 6,3\mu\text{m}$. Mesofüllli paksused erinesid statistiliselt olulisel määral ($p=0,013$). Lehe keskmised paksused erinesid veidi üle 7% (joonis 1b). Seenega nakatunud võrsetel keskmine lehe paksus oli $134,59 \pm 3,7\mu\text{m}$, kontrolllehtedel aga $145,34 \pm 8,6\mu\text{m}$, kuid erinevus ei olnud statistiliselt oluline ($p>0,05$).

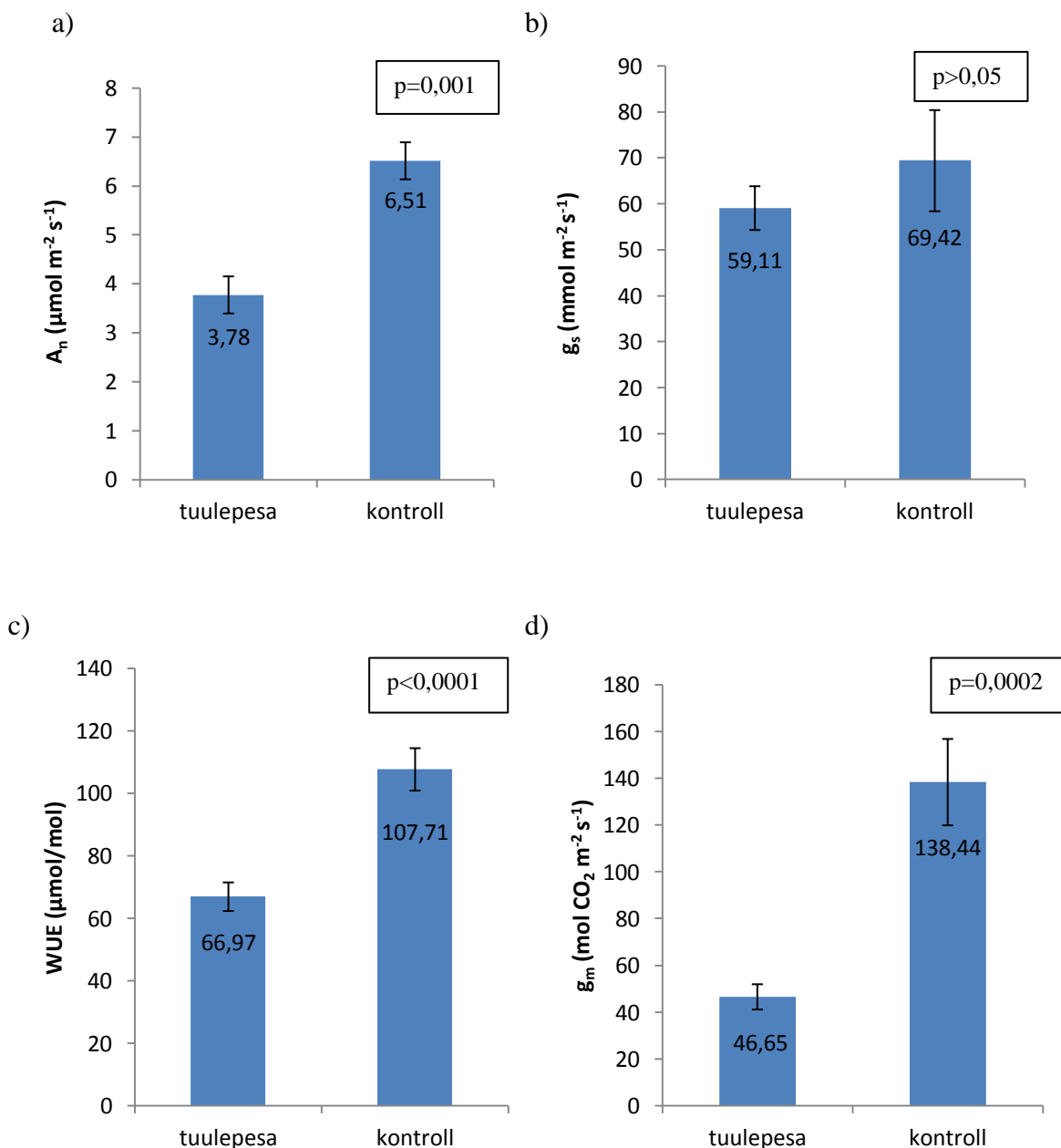


Joonis 1. a) Mesofüllli keskmised paksused (T_{mes}) tuulepesaga nakatunud kaskedel ja kontrollil, vurrud näitavad standardviga b) Lehe keskmised paksused (T_l) tuulepesaga nakatunud kaskedel ja kontrollil, vurrud näitavad standardviga

Fotosünteesi keskmine kiirus oli ligi kaks korda väiksem seenega nakatunud võrsete lehtedel (joonis 2a). Tuulepesaga nakatunud võrsete lehtedel on keskmine fotosünteesi kiirus $3,78 \pm 0,4\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, kontrolllehtedel aga keskmiselt $6,51 \pm 0,6\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Fotosünteesi kiirused erinesid statistiliselt olulisel määral ($p=0,001$). Õhulõhede juhtivus on suurem tervetel võrsete lehtedel, tulemuseks mõõdeti keskmiselt $69,42 \pm 11,0\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Seenega nakatunud võrsetel on keskmiselt $59,11 \pm 4,8\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, kuid erinevus polnud statistiliselt oluline ($p>0,05$) (joonis 2b).

Vee kasutamise efektiivsuse näitajate poolest erinevad tuulepesaga nakatunud võrsete tulemused ligikaudu 38% tervetest võrsetest (joonis 2c). Kontrollide keskmine vee

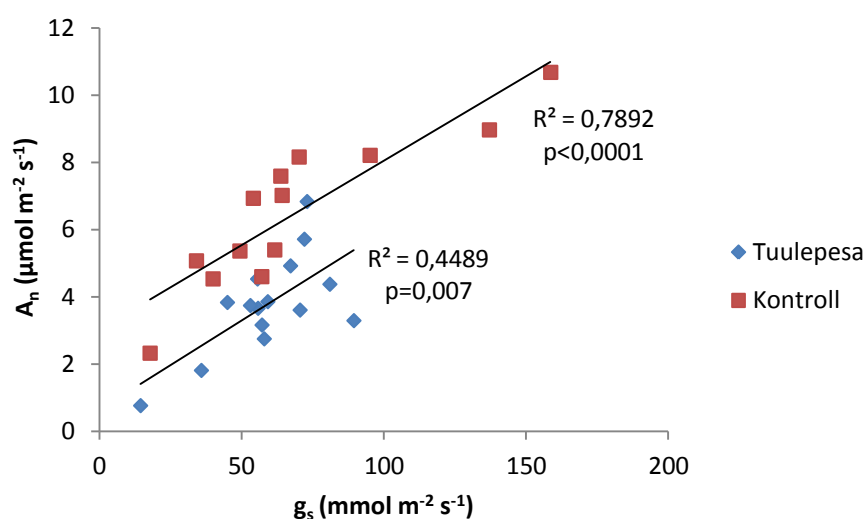
kasutamise efektiivsus on $107,71 \pm 6,8 \mu\text{mol/mol}$, seenega nakatunud lehtedel aga $66,97 \pm 4,6 \mu\text{mol/mol}$. Vee kasutamise efektiivsus erines statistiliselt olulisel määral ($p < 0,0001$). Mesofüllil juhtivus erines märgatavalt: seenega *Taphrina* nakatunud lehel mõõdeti mesofüllil juhtivuseks keskmiselt $46,65 \pm 5,4 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, kontrolllehel aga keskmiselt $138,44 \pm 18,5 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (joonis 2d). Samuti on erinevus statistiliselt oluline ($p = 0,0002$).



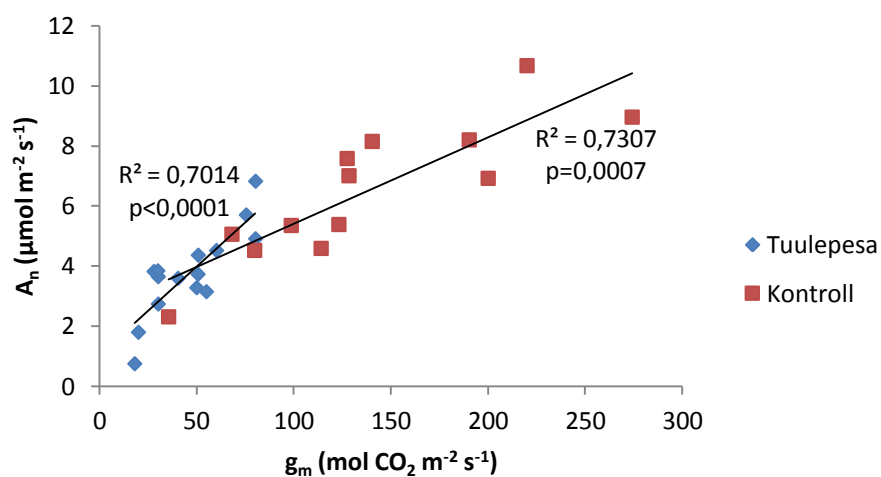
Joonis 2. a) Netofotosünteesi (A_n) keskmine kiirus tuulepesaga nakatunud kasel ja kontrollil b) Õhulõhede juhtivus (g_s) tuulepesaga nakatunud kasel ja kontrollil c) Vee kasutamise efektiivsus (WUE) tuulepesaga nakatunud kasel ja kontrollil d) Mesofüllil juhtivus (g_m) tuulepesaga nakatunud kasel ja kontrollil, Vurrud näitavad standarddiga

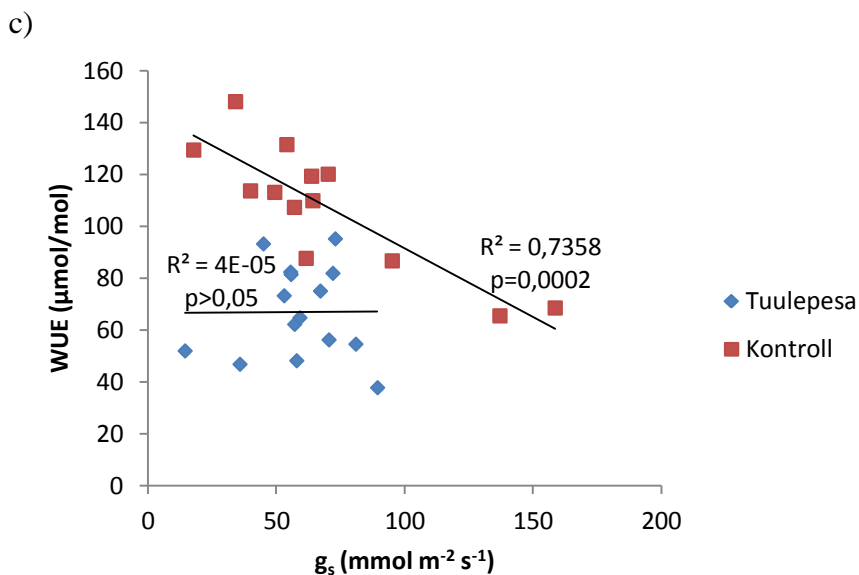
Fotosünteesi ja õhulõhede juhtivuse vaheline seos näitab, et mida suurem on õhulõhede juhtivus, seda suurem on ka fotosüntees pindalaühiku kohta seda nii kontrolllehtedel ($R^2=0,7892$; $p<0,0001$) kui ka seenega nakatunud lehtedel ($R^2=0,4489$; $p=0,007$) (joonis 3a). Fotosünteesi ja mesofüllli juhtivuse vaheline seos näitab, et mida suurem on mesofüllli juhtivus, seda suurem on fotosünteesi kiirus (joonis 3b). Seos kehtib nii kontrolllehtedel ($R^2=0,7307$; $p=0,0007$) kui ka seenega nakatunud lehtedel ($R^2=0,7014$; $p<0,0001$). Vee kasutamise efektiivsuse ja õhulõhede juhtivuse vaheline seos näitab, et kontrolllehtede puhul on vee kasutamine seda efektiivsem, mida vähem on õhulõhed avatud ($R^2=0,7358$; $p=0,0002$) (joonis 3c). Tuulepesa puhul pole olulist seost vee kasutamise efektiivsuse ja õhulõhede juhtivuse vahel ($p>0,05$).

a)



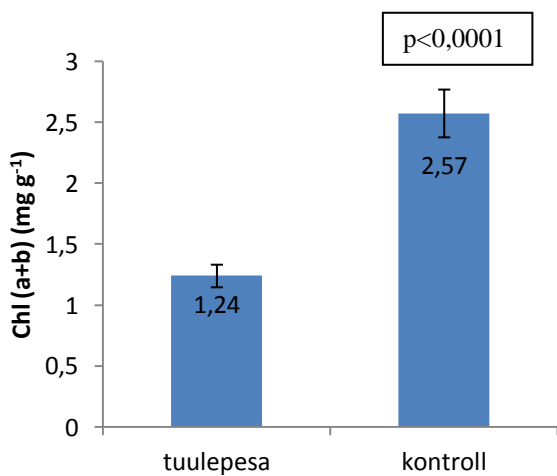
b)





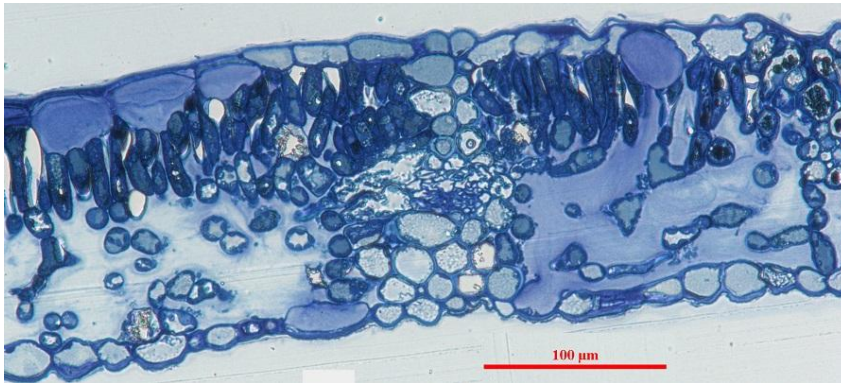
Joonis 3. a) Fotosünteesi kiiruse (A_n) ja õhulõhede juhtivuse (g_s) vaheline seos tuulepesaga nakatunud kase võrsel ja kontrollil b) Fotosünteesi kiiruse (A_n) ja mesofüllil juhtivuse (g_m) vaheline seos tuulepesaga nakatunud kase võrsel ja kontrollil c) Vee kasutamise efektiivsuse (WUE) ja õhulõhede juhtivuse (g_s) vaheline seos tuulepesaga nakatunud kase võrsel ja kontrollil

Klorofüllil sisaldus erines tuulepesa lehtedes ja kontroll-lehtedes üle kahe korra (joonis 4). Tuulepesa lehtede keskmine klorofüllil sisaldus oli $1,24 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$, kontrollil aga keskmiselt $2,57 \pm 0,2 \text{ mg g}^{-1}$. Klorofüllil sisaldus erines statistiliselt olulisel määral ($p < 0,0001$).

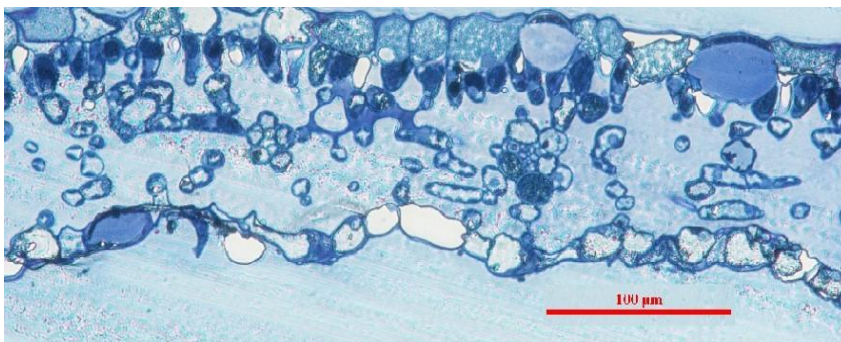


Joonis 4. Klorofüllil (Chl) sisalduse erinevus tuulepesa lehtede ja kontrollil vahel, vurrud näitavad standardviga

Valgusmikroskoobiga tehtud fotodel on näha erinevust tuulepesaga nakatunud taime lehe ristlõigu ja kontrolltaime lehe ristlõigu erinevusi. Joonisel 5a on näha, et mesofüll on rakke tihedalt täis. Samas joonisel 5b on näha, et nakatunud taime lehes on rakke palju vähem ning need asetsevad ebakorrapäraselt.



Joonis 5a. Valgusmikroskoobi foto kontroll-lehest (Foto: Ann Inger Kari)



Joonis 5b. Valgusmikroskoobi foto tuulepesa lehe ristlõikest (Foto: Ann Inger Kari)

4. ARUTELU

Prognoosid näitavad, et kliima on muutumas niiskemaks ja soojemaks ning selline keskkond on seenhaigustele soodne (Keskkonnaagentuur, 2014). *Taphrina* perekonnast pärit seen mõjutab kaskede morfoloogiat ja füsioloogiat ning need omakorda ka produktiivsust. Virsikuga tehtud uurimused on näidanud, et keskmiselt teeb *Taphrina deformans*, mis on samasse perekonda kuuluv haigustekitaja kui kasel *Taphrina betulina*, kahju USA-s 2,5-3 miljonit dollarit aastas (Cissé *et al.*, 2013). Kuigi kase kohta sarnaseid uurimusi pole tehtud, siis võib oletada, et kahju on siiski oluline. Kakaopuul põhjustab olulisi saagikadusid tuulepesasid põhjustav seen *Moniliophthora perniciosa*. Rahvusvahelise Kakaoorganisatsiooni andmetel on selle seenhaiguse tõttu vähenenud kakao saagikus 10 aasta jooksul ligi 70% (www.icco.org).

Käesoleva uurimuse tulemuseks saadi, et fotosünteesi kiirus erines tuulepesaga nakatunud kaskede ja kontrollkaskede puhul ligi kaks korda. Fotosüntees on tihedalt seotud mesofüllilise paksuse ja selle juhtivusega ning need mõõtmised näitasid samuti tuulepesa lehtede puhul madalamaid tulemusi. Vee kasutamise efektiivsuse tulemused olid ligi 38% väiksemad haigestunud arukaskede puhul.

Kubiske ja Pregitzer (1996) on leidnud, et paberikaskede (*Betula papyrifera*) lehtede fotosüntees varieerub suurel määral valguse ja varjulehtede vahel. Paberikaskedega tehtud uurimused näitasid, et valguse käes kasvanud kaskede fotosüntees oli $10,53 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, samas varjus kasvanud kaskedel oli fotosüntees samadel tingimustel $4,09 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. See tähendab, et valgus mängib väga suurt rolli fotosünteesis. Käesoleva uurimuse tulemusena selgus, et varjus kasvanud maksimaalne fotosüntees kontroll lehtedel oli $10,67 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (keskmine $6,51 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ning tuulepesalehtedel $6,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (keskmine $3,78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Sellest võib järeldada, et tuulepesaga nakatunud võrsetel on lehtede struktuur muutunud ja seetõttu on ka nende fotosüntees oluliselt vähenenud. Sama puu teistel võrsetel aga on fotosüntees häirimata arvestades, et fotosünteesi väärtused sarnanevad normaalsete kaskedega tehtud uurimuste tulemustele.

Noorte arukaskedega tehtud uurimused näitasid, et fotosünteesi kiirus võib olla kõrge valguse juures $15,5\text{-}16,5\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Eichelmann *et al.*, 2004). See tähendab, et mida rohkem on valgust, seda intensiivsem on fotosüntees ning kuna kask on valguselembeline puu, siis see on kasvu juures oluline.

Tervete kaskede vee kasutamise efektiivsus antud katses oli keskmiselt $107,71\mu\text{mol/mol}$. Flexas *et al.* (2013) on oma katses leidnud, et virsikul on selleks näitajaks keskmiselt $94\mu\text{mol/mol}$ ning Kellomäki ja Wang (2001) on katses kasega leidnud, et optimaalsetes tingimustes kasvanud kase vee kasutamise efektiivsus kasvu algfaasis on $236\mu\text{mol/mol}$ ja hiljem $121\mu\text{mol/mol}$, mis sarnaneb ka antud katses leitud WUE-ga. Kuna tuulepesalehtede vee kasutamise efektiivsus on keskmiselt $66,97\mu\text{mol/mol}$, siis võib järeldada, et *Taphrina* seen mõjutab kaskede vee kasutuse efektiivsust negatiivselt.

Antud uurimuses tuli välja huvitav seos. Kui varasemalt on leitud vee kasutamise efektiivsuse (WUE) ja õhulõhede juhtivuse vahel negatiivne seos (Flexas *et al.*, 2013), siis antud uurimuses leiti, et vee kasutamise efektiivsus õhulõhede juhtivusest ei sõltunud tuulepesa puhul. Kontroll lehtedel oli see seos aga negatiivne. Tuulepesade puhul vee kasutamise efektiivsuse ja õhulõhede juhtivuse vaheline seos ei ole statistiliselt oluline. See tähendab, et WUE erinevused tuulepesadel sõltuvad põhiliselt fotosünteesi erinevusest. Fotosüntees omakorda on aga suuresti mõjutatud madalast mesofüllilise juhtivusest (joonis 2d) ja klorofüllilise vähesusest (joonis 4). Seega ei tulene tuulepesade madal WUE mitte suurest õhulõhede juhtivusest vaid oluliselt madalamast fotosünteesist.

Varasemalt uuritud kaskede õhulõhede juhtivuse keskmiseks näitajaks on mõõdetud $181,1\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Büker *et al.*, 2007). Uddling *et al.* (2005) on oma katses võrrelnud varju ja valguse käes kasvanud lehtede õhulõhede juhtivust kasel. Valguselehtede õhulõhede juhtivus oli keskmiselt $361\text{-}449\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, varjulehtedel aga $36\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Käesoleva uurimuse õhulõhede juhtivuse keskmiseks tulemuseks saadi kontrolltaimedel ligi $70\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mis on sarnane varasemate tulemustega varjulehtede puhul.

Samasuguse õhulõhede juhtivuse juures oli tuulepesade lehtede fotosüntees madalam (joonis 3a). See on tõenäoliselt tingitud sellest, et nakatunud lehtedel on õhem mesofüll ja vähem mesofülset kudet pindalaühiku kohta (joonis 1a; joonis 5a, b). *Taphrina* seenega nakatunud võrsete lehtedel leiti keskmiselt väiksemad mesofüllilise juhtivuse väärtused

(joonis 2d). Mesofüllli juhtivus on positiivselt seotud fotosünteesi kiirusega (Tosens *et al.*, 2012) ja sõltub mesofüllli struktuurist ning on suurem paksema mesofüllliga lehtedel (Evans *et al.*, 1994).

Lehtede paksus ei olnud statistiliselt erinev, aga kuna mesofüllli paksus oli oluliselt erinev, siis see tähendab, et tuulepesa lehed investeerisid rohkem ressursse paksema epidermise ülesehitamisse. Varasemalt on leitud, et stressitingimustes lehed investeerivad rohkem ressursse kaitsvate kudede ehitamisse (Hejnowicz, 1997). Tuulepesa lehtede mesofüll oli oluliselt õhem (joonis 1a) ning seetõttu sisaldas ka vähem mesofüllli rakke. Sellest tingituna on rakkudes ka vähem kloroplaste mistõttu on lehtedes väiksem klorofüllli sisaldus.

Arukase klorofüllli sisalduse muutumise tulemused lehtedes näitasid üle kahe kordset erinevust tuulepesaga nakatunud ja kontrolllehel (joonis 4). Klorofüllli sisaldus on positiivselt seotud fotosünteesi kiirusega, kuna klorofüll on oluline fotosünteesiks vajalike valguskvantide püüdmiseks. Varjulehtedel on üldiselt klorofüllli sisaldus kõrgem, selleks et rohkem valguskvante püüda. Lichtenthaler *et al.* (2007) on varasemalt leidnud, et varjulehed on õhemad ja nende klorofüllli sisaldus (mg g^{-1}) on suurem kui valguslehtedel. Sellest saab järeldada, et kui lehed sisaldavad vähe klorofüllli, siis sellest tulenevalt toimub fotosüntees vähemal määral, kuna klorofüll on fotosünteesi alustamiseks vajalik.

Kuna tuulepesa lehtede klorofüllisisaldus ja sellest tulenevalt ka fotosüntees on väga madalad, siis võib arvata, et tuulepesa ülesehitamiseks vajalikud ressursid saadakse mittenakatunud taimeosadest transportimise teel. See annab aluse oletada, et tuulepesad on taimetele kulukad, kuna tarvitavad ressursse oksamassi ehitamiseks, kuid annavad ise vähe fotosünteesiprodukte. Edaspidi on oluline uurida, kuidas mõjutab tuulepesade esinemine kogu puu kasvu ning kuidas on omavahel seotud tuulepesa lehtede morfoloogia ja funktsioon.

KOKKUVÕTE

Praegustes kliimatingimustes, kus toimub keskmiste temperatuuride tõus ja sademete hulga suurenemine põhjapoolsetel laiuskraadidel, on seenhaiguste leviku tõenäosus aina suurenev, sest tegemist on neile sobilike elutingimustega. Kuna ilmastiku muutustega saabub palju uusi võõrliike, haigustekitajaid ja taimkahjureid, siis on metsa- ja põlluomanikud sunnitud neile vastu astuma ning selleks on tarvis vastavaid teemasid eelnevalt uurida.

Käesolev uurimisteema ongi oluline just seetõttu, et seenhaiguste levik on suurenemas ja selleks, et edasi uurida ja teada saada võimalikke vastumeetmeid, tuleb eelnevalt kindlaks teha nende mõju ning kahjulikkus. Teatavasti on fotosüntees oluline taime elutegevuseks ning biomassi juurdekasvul. Antud töö tulemused näitasid, et mesofüllil paksus oli tugevasti mõjutatud seenega *Taphrina* nakatunud kaskedel. Lisaks saadi teada, et fotosünteesi kiirus sõltub samuti taime seisundist. Kuna mesofüllil juhtivus mõjutab fotosünteesi kiirust, siis on oluline, et see oleks võimalikult paks ning seal asuks palju kloroplaste.

Sissejuhatuses püstitatud hüpotees sai kinnitust. *Taphrina* perekonnast pärit seen mõjutab kaskede fotosünteesi kiirust ja vee kasutamise efektiivsust negatiivselt.

Selle teema edasine uurimine on kindlasti oluline, sest *Taphrina* perekonna seen mõjutab oluliselt metsapuude morfoloogiat, füsioloogiat ning funktsioneerimist. Seetõttu on oluline täpsemalt uurida *Taphrina* mõju mesofüllil struktuurile ning kuidas seen kujundab fotosünteesi võimekust. Samuti väärivad edasist uurimist *Taphrina* populatsiooni mõjutavad abiootilised ja biootilised tegurid.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Bacon, M. A.** 2004. Water Use Efficiency in Plant Biology. Blackwell Publishing, 1-2
- Bagdžiūnaitė, A.** 2006. Fungal diseases on *Betula pendula* Roth. in Lithuania. Technical University in Zvolen
- Bozzola J. J., Russell, L. D.** 1999. Electron Microscopy, 2nd Edition. Jones and Bartlett Publishers
- Büker, P., Emberson, L. D., Ashmore, M. R., Cambridge, H. M., Jacobs, C. M. J., Massman, W. J., Müller, J., Nikolov, N., Novak, K., Oksanen, E., Schaub, M., de la Torre, D.** 2007. Comparison of different stomatal conductance algorithms for ozone flux modelling. *Environmental Pollution* 146, 726-735
- Cissé, O. H., Almeida, J. M. G. C. F., Fonseca, A., Kumar, A. A., Salojärvi, J., Overmyer, K., Hauser, P. M., Pagni, M.** 2013. Genome Sequencing of the Plant Pathogen *Taphrina deformans*, the Causal Agent of Peach Leaf Curl. *mBio* 4(3): e00055-13, 1
- Dengler, N. G., Mackay, L. B., Gregory, L. M.** 1975. Cell enlargement and tissue differentiation during leaf expansion in beech, *Fagus grandifolia*. *Canadian Journal of Botany* 53(23): 2846-2865
- Drenkhan, T., Rähn, E., Jürimaa, K., Adamson, K., Padari, A., Drenkhan, R., Pilt, E.** 2014. Juuremädanike levik on arvatust ulatuslikum. *Eesti Mets*, 4, 45-49
- Eichelmann, H., Oja, V., Rasulov, B., Padu, E., Bichele, I., Pettai, H., Möls, T., Kasparova, I., Vapaavuori, E., Laisk, A.** 2004. Photosynthetic parameters of birch (*Betula pendula* Roth) leaves growing in normal and in CO₂- and O₃-enriched atmospheres. *Plant, Cell & Environment* 27(4), 479-495
- Evans, J., Caemmerer, S., Setchell, B., Hudson, G.** 1994. The Relationship Between CO₂ Transfer Conductance and Leaf Anatomy in Transgenic Tobacco With a Reduced Content of Rubisco. *Australian Journal of Plant Physiology* 21 (4): 475-495
- Flexas, J., Barbour, M. M., Brendel, O., Cabrera, H. M., Carriquí, M., Díaz-Espejo, A., Douthe, C., Dreyer, E., Ferrio, J. P., Gago, J., Gallé, A., Galmés, J., Kodama, N., Medrano, H., Niinemets, Ü., Peguero-Pina, J. J., Pou, A., Ribas-Carbó, M., Tomás,**

- M., Tosens, T., Warren, C. R.** 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science* 193-194, 70-84
- Flexas, J., Niinemets, Ü., Gallé, A., Barbour, M. M., Centritto, M., Diaz-Espejo, A., Douthe, C., Galmés, J., Ribas-Carbo, M., Rodriguez, P. L., Rosselló, F., Soolanayakanahally, R., Tomas, M., Wright, I. J., Farquhar, G. D., Medrano, H.** 2013. Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. *Photosynthesis Research* 117, 45-59
- Franks, P. J., Beerling, D. J.** 2009. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. *PNAS* 106-25
- George, R. A. T., Fox, R. T. V.** 2014. Diseases of Temperate Horticultural Plants. CAB International, 349-350
- Gross, A., Holdenrieder, O., Pautasso, M., Queloz, V., Sieber, T. N.** 2014. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. *Molecular Plant Pathology*, 15(1), 5–6.
- Hanso, M., Drenkhan, R.** 2013. Simple visualization of climate change for improving the public perception in the forest pathology. *Forestry Studies* 58, 37-45
- Hanso, S., Hanso, M.** 1999. Juurepessu levimisest Eesti metsadest. *Metsanduslikud uurimused* XXXI: 162-172
- Harley, P.C., Loreto, F., Di Marco, G., Sharkey, T.D.** 1992. Theoretical Considerations when Estimating the Mesophyll Conductance to CO₂ Flux by Analysis of the Response of Photosynthesis to CO₂. *Plant physiology* 98(4): 1429–1436
- Hejnowicz, Z.** 1997. Gravitropisms in herbs and trees: a major role for the redistribution of tissue and growth stresses. *Planta* 203: S136-S146
- Hopkins, W. G., Hüner, N. P. A.** 2009. Introduction to Plant Physiology. John Wiley & Sons, Incl, 109-112p
- Hou, J., D'Andrea, W. J., MacDonald, D., Huang, Y.** 2007. Evidence for water use efficiency as an important factor in determining the δD values of tree leaf waxes. *Organic Geochemistry* 38, 1252
- Kellomäki, S., Wang, K.-Y.** 2001. Growth and Resource Use of Birch Seedlings Under Elevated Carbon Dioxide and Temperature. *Annals of Botany* 87: 669-682

- Komatsu, M., Taniguchi, M., Matsushita, N., Takahashi, Y., Hogetsu, T.** 2010. Overwintering of *Taphrina wiesneri* within cherry shoots monitored with species-specific PCR. *Journal of General Plant Pathology* 76-6, 363-369
- Kubiske, M. E., Pregitzer, K. S.** 1996. Effects of elevated CO₂ and light availability on the photosynthetic light response of trees of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* 16, 351-358
- La Porta, N., Capretti, P., Thomsen, I. M., Kasanen, R., Hietala, A. M., Von Weissenberg, K.** 2008. Forest pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. *Canadian Journal of Plant Pathology* 30: 177-195
- Laas, E., Uri, V., Valgepea, M.** 2011. Metsamajanduse alused. Tartu Ülikooli kirjastus, 102-103
- Lambers, H., Chapin III, F. S., Pons, T. L.** 2006. *Plant Physiological Ecology*. Springer, 10-15, 195
- Larcher, W.** 2003. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag 4th edition, 131-134
- Lichtenthaler, H. K., Ač, A., Marek, M. V., Kalina, J., Urban, O.** 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plan Physiology and Biochemistry* 45 (8), 577-588
- Loka, D. A., Oosterhuis, D. M., Ritchie, G. L.** 2011. Water-deficit stress in cotton. *Stress Physiology in Cotton*, 37-72. The Cotton Foundation. Tennessee, USA.
- Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Flexas, J., Hernández, E., Rosselló, J., Pou, A., Escalona, J.-M., Bota, J.** 2015. From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal* 3, 220-228
- Miidla, H.** 1984. *Taimefüsioloogia*. Tallinn Valgus, 117-124
- Miyazawa, S.-I., Terashima, I.** 2001. Slow development of leaf photosynthesis in an evergreen broad-leaved tree, *Castanopsis sieboldii*: relationships between leaf anatomical characteristics and photosynthetic rate. *Plant, Cell & Environment* 24-3, 279-291
- Phillips, D. H., Burdekin, D. A.** 1992. *Diseases of Forest and Ornamental Trees*. The Macmillan Press LTD, 292-293

- Porra, R. J.** 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research* 73: 149–156
- Prasad, M. N. V.** 1997. *Plant Ecophysiology*. John Wiley & Sons, Inc., 25-30
- Rudall, P. J.** 2007. *Anatomy of Flowering Plants*. Cambridge University Press, 1-7, 68-69
- Spanos, Y. A., Woodward, S.** 1994. The effects of *Taphrina betulina* infection on growth of *Betula pubescens*. *Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin*, 277-286
- Sturrock, R. N., Frankel, S. J., Brown, A. V., Hennon, P. E., Kliejunas, J. T., Lewis, K. J., Worrall, J. J., Woods, A. J.** 2011. Climate change and forest diseases. *Plant Pathology* 60-1, 133-149
- Zhenzhu, X., Guangsheng, Z.** 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* 59(12): 3317-3325
- Thomas, P.** 2000. *Trees: Their Natural History*. Cambridge University Press, 13-18
- Tosens, T., Nüinemets, Ü., Vislap, V., Eichelmann, H., Castro Díez, P.** 2012. Developmental changes in mesophyll diffusion conductance and photosynthetic capacity under different light and water availabilities in *Populus tremula*: how structure constrains function. *Plant, cell & environment* 35(5), 839–56
- Uddling, J., Hall, M., Wallin, G., Karlsson, P. E.** 2005. Measuring and modelling stomatal conductance and photosynthesis in mature birch in Sweden. *Agricultural and Forest Meteorology* 132, 115-131
- Electron Microscopy Sciences.** LR White Embedding Medium. Pennsylvania, USA
https://www.emsdiasum.com/microscopy/technical/datasheet/14380_LR_white.aspx
 (02.04.2016)
- Erametsakeskus.** Seenkahjurid. Tallinn, Eesti. 2015 <http://www.eramets.ee/seenkahjurid/>
 (28.10.2015)
- Heinz Walz GmbH,** Effeltrich, Germany. <http://www.walz.com/> (19.04.2016)
- ImageJ.** <http://imagej.net/> (07.03.2016)

- International Cocoa Organization.** <http://www.icco.org/about-cocoa/pest-a-diseases.html>
(03.05.2016)
- Keskkonnaagentuur.** Keskkonna ülevaade 2013. 2014.
<http://www.keskkonnainfo.ee/main/index.php/et/component/content/article/887>
(29.02.2016)
- Keskkonnaagentuur.** Metsade süsiniku ringlus. Tallinn.
<http://www.keskkonnaagentuur.ee/et/susinikuringlus> (29.03.2016)
- Leica Microsystems,** Vienna, Austria. <http://www.leica-microsystems.com> (11.01.2016)
- LI-COR.** 2016. Lincoln, Nebraska USA. <https://www.licor.com/> (12.05.2016)
- Nikon Corporation.** 2016. Kyoto, Japan. <http://www.nikon.com/> (12.05.2016)
- Pickering, J.** Discover Life. 2016. <http://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Taphrina+betulina>
(18.01.2016)
- R Core Team** (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (31.03.2016)
- Riistop, M.** 2002. Süsinikuringe metsas. Eesti Mets nr. 3
http://www.loodusajakiri.ee/eesti_mets/artikkel50_5.html (29.03.2016)
- Shimadzu Corporation.** 2016. Kyoto, Japan. <http://www.ssi.shimadzu.com/> (12.05.2016)
- Tullus, H.** 2011. Metsamajandus ja süsiniku sidumine. Eesti Mets nr. 4
http://www.loodusajakiri.ee/eesti_mets/index.php?id=1212&id_a=1200 (29.03.2016)
- Tullus, H., Drenkhan, R., Lutter, R., Hanso, M.** 2015. BioClim: kliimamuutuste mõjuanalüüs, kohanemisstrateegia ja rakenduskava looduskeskkonna ja biomajanduse teemavaldkondades, lk 303-319
http://www.envir.ee/sites/default/files/bioclim_iii_vahearuanne_jk_30.06.15.pdf
(29.02.2016)

**PHOTOSYNTHETIC CAPACITY AND WATER USE EFFICIENCY
DEPENDING ON *TAPHRINA* FUNGI INFECTION IN *BETULA
PENDULA***

Summary

Future climate conditions in Estonia are increasingly favourable for the spread of fungal diseases as the temperature and precipitation are both predicted to rise. While climate change brings along a lot of an invasive species, pathogens and forest pests, the forest owners and farmers have to find ways to cope with these. Therefore, it is important to analyse the impact of the possible threats beforehand.

Current research topic is important due to the possible rise of fungal disease. Before continuing the research on its economic impact and gaining more knowledge on avoiding the diseases, it is important to make sure how harmful the fungal infection is and how it affects the plant. *Taphrina* is a fungal genus and causes witches' broom on birch. Witches' broom is a disease and causes abnormal woody growth. The branches are densely together forming a structure that resembles a birds' nest.

It is known that photosynthesis (A_n) is important for plant vital functions and biomass growth. Current study shows that mesophyll thickness of birch leaves is strongly affected by *Taphrina* infection and is significantly smaller on leaves of infected branches. Mesophyll thickness is important as thick mesophyll also contains a lot of chloroplasts and therefore mesophyll conductance strongly affects photosynthetic capacity. Accordingly, the leaves of infected branches had significantly lower photosynthetic capacity compared to control-leaves. Furthermore, the low values of photosynthesis also cause low water use efficiency (WUE) which further illustrates the significant negative effect of *Taphrina* infection on silver birch.

It is significant to continue the research on this field because *Taphrina* infection influences the morphology, physiology and functioning of birch trees. Therefore, it is important to conduct further experiments how exactly fungus *Taphrina* affects structure of mesophyll and how large is the effect on photosynthetic capacity. Also is interesting and necessary to gain more knowledge on the abiotic and biotic factors that affect *Taphrina* population.

Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendajate kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Cätlin Kinz-Kiens,

sünniaeg 25.02.1994

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö Fotosünteesi kiiruse ja vee kasutamise efektiivsuse muutumine *Taphrina* perekonna seenega nakatunud arukaskedel, mille juhendajad on dotsent Tiina Tosens, PhD ja Liisa Kübarsepp, MSc,

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks 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.

Lõputöö autor _____
(allkiri)

Tartu, _____
(kuupäev)

Juhendajate kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)