

*Keräsienijuurisymbioosin vaikutus kasvien
suolastressiin*

Heidi-Mari Hyvönen

Luk-tutkielma

Biologian tutkinto-ohjelma

Oulun yliopisto

Marraskuu 2022

Sisällysluettelo

Tiivistelmä	2
1. Johdanto	3
2. Keräsienijuuret	4
2.1. Keräsienijuurisymbioosin vaiheet	6
3. Maaperän suolaantuminen	7
3.1. Primaarinen suolaantuminen	8
3.2. Sekundaarinen suolaantuminen	8
3.3. Suolastressin vaikutukset kasveihin	9
4. Keräsienijuuren hyödyt kasvin suolastressin hallinnassa	11
4.1. Ravinteet	12
4.2. Maaperä	14
4.3. Ionitasapaino	14
4.4. Nestetasapaino	15
4.5. Hapetusstressi	17
4.6. Fotosynteesi	18
5. Suolastressin vaikutus sieniosakkaaseen	19
6. Pohdinta ja tulevaisuuden näkymät	19
7. Lähdeluettelo	21

Tiivistelmä

Maaperän suolaantuminen on merkittävä ympäristöongelma. Erityisen suuri merkitys on ihmisen toiminnan aiheuttamalla suolaantumisella, joka on usein kytköksissä keinokastelun ongelmiin. Etenkin maaperään kertyvä natriumkloridi voi heikentää merkittävästi maaperän laatua. Tulevaisuudessa ilmastonmuutos tulee pahentamaan suolaantumisen vaikutuksia entisestään. Maaperän liiallinen suolaantuminen johtaa kasveissa suolastressiin, joka vahingoittaa esimerkiksi solukoiden entsyymejä, kalvorakenteita ja fotosynteesikoneistoa. Lopulta suolastressi voi johtaa lehtien viherkatoon, ennenaikaiseen vanhenemiseen ja solukuolemaan.

Keräsienet ovat tärkeitä kasvien liittolaisia suolastressin negatiivisten vaikutusten ehkäisemisessä. Keräsienijuurisymbioosi hyödyttää merkittävästi kasviosakasta erilaisten stressitekijöiden sietämisessä. Toisaalta keräsienijuurisymbioosi on välttämätön myös lähes kaikille keräsienilajeille. Keräsienet muodostavat kasvin kortikaalisolujen sisälle keräsiä tiiviiksi yhteydeksi kasviosakkaan ja sieniosakkaan välille. Osakkaiden välillä tapahtuu monipuolista signalointia esimerkiksi ravinteidenvaihdon, kasvihormonien ja mekaanisten ärsykkeiden avulla.

Suolastressin seurauksena kasvien ravinteidenotto vaikeutuu ja ionisuhteet häiriintyvät. Toisaalta myös maaperän osmoottinen potentiaali muuttuu suolaantumisen seurauksena, mikä vaikeuttaa kasvin nestetasapainon säätelyä. Keräsienijuurisymbioosin on havaittu auttavan kasvia etenkin riittävässä fosforinsaannissa. Toisaalta keräsienijuuri auttaa kasvia ylläpitämään normaaleja ionisuhteita yhteyttämissolukossa, jossa ionisuhteiden muutokset voivat johtaa vakaviin haittoihin. Keräsienijuurellisissa kasveissa on myös havaittu merkkejä parantuneesta nestetasapainon säätelystä. Keräsienet parantavat lisäksi maaperän laatua erittämällä partikkeleita yhteen sitovaa glomaliinia. Suolastressin pitkittyminen johtaa yleensä hapetusstressiin eli solukoita vaurioittavien happiradikaalien ylimäärään. Kasveilla on onneksi käytössään antioksidatiivisia yhdisteitä, joiden määrää keräsienijuuren on havaittu parantavan. Hapetusstressin ehkäisy suojaa kasvin yhteyttämisskoneistoa vaurioilta. Keräsienijuurellisten kasvien fotosynteesin onkin havaittu olevan usein tehokkaampaa kuin sienijuurettomilla kasveilla. Toisaalta sienijuuri voi vaikuttaa positiivisesti myös ilmarakojen johtokykyyn, mikä mahdollistaa riittävän hiilidioksidin saatavuuden. Tehostuneen fotosynteesin avulla keräsienijuurellinen kasvi voi kasvattaa biomassansa tehokkaasti, mikä itsessään kertoo kasvin parantuneesta yleiskunnosta.

1. Johdanto

Maaperän suolaantuminen on globaali ja merkittävä ympäristöongelma, joka vaikuttaa myös Euroopassa. Arviolta Euroopan alueesta jopa 4 milj. hehtaaria kärsii ihmisen toiminnan aiheuttamasta kohtuullisesta tai vaikeasta maaperän suolaantumisesta. Etenkin Etelä- ja Itä-Euroopassa maaperä on paikoin luonnostaan suolainen ja siten altis myös ihmisen aiheuttamalle suolaantumislle. Rannikkoalueilla maaperän suolaantumista esiintyy Euroopassa esimerkiksi Alankomaissa ja Tanskassa (Daliakopoulos ym., 2016). Maaperän suolaantuminen vaikuttaa moniin keskeisiin ekologisiin prosesseihin, kuten biomassan maatumiseen. Suolaantuminen aiheuttaa stressiä maaperän mikrobeille, jotka vaikuttavat laajasti maaperän ominaisuuksiin, kuten maaperän partikkelien aggregaatioon eli kasautumiseen. Osa mikrobeista voi torjua suolastressin aiheuttamia haitallisia vaikutuksia, mutta mikrobeja kuitenkin myös kuolee suolastressin aiheuttaman plasmolyysin seurauksena (Rahman ym., 2021). Yleisesti ihmisen toiminnan aiheuttama suolaantuminen alentaa alueen biodiversiteettiä. Orgaanisen hiilen määrä vähenee samoin kuin mikrobiaktiivisuus. Maaperästä tulee altis eroosiolle ja jopa aavikoitumiselle. Kaikki tämä vaikuttaa negatiivisesti myös suolaantuneen alueen kasveihin ja niiden diversiteettiin (Daliakopoulos ym., 2016).

Ekologisen merkittävyytensä lisäksi suolastressin tutkimus tarjoaa mielenkiintoisen lähtökohdan abiottisen stressin vaikutusten tutkimiseen kasvin näkökulmasta. Suolastressi aiheuttaa kasville kokonaisvaltaisen stressitilan etenkin vesitasapainon häiriöiden, ionimyrkyllisyyden ja hapettumisstressin seurauksena. Kasvilla itsellään on monipuolisia mekanismeja suolastressin haittojen torjumiseen (Evelin ym., 2019). Lisäksi kasvit muodostavat luonnossa paljon erilaisia symbioottisia vuorovaikutuksia muiden eliöiden kanssa. Esimerkiksi sienijuuria tai symbiooseja typensitojabakteerien kanssa esiintyy suurella osalla kasveista. Kasvien solukoissa elää paljon vaikutuksiltaan neutraaleja tai jopa hyödyllisiä endofyyttisiä mikrobeja (Hashem ym., 2016). Sienijuuri on symbioosi, jossa sieniosakas ja kasviosakas muodostavat molempia hyödyttävän yhteyden. Sieniosakas hyötyy symbioosista muun muassa saamalla kasvilta hiilihyaatteja ja lipidejä. Sieniosakas puolestaan auttaa kasvia etenkin ravinteiden riittävässä saannissa ja suojelee kasvia erilaisilta abiottisilta sekä bioottisilta stresseiltä. Kasviosakkaan ja sieniosakkaan välinen fyysinen yhteys mahdollistaa monipuolisen vuorovaikutuksen (Parniske, 2008).

Sienijuuria on jaoteltu aikojen saatossa erilaisilla tavoilla. Pohjana jaotteluille on toiminut sienijuurien erottaminen juurisolujen soluseinien sisälle kasvaviin sisäsienijuriin eli endomykorritsoihin ja juurisolujen ulkopuolisiin ulkosienijuriin eli ektomykorritsoihin. Tutkimustiedon karttuessa jaottelu on kuitenkin monimutkaistunut huomattavasti ja erilaisia malleja sienijuurien jaotteluun on esitetty (Imhof, 2009). Brundrett & Tedersoo (2018) jaottelevat sienijuuret niiden morfologian perusteella karkeasti neljään ryhmään: keräsienijuriin, pintasienijuriin, kanervasienijuriin ja kämmekkäsienijuriin. Näistä kahta ensimmäistä ryhmää jaotellaan niiden morfologisen monipuolisuuden vuoksi usein myös tarkempiin alaryhmiin. Lisäksi on myös olemassa sekatyypisiä sienijuuria eli ektendomykorritsoja, jotka eivät mukaudu ominaisuuksiltaan täysin kyseiseen jaotteluun, mutta niiden voidaan katsoa kuuluvan pintasienijuriin (Brundrett & Tedersoo, 2018).

Kanervasienijuuret, kämmekkäsienijuuret ja keräsienijuuret ovat kaikki sisäsienijuuria. Esimerkiksi kanervasienijuurilla on juuren epidermisolujen sisäisiä kiehkuramaisia rakenteita. Pintasienijuurien tyypillisiä rakennepiirteitä puolestaan ovat juurisolujen välissä oleva Hartigin verkko ja yleensä tiivisrakenteinen sienivaippa juuren ympärillä. Valtaosa maakasveista muodostaa kuitenkin symbioosin juuri keräsienien kanssa, millä voi olla suuri vaikutus myös suolastressin torjuntaan. Siksi yhdistämällä tarkasteluun myös keräsienijuuret saadaan mielenkiintoinen näkökulma kasvin yhteistyöhön muiden organismien kanssa suolastressin haittojen torjumiseksi (Brundrett & Tedersoo, 2018).

Tässä tutkielmassa selvitetään, miten merkittävä vaikutus keräsienijuurella on kasvin suolastressin sietokyvyn parantamisessa. Lisäksi keräsienijuuren erilaisia positiivisia vaikutuksia eritellään ja tarkastellaan aiheesta tehdyn tutkimuksen pohjalta. Ensin käsitellään kuitenkin ilmiön taustan ymmärtämiseksi keräsienijuurisymbioosia ja suolastressiä yleisellä tasolla.

2. Keräsienijuuret

Keräsienijuurisymbiooseja muodostavat nimensä mukaisesti keräsienet eli Glomeromycota-kaaren sienilajit. Keräsienijuuret kehittyivät todennäköisesti jo noin 450 milj. vuotta sitten, vaikka ensimmäiset hyvin säilyneet keräsienijuurifossiilit ovat peräisin vasta devonikaudelta (Brundrett & Tedersoo, 2018). Ensimmäisten maakasvien ja keräsienijuurisymbioosin kehittyminen ajoittuvat siis samalle aikakaudelle, ja keräsienijuurisymbioosin uskotaan vaikuttaneen merkittävästi

putkilokasvien juurien rakenteen kehittymiseen (Kamel ym., 2017). Keräsienet ovat erityisen merkityksellisiä, sillä arviolta noin 72 % kaikista putkilokasveista muodostavat käytännössä aina symbioosin keräsienien kanssa. Lisäksi vielä noin 7 % putkilokasveista saattaa muodostaa joissain olosuhteissa keräsienijuurisymbioosin. Keräsienijuurisymbioosin syntyyn saattavat tällöin vaikuttaa esimerkiksi ympäristön abioottiset olosuhteet ja muut lähialueen kasvit (Brundrett & Tedersoo, 2018). Keräsienien morfologia ei ole muuttunut merkittävästi niiden kehityshistorian aikana (Parniske, 2008).

Keskeinen keräsienijuurien rakennepiirre ovat juuren kortikaalisolujen soluseinien sisäiset puumaiset keräset eli arbuskelit, jotka mahdollistavat tehokkaan ravinteiden vaihtumisen sieni- ja kasviosakkaan välillä. Keräsienet Keräsienijuurille ovat myös tyypillisiä rakkulamaiset rakenteet eli vesikkelit (Brundrett & Tedersoo, 2018). Vesikkelirakenteita voi esiintyä juuren solukon sisällä apoplastisessa tilassa, ja niiden ajatellaan olevan tarpeellisia etenkin aineiden varastoinnissa. Keräsienijuuren koenosyyttiset rihmastot koostuvat isoista monitumaisista soluista. Myös keräsienten itiöissä on satoja tumia yhdessä solulimassa. Juuren ulkopuolella keräsienijuuri muodostaa laajan rihmaston, joka ei kuitenkaan yleensä ole rakenteeltaan yhtä tiivis kuin pintasienijuurille tyypillinen sienivaippa (Parniske, 2008).

Keräsienijuurien lisääntymisen on pitkään oletettu olevan suvutonta ja tapahtuvan yksinomaan itiöiden avulla. Kuitenkin läheistä sukua olevien eristettyjen linjojen välillä on havaittu anastomoosia eli rihmojen fuusioitumista, mikä mahdollistaa rihmaston laajenemisen ja tumien vaihdon (Parniske, 2008). Ropars ym. (2016) havaitsivat tutkimuksessaan merkkejä plasmogamiasta eli solulimojen fuusioitumisesta *Rhizophagus irregularis* -lajilla. He havaitsivat dikaryoottisia linjoja, joiden ajatellaan syntyneen kahden yhteensopivan homokaryoottisen linjan plasmogamian avulla ilman varsinaista karyogamiaa eli tumien fuusioitumista. Toisaalta karyogamia, geneettinen rekombinaatio ja meioosi osana elinkiertoa ovat mahdollisia, mutta näistä saatu tieto on vielä puutteellista (Ropars ym., 2016; Mateus ym., 2022). Lisäksi paraseksuaalinen lisääntyminen on vaihtoehto. Tällöin voi tapahtua karyogamiaa, mitoottista rekombinaatiota ja haploidisaatiota, mutta ei varsinaista meioosia. Suvullinen lisääntyminen mahdollistaisi keräsienille aikaisempaa käsitystä laajemman evolutiivisen potentiaalin ja kyvyn vastata abioottisen ympäristön muutoksiin (Mateus ym., 2022).

Monien tutkittujen keräsienien ei ole havaittu olevan erikoistuneita kasviosakkaan suhteen. Kasviosakkaan juuristosta saattaa siis samanaikaisesti löytyä usea eri sienilaji. Kuitenkin luonnollisissa ekosysteemeissä on havaittu myös hyvin erikoistuneita keräsienijuurisymbiooseja. Lähes kaikki keräsienet ovat ehdottomia biotrofeja, koska ne eivät voi tuottaa uutta sukupolvea ilman kasviosakasta (Parniske, 2008). Keräsienijuureen liittyvä ehdoton mutualismi on kehityshistoriallisesti hyvin vanha piirre. Useissa tutkimuksissa on esimerkiksi havaittu rasvahapposyntaasin puuttuvan monilta keräsienilajeilta. Sieniosakas tarvitsee siis kasviosakkaan rasvahappoja omien rihmastoja rakenteisiin (Kamel ym., 2017). Kasviosakkaan kannalta keräsienijuurisymbioosi on yleensä hyödyllinen ja haastavissa kasvuolosuhteissa jopa välttämätön, sillä symbioosi tehostaa etenkin kasvin ravinteiden riittävää saantia. Hyvissä kasvuolosuhteissa sienijuuri ei kuitenkaan välttämättä hyödytä kasvia merkittävästi, mutta kuluttaa sen resursseja (Brundrett & Tedersoo, 2018).

2.1. Keräsienijuurisymbioosin vaiheet

Ennen symbioosin alkua sieniosakkaan itiöt lähtevät itämään eli siirtyvät pois lepotilasta. Seuraavaksi sieniosakkaan rihmastot haarautuvat voimakkaasti kasviosakkaan juurien läheisyydessä. Tämä mahdollistaa juuren epidermin ja sieniosakkaan rihmaston kohtaamisen. Sieniosakkaan rihmastosta erilaistuu painerihmoja, joiden avulla sieni työntyy juuren solukkoon. Kasvisolut muodostavat painerihmojen yhteyteen kanavan (eng. pre-penetration apparatus (PPA)), joka ohjaa juuren sisäisten rihmastoja kasvua. Kanavan kehittyminen edellyttää juurisolujen tumien osallistumista kasvun ohjaukseen. Tämän mekanismin avulla rihmastot voivat levittäytyä juuren kortikaalisoluihin asti ja muodostaa lopulta keräsiä. Kerästen kehittymisen mekanismien seurauksena niitä ympäröi kasvisolusta peräisin oleva kalvo (eng. periarbuscular membrane (PAM)). Sienirihman solukalvon ja kasvisolun kalvon välissä on siis soluseinämateriaalia sisältävä apoplastinen tila (eng. periarbuscular space (PAS)). Myös juuren ulkopuolinen sienirihmasto kehittyy vähitellen laajemmaksi (Parniske, 2008).

Symbioosin muodostuminen edellyttää sieni- ja kasviosakkaan välistä kommunikaatiota. Etenkin kasviosakkaan erittämällä strigolaktoneilla on suuri merkitys sieniosakkaan itämään lähtemisessä. Strigolaktonien erityis aktivoituu esimerkiksi kuivuuden tai ravinteiden puutoksen seurauksena. Kasvit voivat erittää myös monia muita molekyylejä, kuten flavonoideja ja rasvahappoja. Keräsienijuuri erittää vastavuoroisesti erilaisia kitiini johdannaisia, jotka tunnetaan Myc-tekijöinä

(Kamel ym., 2017). Myc-tekijöiden avulla keräsieni voi vaikuttaa symbioosiin liittyvien geenien aktivoitumiseen kasvilla. Epidermin mekaaninen ärsytys vaikuttaa painerihman yhteyteen kehittyvän kanavan muodostumiseen (Parniske, 2008).

Myös symbioosin ylläpito edellyttää signaalointia ravinteidenvaihdon ja kasvihormonien avulla. Esimerkiksi auksiinin, abskissihapon ja brassinosteroidien on havaittu ylläpitävän keräsienijuurta. Toisaalta jotkin kasvihormonit, kuten gibberelliini ja salisyylihappo, voivat vaikuttaa negatiivisesti symbioosiin (Pons ym., 2020). Pons ym. (2020) havaitsivat *Rhizophagus irregularis* -sienijuurilajin itämisen yhteydessä useita kasvihormoneja. He löysivät kasvuun lähteneiden itiöiden erittämää auksiinia ja sytokiniiniä niiden kasvatusalustoista. Itiöistä vapautui myös etyleeniä. Lisäksi itiöistä löytyi heikkoja merkkejä gibbereliinistä, jota itiöt eivät kuitenkaan erittäneet. Hormonien löytyminen ei kuitenkaan välttämättä tarkoita, että sieni tuottaa auksiinia, gibbereliiniä ja sytokiniiniä itse. Nämä hormonit saattavat olla peräisin kasviosakkaalta, ja sieniosakas on säilönyt niitä itiöhinsä. Etyleenin tapauksessa voitiin todistaa sieniosakkaan myös tuottavan kyseistä hormonia itse. Vaikuttaa siis siltä, että sieniosakas käyttää hormoneja esimerkiksi kasviosakkaan kanssa kommunikointiin tai oman toimintansa säätelyyn. Hormonit saattavat siten toimia kasviosakkaan ja sieniosakkaan välillä monimutkaisena sekä vastavuoroisena kommunikaatiovälineenä (Pons ym., 2020).

3. Maaperän suolaantuminen

Suolaantuneet maaperät voidaan jaotella niiden ominaisuuksien perusteella esimerkiksi kolmeen tyyppiin:

1. Maaperään, joka sisältää ylimäärän liukoisia suoloja (eng. saline soil).
2. Maaperään, jossa on ylimäärä natriumkationeja (eng. sodic soil).
3. Maaperään, joka on emäksinen yleensä karbonaatin (CO_3^{2-}) ylimäärän seurauksena (eng. alkaline soil).

Natriumkationeja ylimäärin sisältävän maaperän ongelmana on erityisesti kationinvaihdon häiriintyminen. Maaperässä voi samanaikaisesti vaikuttaa useampi eri suolaisuuden tyyppi. Suolaantuminen voidaan jaotella sen syntyvän mukaan myös primaariseen ja sekundaariseen suolaantumiseen. Primaarinen suolaantuminen johtuu luonnon omista prosesseista ja

sekundaarinen suolaantuminen ihmisten toiminnasta (Daliakopoulos ym., 2016). Merkittävin ja tutkituin haitallista maaperän suolaantumista aiheuttava suola on natriumkloridi (Evelin ym., 2019).

3.1. Primaarinen suolaantuminen

Maaperän mineraalit sisältävät runsaasti erilaisia alkuaineita, kuten kaliumia, magnesiumia ja natriumia, joita voi tiettyjen prosessien seurauksena vapautua ioneiksi maaperään. Mekaaninen rapautuminen hajottaa maaperän kiveä hienojakoisemmaksi muun muassa lämpölaajenemisen seurauksena. Kemiallinen rapautuminen johtuu etenkin eliöiden elintoimintojen ja hajoamisen seurauksena syntyvistä happamista yhdisteistä. Happamat yhdisteet liuottavat mineraaleja vapauttaen positiivisia kationeja. Maaperän pH vaikuttaa muun muassa kemiallisen rapautumisen nopeuteen ja joidenkin ionien liukoisuuteen. Maaperän mineraalikoostumus määrää, millaisia ioneja maaperään kertyy. Toisaalta mineraalikoostumus vaikuttaa myös maaperän happamuuteen, joka taas vaikuttaa kemiallisen rapautumisen nopeuteen (Mauseth, 2019, s. 389–392).

Keskeinen maaperän pintakerroksen suolaantumista aiheuttava mekanismi on veden haihtuminen. Ylöspäin maaperässä liikkuva vesi kuljettaa samalla siihen liuenneita suoloja maaperän pintakerrokseen ja jättää ne haihtuessaan jälkeensä. Etenkin kuumilla ja kuivilla alueilla haihtuminen aiheuttaa huomattavaa maaperän suolaantumista. Rannikkoalueilla myös merivesi voi vaikuttaa maaperän suolaisuuteen. Entinen merenpohja voi edelleen sisältää meriveden suoloja jäljelle jääneessä merisedimentissä. Toisaalta myös tulviminen voi nostaa rannikkoalueen maaperän suolaisuutta. Merivesi voi myös kulkeutua lateraalisesti rannikkoalueella samaan vesivyöhykkeeseen kuuluvien sekä toisiinsa yhteydessä olevien pohjavesivarastojen ja jokien kautta (Daliakopoulos ym., 2016).

3.2. Sekundaarinen suolaantuminen

Suuri osa sekundaarisesta suolaantumisesta on kytköksissä maatalouteen ja erityisesti keinokasteluun. Arvioiden mukaan jopa 20 % maapallon keinokastellusta maasta kärsii suolaantumisesta. Vuosittain arviolta jopa 10 milj. hehtaaria maatalousmaata tuhoutuu suolaantumisen seurauksena (Manuel ym., 2017). Suoloja saattaa kertyä maaperään, mikäli käytetty kasteluvesi on suoloilla saastunutta. Toisaalta kastelumenetelmät voivat vapauttaa suoloja maaperästä. Liiallisen kastelun seurauksena pohjaveden pinta voi nousta luonnollista tasoa

korkeammalle ja kuljettaa suoloja maaperän ylempiin kerroksiin. Myös epätasainen tai liiallinen kastelu, huono vedenpoisto ja maanraivaus lisäävät suolaantumisen riskiä. Suoloja voi myös päätyä maaperään jätevesien, lannoitteiden ja joidenkin jäänestoaineiden mukana (Daliakopoulos ym., 2016).

Tulevaisuudessa ilmastonmuutos tulee vaikuttamaan maaperän suolaantumiseen merkittävästi myös primaarisen suolaantumisen mekanismien kautta. Esimerkiksi lämpötilan ja merenpinnan nousu altistavat suolaantumiselle. Myös nykytilanteessa suolastressittömille alueille saattaa tulevaisuudessa kehittyä haitallista suolaantumista. Suolaantumisen syiden ymmärtäminen ja ongelmien ehkäisyn merkitys korostuu globaalisti ilmastonmuutoksen seurauksena (Daliakopoulos ym., 2016). Erään arvion mukaan vuoteen 2050 mennessä jopa 50 % maapallon viljelykelpoisesta maa-alasta saattaa kärsiä suolaantumisesta (Manuel ym., 2017).

3.3. Suolastressin vaikutukset kasveihin

Kasville aiheutuvan suolastressin luonne riippuu osin maaperän tyypistä. Emäksisen maaperän tapauksessa kasvi kärsii etenkin myrkyllisyyden ja erilaisten puutosten aiheuttamista ongelmista. Natriumkloridilla saastunut maaperä taas vaikuttaa etenkin kasvin vesitasapainoon. Toisaalta natriumkationien ylimäärä aiheuttaa kovan kerroksen muodostumisen maaperän pinnalle, mikä voi estää kasvien itämisen. Maaperä voi olla myös yhdistelmä eri tyypeistä, jolloin vaikutukset kasveihin ovat moninaisia (Daliakopoulos ym., 2016). Yleisesti natriumkloridille tyypillisen suolastressin aiheuttamaa vastetta kasvissa voidaan kuvata kaksivaiheisesti. Ensimmäisessä vaiheessa kasvin kasvu heikkenee nopeasti vedenpuutteen seurauksena. Kasvi muun muassa sulkee ilmarakoja, mikä estää veden haihtumista, mutta vaikuttaa fotosynteesinopeuteen negatiivisesti. Suolastressin seurauksena kasvi saa vähemmän hiilidioksidia. Toinen vaihe on hitaampi, sillä se edellyttää ionien kertymistä kasviin. Ionien kertyminen johtaa lopulta myrkyllisyyteen, joka vaurioittaa kasvin solukkoja. Myös puutostilat ovat tyypillisiä muuttuneiden ionisuhteiden seurauksena. Lopulta suolastressi voi johtaa kasvin kuolemaan (Manuel ym., 2017). Solutasolla suolastressin haitalliset vaikutukset voidaan havaita esimerkiksi entsyymien vaurioitumisena, proteiinisynteesin estymisenä ja solukalvojen häiriintymisenä (Fileccia ym., 2017). Suolastressi vaikuttaa negatiivisesti myös kasvin fotosynteesikoneistoon. Esimerkiksi fotosysteemien välisen elektroniensiirtoketjun ja fotosysteemi II:n proteiinien on havaittu häiriintyvän suolastressin seurauksena (Chen ym., 2017).

Suolastressin ulkoisesti näkyviä vaikutuksia kasveissa ovat esimerkiksi kloroosi eli lehtien viherkato, lehtien nekroosi eli solukuolema, vähentynyt lehtien määrä ja kasvin lyhytkasvuisuus. Myös juurissa voi esiintyä poikkeavuuksia, kuten epätyypillistä ohentumista. Suolastressi aiheuttaa myös ravinnepuutoksille tyypillisiä oireita kasvissa, joita voi olla vaikeaa yhdistää suolastressiin. Vaikutusten luonne riippuu muun muassa muista ympäristöolosuhteista. On tärkeää muistaa, että maaperän kohonnut suolaisuus ei aina aiheuta kasville näkyviä haittoja. Joidenkin suolaisuutta hyvin sietävien kasvien biomassan tuotto voi jopa tehostua hetkellisesti suolaisissa kasvuolosuhteissa (Shannon & Grieve, 1998). Myös suolastressin kesto vaikuttaa näkyviin muutoksiin. Tyypillisesti suolastressi aiheuttaa aluksi kasvissa ainoastaan lehtien ja varren epätyypillistä roikkumista vesitasapainon ongelmien seurauksena (Manuel ym., 2017). Fileccia ym. (2017) havaitsivat tutkimuksessaan suolastressin vaikuttavan negatiivisesti etenkin durumvehnän (*Triticum aestivum*) juurten biomassan suuruuteen. Myös verson biomassassa voitiin havaita vähenemistä. Erityisesti vihreiden lehtien osuus verson biomassasta laski suolastressin seurauksena (Fileccia ym., 2017).

Kasveilla on omia mekanismeja suolastressin haittojen torjumiseen. Kasvit voivat säilöä ylimääräisiä ioneja solunesterakkuloihin tai vanhoihin solukoihin. Toisaalta kasvi voivat myös syntetisoida monenlaisia hyödyllisiä aineita, kuten entsyymaattisia ja ei-entsyymaattisia antioksidantteja (Rahman ym., 2021). Myös kasvin hormonitoiminnassa tapahtuu suolastressin seurauksena muutoksia, jotka pyrkivät ehkäisemään stressin negatiivisia vaikutuksia (Evelin ym., 2019). Halofyytit ovat elinympäristön suolaisuutta hyvin kestäviä kasveja. Osa halofyyteistä esiintyy suolaisissa ympäristöissä, joiden suolataso lähentelee jopa meriveden suolatasoa. On olemassa myös halofyyttejä, jotka voivat luonnossa menestyä sekä suolattomilla että suolaantuneilla alueilla. Halofyyttejä yhdistäviä tekijöitä ovat esimerkiksi tehokas antioksidanttikoneisto, suolarauhaset ja natriumionien säilöminen solukoita vahingoittamatta. Glykofyytit ovat kasveja, jotka kestävät huonosti suolaantumista ja suolastressiä (Rahman ym., 2021). Suolastressin vaikutukset halofyytteihin ja glykofyytteihin voivat olla huomattavan erilaisia. Myös keräsienijuuren vaikutusten on havaittu riippuvan osin kasviosakkaan luontaisesta sietokyvystä (Sanz-Seas ym., 2020). Monet nykyään viljellyt kasvit kestävät suolaisuutta huonosti, joten suolastressi uhkaa merkittävästi niiden biomassan tuottoa (Manuel ym., 2017).

4. Keräsienijuuren hyödyt kasvin suolastressin hallinnassa

Kasvin tuottamaa biomassaa käytetään yleensä sen yleistilan kuvaamiseen suolastressiä aiheuttavissa kasvuolosuhteissa. Yksinkertaistettuna, mitä paremmin kasvi tuottaa biomassaa, sitä paremmin se kestää suolastressin negatiivisia vaikutuksia. Suurentunut biomassa itsessään auttaa kasvia suolastressin sietämisessä, koska kasviin päätyvät ylimääräiset ionit voivat levittäytyä suurempaan tilavuuteen (Evelin ym., 2019). Biomassan kasvua tutkiessa voidaan eritellä erikseen juuren ja verson biomassaa. Näin voidaan hieman tarkemmin tarkastella sienijuurisynteesin vaikutuksia. Juurien biomassan kasvu on yhteyksissä parantuneeseen veden- ja ravinteidenottoon. Verson biomassan kasvu taas on yhteydessä pääsääntöisesti fotosynteesin tehokkuuteen (Sanz-Saez ym., 2020).

Sanz-Seas ym. (2020) tutkivat meta-analyysin avulla keräsienijuurisynteesin vaikutusta juurien ja varsojen biomassaan suolastressistä kärsivillä kasveilla. Yleisesti he havaitsivat keräsienijuurisynteesin ja tutkittujen kasvin kasvua kuvaavien parametrien välillä positiivisen trendin. Eroja keräsienijuuren vaikutuksessa kuitenkin löytyi muun muassa keräsieniryhmästä, suolastressin kestosta, kasviosakkaan yhteyttämismekanismista ja kasviosakkaan luokasta riippuen. Esimerkiksi kaksisirkkaisilla kasveilla keräsienijuuri vaikutti positiivisesti juuren biomassan kasvuun suolatasosta riippumatta. Yksisirkkaisilla kasveilla keräsienijuuren positiivinen vaikutus juuren biomassaan oli merkittävä vain suolaisissa olosuhteissa. Verson biomassan tapauksessa muun muassa keräsienisukujen välillä huomattiin eroja. Esimerkiksi *Claroideoglossum*-suvun sieniosakkaiden ei havaittu parantavan verson biomassaa merkittävästi suolaisissa olosuhteissa. *Funneliformis*-suvun sieniosakas taas paransi verson biomassaa merkittävästi sekä suolattomissa että suolaisissa olosuhteissa. Yleisesti vaikutti siltä, että keräsienijuuren positiivinen vaikutus biomassaan suureni suolataso suurentuessa etenkin verson biomassan tapauksessa. Myös kasvin suolastressin ajallinen pitkittyminen korosti sienijuuren positiivista vaikutusta (Sanz-Saez ym., 2020).

Maaperän korkean natriumkloridipitoisuuden seurauksena kasvin juurien ympärille voi muodostua ehtymisvyöhyke (eng. depletion zone). Ehtymisvyöhykkeellä ravinteiden määrä alentuu ympäristöön verrattuna kasvien oman ravinteidenoton ja suolaionien aiheuttaman ravinteiden saatavuuden heikkenemisen yhteisvaikutuksena (Evelin ym., 2019). Kuten jo todettiin, Sanz-Seas

ym. (2020) osoittivat keräsienijuuren usein vaikuttavan positiivisesti juuren biomassan kasvuun. Keräsienijuuri siis parantaa kasvin oman juuriston kattavuutta (Sanz-Saez ym., 2020). Toisaalta on tärkeää huomioida, että sieniosakkaan juuren ulkopuoliset rihmastot ulottuvat usein vielä kasvin juurtakin laajemmalle alueelle ehtymisvyöhykkeen ulkopuolelle, mikä tehostaa veden- ja ravinteidenottoa entisestään (Nguyen & Saito, 2021).

4.1. Ravinteet

Typpi ja fosfori ovat kasvin keskeisiä makroravinteita, joiden puute voi johtaa kasvun häiriöihin ja lehtien ennenaikaiseen vanhenemiseen (Evelin ym., 2019). Keräsienijuuren tiedetään vaikuttavan merkittävästi etenkin kasviosakkaan fosforin saantiin (Nguyen & Saito, 2021). Suolaionit kilpailevat ravinteiden kanssa kuljetuksesta juuriin, ja suolat voivat sitoa ravinteita saostamalla niitä (Evelin ym., 2019). Esimerkiksi maaperän tyyppi, muut mikro-organismit, maaperän käyttö ja ilmasto vaikuttavat lisäksi ravinteiden saatavuuteen. Keräsienijuuri voi auttaa kasviosakasta sekä mikro-että makroravinteiden osalta useilla tavoilla. Sienijuuri pystyy hyödyntämään maaperään sitoutuneita ravinteita liuottamalla niitä rihmastonsa avulla. Toisaalta sienijuuri voi myös mineralisoida orgaanista ainesta muotoon, josta se pystyy hyödyntämään orgaanisen aineksen ravinteita ja estämään ravinteiden huuhtoutumisen (Parihar ym., 2019).

Fosforin saannin tapauksessa maaperän vapaan fosfaatin eli ortofosfaatin (PO_4^{2-}) määrä on keskeinen määräävä tekijä (Nguyen & Saito, 2021). Keräsienijuuri voi vapauttaa saostunutta fosfaattia tuottamalla happamia tai emäksisiä fosfataaseja (Evelin ym., 2019). Kasvi voi ottaa ortofosfaattia maaperästä suoraan omien juuriensa avulla. Toisaalta sienijuuri kuljettaa myös ortofosfaattia kasviosakkaalle rihmastoensa avulla. Juuren ulkopuolinen rihmasto ottaa maaperästä ortofosfaattia ja muokkaa sen polyfosfaatiksi, joka siirtyy monimutkaisen kuljetusprosessin avulla juuren sisäiseen rihmastoon, missä polyfosfaatti depolymerisoituu. Monia kuljetusmekanismien reaktioita ei vielä tunneta yksityiskohtaisesti. Esimerkiksi mekanismista, jolla ortofosfaatti siirtyy kasviosakkaan ja sieniosakkaan väliseen tilaan ei ole vielä varmuutta. Myös polyfosfaatin hajoamisen sijaintiin liittyvä tieto on vielä osin puutteellista. Kasvin PAM-kalvossa tiedetään kuitenkin olevan keräsienijuurisymbioosille ominaisia fosforin kuljetusproteiineja, jotka kuuluvat H^+/Pi -symporttereihin eli samanaikaisesti ortofosfaattia ja protoneja kalvon yli siirtäviin kuljetusproteiineihin. Ortofosfaatin siirtäminen kerästä ympäröivän kalvon yli kasviin edellyttää siis

protonien elektrokemiallisen gradientin kalvon yli. Sieni- ja kasviosakkaan välisen tilan happamuutta ylläpidetään H⁺-ATPaasien avulla (Nguyen & Saito, 2021).

Myös typpeä muuttuu liikkumattomaan muotoon suolastressin seurauksena. Suolaionit kilpailevat nitraatti- ja ammoniumionien kanssa kuljetuksesta juuriin. Sienijuuren avulla kasvin typenotto tehostuu (Evelin ym., 2019). Sienijuuri pystyy hyödyntämään sekä orgaanista että epäorgaanista typpeä, mutta se suosii etenkin nitraattia ja ammoniumia. Esimerkiksi nitraatti on maaperässä tyypillisesti hyvin liikkuva ravinne, jota uhkaa kulkeutuminen pois juurien ulottuvilta liikkuvan veden mukana. Myös maaperän mikrobien aikaansaama denitrifikaatio vaikuttaa maaperän typen saatavuuteen, mutta keräsienijuuren vaikutuksista denitrifikaatioon ei tiedetä riittävästi. Kattavan rihmaston avulla sieniosakas voi kuitenkin tehokkaasti siirtää nitraattia omaan rihmastoonsa ja sen kautta myös kasviosakkaalle (Parihar ym., 2019).

Keräsienijuurisynteesin vaikutus voidaan havaita geenien säätelyn tasolla. Esimerkiksi Fileccia ym. (2017) havaitsivat tutkimuksessaan eron *NRT1.1*-geenin ilmentymistasossa sienijuurellisten ja sienijuurettomien kasvien välillä. Keräsienijuurellinen durumvehnä ilmensi kyseistä nitraattitransportteria huomattavasti sienijuurettomaa durumvehnää voimakkaammin sekä suolastressille altistettuna että suolastressittömänä. Kuitenkin vaikutuksen suuruus *NRT1.1*:n ilmentymistasoon pieneni hieman suolastressin seurauksena. Ero eri olosuhteiden välillä ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkittävä. *NRT1.1* oli tutkituista nitraatti- ja ammoniumtransporttereista ainoa, jonka ilmentymistasoon keräsienijuuri vaikutti selkeästi myös kasvualustan tyyppipitoisuuden ollessa optimaalinen. *NRT1.1*-geenin tiedetään typenkuljetuksen lisäksi vaikuttavan joissain tilanteissa esimerkiksi lehtien kehitykseen, kukintaan ja ilmarakojen valovasteeseen (Fileccia ym., 2017).

Mikroravinteiden osalta keräsienijuuren vaikutus on monimutkainen. Useissa tapauksissa sienijuuri saattaa parantaa kasvin mikroravinteiden saantia, mutta tämä riippuu esimerkiksi mikroravinteesta, kasvin ominaisuuksista ja maaperän muista mikrobeista. Maaperässä pääasiassa liikkumattomat ravinteet, kuten sinkki, ovat yleensä hyvin vähäisissä määrin saatavilla kasvin juurille. Laajan sienirihmaston avulla myös näiden ravinteiden juurten käytössä oleva määrä saattaa kasvaa. Toisaalta esimerkiksi mangaanin saatavuus juurille saattaa keräsienijuuren seurauksena jopa heikentyä, koska keräsienijuuri vaikuttaa positiivisesti mangaania hapettaviin bakteereihin, ja kasvin

juuret suosivat pääasiassa pelkistettyä mangaania. Sieniosakas ei myöskään aina kuljeta ravinteita kasviosakkaan käyttöön, vaan osa niistä saattaa sitoutua sienien omiin soluihin (Parihar ym., 2019).

4.2. Maaperä

Suolastressi vaikuttaa maaperän laatuun negatiivisesti. Etenkin natriumkationien kertymisen tiedetään heikentävän maaperän rakennetta (Daliakopoulos ym., 2016). Natriumionien tiedetään esimerkiksi heikentävän maaperän aggregaatiota ja vähentävän orgaanisen hiilen määrää. Myös maaperän biodiversiteetti kärsii suolaantumisesta (Rahman ym., 2021). Yleisesti keräsienijuuren voidaan todeta parantavan maaperän laatua. Sienijuuri erittää glomaliinia, joka edistää aggregaatiota ja maaperän hapen riittävää saatavuutta. Maaperän aggregoituneiden partikkelien väliin jää siis tilaa hapen diffuusiolle, mikä estää anaerobisten olosuhteiden syntymisen. Hapen saatavuus vaikuttaa maaperän mikrobikoostumukseen ja diversiteettiin. Sienijuuri toimii siis itse osana maaperän fysikaalista ympäristöä aggregoimalla maaperän partikkeleita ja toisaalta muovaamalla välillisesti maaperän mikrobistoa (Parihar ym., 2019). Keräsienijuuren tiedetään myös suojaavan kasviosakasta maaperän patogeenisiltä organismeilta, mikä edistää välillisesti myös suolastressistä kärsivien kasvien selviytymistä (Chang ym., 2018).

4.3. Ionitasapaino

Yleisimmästä suolastressin aiheuttajasta eli natriumkloridista johtuvan suolastressin tapauksessa maaperän natriumionien määrä on suuri. Kyseiset ionit siis korostuvat kasvin solukoissa muihin ioneihin nähden. Tämä pienentää $K^+ : Na^+$ -suhdetta, mikä voi vaikuttaa entsyymien aktiivisuuteen ja fotosynteesiin. Keräsienet voivat auttaa kasviosakasta natriumionien siirtämisessä pois ionitasapainon häiriöille herkistä solukoista tai kasvisolun osista, kuten yhteyttämissolukosta. Myös natriumionien kuljetuksen säätelyssä sienijuuret voivat vaikuttaa kasvin kuljettajaproteiinien määrään samoin kuin ravinteiden kuljetuksen yhteydessä (Evelin ym., 2019).

Chang ym. (2018) tutkivat keräsienijuurisymbioosin vaikutusta kalium-, kalsium- ja magnesiumionien kertymiseen suolastressille altistettujen idänhopeapensaiden (*Elaeagnus augustifolia*) solukoihin. He havaitsivat sienijuuren parantavan kyseisten mikroravinteiden ottoa ja homeostaattisten ionisuhteiden ylläpitoa kasvissa. Parantunut ionitasapainon säätely saattaa olla yhteydessä esimerkiksi parantuneeseen entsyymiaktiivisuuteen (Chang ym., 2018). Antioksidatiiviset entsyymit voivat käyttää mikroravinteina otettuja metallikationeja kofaktoreina

(Evelin ym., 2019). Myös Chen ym. (2017) havaitsivat, että keräsienijuuri vaikuttaa etenkin lehtiin kertyvien ionien määrään suolastressistä kärsivillä valeakaasioilla (*Robinia pseudoacacia*). Sienijuurellisten kasvien lehtiin kertyi suolaisissa kasvuolosuhteissa vähemmän natriumioneja kuin sienijuurettomien kasvien lehtiin samoissa olosuhteissa. Toisaalta lehtiin kertyi suolastressistä kärsivillä sienijuurellisilla kasveilla enemmän kaliumioneja kuin sienijuurettomilla kasveilla. Sienijuuri näyttää siis auttavan kasvia ylläpitämään lehdissä homeostaattista K^+Na^+ -suhdetta ainakin kohtalaisessa suolatasossa (100 mM). Erytisesti lehtien suojele ionisuhteiden liiallisilta muutoksilta on tärkeää, koska haitalliset muutokset saattavat johtaa fotosynteesikoneiston vaurioihin. Juuriin kertyvien ionien määrässä ei kyseisessä tutkimuksessa havaittu yhtä merkittävää eroa sienijuurellisten ja sienijuurettomien kasvien välillä missään kasvuolosuhteissa. Juurissa ionisuhteen muutoksella ei välttämättä ole yhtä haitallisia vaikutuksia kuin lehdissä (Chen ym., 2017).

Ionien kuljetusta säätelevät geenit vaikuttavat ionien kertymiseen eri solukoihin. Esimerkiksi *RpSOS1* on valeakaasian geeni, joka ohjaa kasvin juurissa natriumionien siirtämistä apoplastiseen tilaan tai kokonaan ulos kasvin solukoista (Chen ym., 2017). Chen ym. (2017) havaitsivat keräsienijuurisympioosin kasvattavan kyseisen geenin ilmentymistasoa suolastressin aikana. Vaikka sienijuurella ei havaittukaan olevan merkittävää vaikutusta juuren natriumkonsentraatioon, juuren soluissa tapahtuva natriumin kuljetus vaikutti välillisesti myös lehtien natriumkonsentraatioon. Myös joidenkin muiden samankaltaisten geenien ilmentymistasossa havaittiin suolastressiä torjuvia vaikutuksia sienijuuren ansiosta. Nämä geenit vaikuttivat esimerkiksi natriumin siirtämiseen puusolukkoon kasvin versoon tapahtuvaa kuljetusta varten (Chen ym., 2017).

4.4. Nestetasapaino

Keräsienijuuri vaikuttaa ionitasapainon lisäksi myös nestetasapainon säätelyyn eli osmoregulaatioon. Vesi virtaa suuremmasta osmoottisesta potentiaalista pienempään sitä voimakkaammin, mitä suurempi potentiaaliero on. Suolaionien suurentunut määrä pienentää maaperän osmoottista potentiaalia eli vaikeuttaa veden virtausta maaperästä juuriin, koska potentiaaliero näiden välillä pienenee (Evelin ym., 2019). Akvaporiniitit ovat kalvon läpäiseviä proteiineja, joita pitkin vesimolekyylit sekä jotkin liukoiset molekyylit voivat kulkea. Akvaporiniineja voidaan jaotella useisiin homologisiin ryhmiin, kuten vakuolikalvon proteiineihin (eng. tonoplast intrinsic proteins (TIPs)), solukalvon kalvoproteiineihin (eng. plasma membrane intrinsic proteins

(PIPs)) ja nodin-26:n kaltaisiin kalvoproteiineihin (eng. nodin-26 like intrinsic proteins (NIPs)). Keräsienijuuren vaikutus akvaporiniineihin näyttäisi aikaisemman tutkimuksen perusteella olevan monimutkainen. Akvaporiniineit saavat yhdessä aikaan vesitasapainon ylläpidon, joten niitä täytyy säädellä kokonaisuutena (Cheng ym., 2021).

Cheng ym. (2021) tutkivat keräsienijuuren vaikutusta kolmilehtisitruksen (*Poncirus trifoliata*) akvaporiniineiden ilmentymistasoon. He havaitsivat, että kaikkien tutkittujen akvaporiniineiden ilmentyminen oli voimakkaampaa keräsienijuurellisilla kasveilla sienijuurettomiin kasveihin verrattuna suolastressiä aiheuttavissa olosuhteissa. Tutkitut geenit olivat *PIP*-, *TIP*- ja *NIP*-geenejä. Keräsienijuuri siis vaikutti parantavan kasvin vesitasapainon ylläpitoa suolastressin aikana. Toisaalta tutkimuksessa havaittiin keräsienijuuren vaikuttavan akvaporiniineiden ilmentymistasoon myös vedellä kyllästetyissä kasvuolosuhteissa. Vedellä kyllästetyissä olosuhteissa joidenkin tutkittujen akvaporiniineiden ilmentyminen oli vähäisempää keräsienijuurellisilla kasveilla verrattuna sienijuurettomiin kasveihin. Tämä saattaa ehkäistä veden liiallista kertymistä kasvin solukoihin. Keräsienijuurellisen kasvin stressivaste näyttää siis mukautuvan erilaisiin tilanteisiin (Cheng ym., 2021).

Toisaalta Fileccia ym. (2017) havaitsivat tutkimuksessaan suolastressin kasvattavan kuivuuden aiheuttamaa stressiä ilmaisevien geenien (*AQP1*, *AQP4*, *PIP1*, *NAC8*, *DREB5*, *DREB6* ja *DHN15.3*) ilmentymistä. Kasvin kokema suolastressi on useissa tapauksissa hyvin samankaltaista kuin kuivuuden aiheuttama stressi johtuen vesitasapainon säätelyn ongelmista. Lisäksi sienijuurettomilla kasveilla näiden geenien ilmentyminen vaikutti olevan voimakkaampaa kuin sienijuurellisilla kasveilla. Vain *NAC8*-geenin tapauksessa sienijuurisymbioosi ei aiheuttanut lainkaan merkittävää vaikutusta ilmentymistasoon suolastressistä kärsivillä kasveilla. Lisäksi *DREB6*-geenin ilmentyminen suolattomissa olosuhteissa oli sienijuurellisilla kasveilla voimakkaampaa kuin sienijuurettomilla kasveilla. Yleisesti sienijuuri näyttää siis tämän perusteella suojaavan kasvia kuivuuden aiheuttamalta stressiltä, sillä se pääasiassa pienentää stressiä merkitsevien geenien ilmentymistasoa (Fileccia ym., 2017).

Sienijuuri voi myös auttaa kasviosakasta osmolyyttien avulla. Osmolyytit ovat pienimolekyylisiä orgaanisia liuottimia, jotka eivät ole kasville myrkyllisiä huomattavan korkeissa konsentraatioissa. Osmolyyttien avulla kasvi voi alentaa juuriensa osmoottista potentiaalia, mikä tehostaa veden virtausta maaperästä juuriin eli parantaa kasvin vedenottoa. Sienijuurelliset kasvit

voivat hyödyntää osmolyyttejä, kuten proliinia, polyamineja ja erilaisia sokereita vesitasapainon vahvistamiseen sienijuurettomia kasveja tehokkaammin. Osmolyyttien konsentraatiomuutokset keräsienijuurisymbioosin ansiosta saattavat vaikuttaa kasvissa välillisesti esimerkiksi hapetusstressin säätelyyn (Evelin ym., 2019).

Beltrano ym. (2013) havaitsivat paprikoilla (*Capsicum annuum* L.) suorittamassaan kasvihuonetutkimuksessa suolastressin nostavan proliinin määrää juurissa ja lehdissä sekä sienijuurettomilla että sienijuurellisilla kasveilla. He tarkastelivat suolatasoa lisäksi myös typpimäärän vaikutusta kyseiseen vasteeseen. Kasvin juurissa proliinipitoisuus kasvoi suolatasoa kohotessa enemmän sienijuurellisilla kasveilla kuin sienijuurettomilla kasveilla molemmissa tutkituissa typpitasoissa. Proliinipitoisuus oli kuitenkin sienijuurellisten kasvien lehdissä suurempi ainoastaan matalammassa typpitasossa suolatasosta riippumatta, verrattuna sienijuurettomiin kasveihin. Korkeammassa typpitasossa kasvatettujen kasvien tapauksessa sienijuurellisuus ei parantunut proliinipitoisuutta lehdissä riippumatta suolastressistä. Sienijuurisymbioosi ei siten aina nostanut kasvin solukoiden proliinipitoisuutta. Etenkin kasvin juurien tapauksessa sienijuuren ja kohonneen proliinipitoisuuden välillä havaittiin kuitenkin yhteys. Proliini on siis hyvä esimerkki siitä, että keräsienijuuren vaikutus osmolyytin konsentraatioon suolastressin aikana voi riippua monesta tekijästä, kuten kasvilajista, saatavilla olevista ravinteista ja tutkittavasta kasvin osasta (Beltrano ym., 2013).

4.5. Hapetusstressi

Hapetusstressi eli oksidatiivinen stressi kasveissa johtuu happiradikaalien liian korkeaksi nousseesta määrästä. Kasvin happiradikaaleja ovat esimerkiksi vetyperoksidi (H_2O_2), hydroksidi (OH^-) ja superoksidi (O_2^-). Happiradikaaleja syntyy jatkuvasti soluelimissä kuten mitokondrioissa ja viherhiukkasissa (Rahman ym., 2021). Happiradikaalit eivät välttämättä ole automaattisesti haitallisia kasville, vaan niitä tarvitaan myös monissa signaalikaskadeissa. Happiradikaalit voivat siis sekä aiheuttaa että säädellä hapetusstressiä. Esimerkiksi etyleeni vaikuttaa todennäköisesti laajasti happiradikaalitasojen ylläpitoon ja säätelyyn suolastressille altistuneissa kasveissa. Happiradikaalien sopivan tason ylläpitäminen taas vaikuttaa esimerkiksi ionien kertymisen säätelyyn (Zhang ym., 2016).

Keräsienijuuren tiedetään auttavan kasvia suolastressin aiheuttaman hapetusstressin hallinnassa tehostamalla kasvin antioksidanttikoneiston toimintaa. Kasvien entsyymattisia antioksidantteja ovat esimerkiksi superoksididismutaasi (SOD), katalaasi (CAT), askorbaatti peroksidaasi (APX) ja glutathionireduktaasi (GR). Muita kasvin antioksidanttimolekyylejä ovat esimerkiksi karotenoidit ja asetyylisalisyylihappo (AsA) (Evelin ym., 2019). Chang ym. (2018) havaitsivat idänhopeapensailla keräsienijuurellisten taimien lehtien SOD:n, APX:n ja CAT:n aktiivisuuden olevan suurempi kuin ei-sienijuurellisissa vertailukasveissa suolaisissa olosuhteissa. Havaittu entsyymiaktiivisuuden parantuminen saattaa selittyä ionihomeostasian säätelyn tehostumisella (Chang ym., 2018). Vähentämällä hapetusstressiä keräsienijuuri suojelee kasvisolujen keskeisiä kalvorakenteita. Esimerkiksi haitallisten ionien säilöminen solunesterakkuloihin ja aineiden kuljetuksen säätely kasvisoluissa edellyttävät kalvorakenteiden oikeanlaista toimintaa (Fileccia ym., 2017).

4.6. Fotosynteesi

Sanz-Saez ym. (2020) havaitsivat, että keräsienijuurisymbioosi vaikuttaa useissa tapauksissa merkittävästi fotosynteesin tehokkuuteen suolastressille altistuneissa kasveissa. Positiivinen vaikutus voitiin havaita muun muassa fotosynteesinopeudessa (eng. rate of photosynthesis) ja klorofylli-a:n määrässä (eng. chlorophyll a content). Eri parametrien välillä oli kuitenkin eroja esimerkiksi suolastressin merkityksessä ja muutoksen suuruudessa. Fotosynteesinopeus parani keräsienijuurellisissa kasveissa keräsienijuurettomiin kasveihin verrattuna kaikissa olosuhteissa. Kuitenkin keräsienijuuren positiivinen vaikutus fotosynteesinopeuteen oli suurimmillaan juuri suolaisissa kasvuolosuhteissa (Sanz-Saez ym., 2020). Chen ym. (2017) havaitsivat myös suolastressin vaikuttavan negatiivisesti nettofotosynteesinopeuteen (eng. net photosynthetic rate), mutta negatiivinen vaikutus oli vähäisempi sienijuurellisilla kasveilla verrattuna sienijuurettomiin kasveihin (Chen ym., 2017). Suolastressin aiheuttaman stressireaktion kasvissa tiedetään johtavan ilmarakojen johtokyvyn pienenemiseen, sillä kasvi puolustautuu vedenpuutetta vastaan sulkemalla ilmarakoja (Manuel ym., 2017). Fotosynteesinopeuden paraneminen keräsienijuurellisilla kasveilla on todennäköisesti yhteydessä parantuneeseen hiilidioksidin kuljetukseen ilmarakojen johtokyvyn kasvun seurauksena (Chen ym., 2017).

Chen ym. (2017) havaitsivat suolastressin vähentävän ilmarakojen johtokykyä sekä keräsienijuurellisilla että sienijuurettomilla kasveilla. Suolastressille altistuneiden keräsienijuurellisten kasvien ilmarakojen johtokyky oli hieman parempi kuin sienijuurettomien

kasvien. Ero ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkittävä (Chen ym., 2017). Sanz-Saez ym. (2020) kuitenkin havaitsivat keräsienijuurisymbioosin ja ilmarakojen johtokyvyn välillä selkeän positiivisen trendin. Vaikutus ilmarakojen johtokykyyn voi siis vaihdella esimerkiksi kasvilajien välillä, mutta yleisesti sienijuuren vaikutus siihen on positiivinen. (Sanz-Saez ym., 2020). Keräsienijuuren voi ajatella vaikuttavan useilla tavoilla fotosynteesiin jo aiemmin tarkasteltujen mekanismien kautta. Esimerkiksi vesitasapainon ylläpitäminen, parantunut ravinteiden saanti ja antioksidanttikoneiston vahvistaminen tehostavat samalla myös fotosynteesikoneiston toimintaa ja estävät vaurioita (Evelin ym., 2019). Aikaisemmin käsitellyllä ionitasapainon säätelyllä todettiin myös olevan merkitystä lehtien fotosynteesikoneistojen suojaamisessa (Chen ym., 2017).

5. Suolastressin vaikutus sieniosakkaaseen

Sienijuuren kasville aikaansaamien laajojen positiivisten vaikutusten lisäksi on tärkeää miettiä, miten suolastressi vaikuttaa sieniosakkaaseen ja sen kykyyn muodostaa keräsienijuurisymbioosi. Chen ym. (2017) havaitsivat sienijuurellisten kasvien juuristossa sienikolonisaation vähenevän noin 10 prosenttiyksikköä suolatason noustessa suolattomuudesta (0 mM) vakavaan suolaantumiseen (200 mM). Sienikolonisaation osuus juurissa oli kuitenkin aina yli 70 % eli tutkittujen kasvien juuristosta valtaosa oli sienijuurellista. Vaikuttaa siis siltä, että sienijuuri kestää kohtuullisen hyvin suolakonsentraation nousua, mutta maaperän kasvava suolaisuus vähentää kuitenkin jonkin verran keräsienien kykyä muodostaa sienijuuri. Suolastressin tiedetään vaikuttavan sienijuuriin negatiivisesti hidastamalla rihmastojen ja itiöiden kasvua (Chen ym., 2017). Myös Beltrano ym. (2013) havaitsivat suolastressin vähentävän paprikoiden sienijuurellisen juuriston määrää. He kuitenkin havaitsivat kasvatusalustan hyvän fosforitason suojaavan sienijuurta suolastressin aiheuttamalta vähenemiseltä. Suolastressin havaittiin fosforin saatavuudesta huolimatta vaikuttavan erityisen haitallisesti sienijuuren vesikkeliin määrään. Myös säilyneen sienijuuren elävyys laski suolatason noustessa fosforin saatavuudesta riippumatta (Beltrano ym., 2013).

6. Pohdinta ja tulevaisuuden näkymät

Tutkielmassa käsitellyn aineiston perusteella keräsienijuurisymbioosin positiiviset vaikutukset kasvin suolastressin sietokykyyn ovat merkittäviä, monipuolisia ja toisiinsa kytkeytyneitä. Vaikutukset ovat kuitenkin usein lajikohtaisia sekä sienilajin että kasvilajin näkökulmasta.

Keräsienijuuren vaikutus ravinteiden saatavuuteen ja ionitasapainoon heijastuu muihin positiivisiin vaikutuksiin kuten fotosynteesin tehostumiseen ja hapetusstressin torjumiseen. Lisäksi muut bioottiset ja abiottiset tekijät, kuten ravinteiden saatavuus, näyttävät vaikuttavan suolastressin hallinnassa. On tärkeää myös muistaa, ettei keräsienisymbioosi lukuisista positiivisista vaikutuksistaan huolimatta ratkaise kaikkia kasvin ongelmia. Vakava suolastressi uhkaa symbioosista huolimatta kasvia ja toisaalta myös sieniosakasta. Sienijuurisymbioosi ei myöskään aina vaikuta kaikkiin parametreihin yksiselitteisen positiivisesti, koska taustalla saattaa vaikuttaa monimutkaisempia säätelyjärjestelmiä ja toisiinsa kytkeytyneitä ominaisuuksia.

Keräsienijuurten vaikutuksien tutkimisessa kasvin suolastressin hallintaan on keskitytty etenkin kasvin eri solukoiden ionisuhteiden ja osmolyytti- sekä antioksidanttikonsentraatioiden selvittämiseen. Monia taustalla olevia molekyyli- ja geenitason mekanismeja ei kuitenkaan vielä tunneta riittävän yksityiskohtaisesti ilmiön ymmärtämiseksi kokonaisvaltaisesti. Lisäksi keräsienijuuren yhteyttä kaikkiin suolastressin vaikutuksiin ei vielä tunneta. Esimerkiksi suolastressin aiheuttamia lipidiaineenvaihdunnan muutoksia ja keräsienijuuren mahdollista vaikutusta lipidiaineenvaihduntaan ei ole tutkittu riittävästi (Evelin ym., 2019). Aiheen tutkimus on pohjautunut pääasiassa kontrolloiduissa olosuhteissa tapahtuvaan tutkimukseen, jossa kasvin juurien mikrobiomia on tarkasteltu suppeasti vain muutamien keräsienilajien ja -linjojen näkökulmasta. Tulevaisuudessa myös luonnon olosuhteita paremmin kuvaavaa tutkimusta tarvitaan aikaisempaa enemmän (Sanz-Saez ym., 2020).

Lisäksi tulevaisuuden tutkimuksessa on tärkeää selvittää keräsienijuurisymbioosin ja muiden tekijöiden yhteisvaikutusta kasvin suolastressin hallinnassa. Tutkimuksen arvoisia ovat esimerkiksi muut juurten symbiontit ja maaperän epäorgaaniset aineet. Esimerkiksi Hashem ym. (2016) tutkivat *acacia gerrardii* -akaasian endofyyttisten bakteerien ja sienijuuren yhteisvaikutusta suolastressin hallinnassa. He havaitsivat näiden kahden symbionttityypin yhdessä muun muassa parantavan kasvin biomassan tuottoa, mikä kertoo kasvin yleistilan parantumisesta. Sienijuuren ja muiden tekijöiden vuorovaikutuksen tutkiminen avaa uusia ovia tulevaisuuden maatalouden kannalta tärkeiden biolannoitteiden kehityksessä (Hashem ym., 2016).

7. Lähdeluettelo

- Beltrano, J., Ruscitti, M., Arango, M. C., & Ronco, M. (2013). Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(1), 123–141. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000012>
- Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108–1115. <https://doi.org/10.1111/NPH.14976/FORMAT/PDF>
- Chang, W., Sui, X., Fan, X. X., Jia, T. T., & Song, F. Q. (2018). Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response and ion distribution in salt-stressed *Elaeagnus angustifolia* seedlings. *Frontiers in Microbiology*, 9(4), 652. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.00652/BIBTEX>
- Chen, J., Zhang, H., & Zhang, X., Tang, M. (2017). Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Alleviates Salt Stress in Black Locust through Improved Photosynthesis, Water Status, and K + /Na + Homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 8, artikkeli 1738. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01739>
- Cheng, X. F., Wu, H. H., Zou, Y. N., Wu, Q. S., & Kuča, K. (2021). Mycorrhizal response strategies of trifoliolate orange under well-watered, salt stress, and waterlogging stress by regulating leaf aquaporin expression. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 27-35. doi:10.1016/j.plaphy.2021.02.026
- Daliakopoulos, I. N., Tsanis, I. K., Koutroulis, A., Kourgialas, N. N., Varouchakis, A. E., Karatzas, G. P., & Ritsema, C. J. (2016). The threat of soil salinity: A European scale review. *Science of The Total Environment*, 573, 727–739. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.08.177>
- Evelin, H., Devi, T. S., Gupta, S., & Kapoor, R. (2019). Mitigation of salinity stress in plants by arbuscular mycorrhizal symbiosis: Current understanding and new challenges. *Frontiers in Plant Science*, 10, artikkeli 470. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00470/BIBTEX>
- Fileccia, V., Ruisi, P., Ingraffia, R., Giambalvo, D., Frenda, A. S., & Martinelli, F. (2017). Arbuscular mycorrhizal symbiosis mitigates the negative effects of salinity on durum wheat. *PLoS ONE*, 12(9), artikkeli e0184158. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0184158>
- Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Al-Huqail, A. A., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2016). The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. *Frontiers in Microbiology*, 7(7), artikkeli 1089. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01089/BIBTEX>
- Imhof, S. (2009). Arbuscular, ecto-related, orchid mycorrhizas-three independent structural lineages towards mycoheterotrophy: Implications for classification? *Mycorrhiza*, 19(6), 357–363. <https://doi.org/10.1007/S00572-009-0240-7/TABLES/1>
- Kamel, L., Keller-Pearson, M., Roux, C., & Ané, J. M. (2017). Biology and evolution of arbuscular mycorrhizal symbiosis in the light of genomics. *New Phytologist*, 213(2), 531–536. <https://doi.org/10.1111/NPH.14263>
- Manuel, R., Machado, A., Serralheiro, R. P., Alvino, A., Freire, M. I., & Ferreira, R. (2017). Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth. Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. *Horticulturae*, 3(2), artikkeli 30. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>

- Mateus, I. D., Auxier, B., Ndiaye, M. M. S., Cruz, J., Lee, S., Sanders, I. R. (2022). Reciprocal recombination genomic signatures in the symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus irregularis*. *PLoS ONE*, 17(7), artikkeli e0270481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270481>
- Mauseth, J. D. (2019). Soils and Mineral Nutrition. Teoksessa *Botany: An Introduction to Plant Biology* (7th ed.). Jones & Bartlett Learning.
- Nguyen, C. T., & Saito, K. (2021). Role of Cell Wall Polyphosphates in Phosphorus Transfer at the Arbuscular Interface in Mycorrhizas. *Frontiers in Plant Science*, 12, artikkeli 725939. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.725939/BIBTEX>
- Parihar, M., Meena, V. S., Mishra, P. K., Rakshit, A., Choudhary, M., Yadav, R. P., Rana, K., & Bisht, J. K. (2019). Arbuscular mycorrhiza: a viable strategy for soil nutrient loss reduction. *Archives of Microbiology*, 201(6), 723–735. <https://doi.org/10.1007/S00203-019-01653-9>
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763–775. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>
- Pons, S., Fournier, S., Chervin, C., Bé Card, G., Rochange, S., Frei, N., Frey, D., & Pagèsid, V. P. (2020). Phytohormone production by the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *PLoS ONE*, 15(10), artikkeli e0240886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240886>
- Rahman, M. M., Mostofa, M. G., Keya, S. S., Siddiqui, M. N., Ansary, M. M. U., Das, A. K., Rahman, M. A., & Tran, L. S. (2021). Molecular Sciences Adaptive Mechanisms of Halophytes and Their Potential in Improving Salinity Tolerance in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), artikkeli 10733. <https://doi.org/10.3390/ijms221910733>
- Ropars, J., Toro, K. S., Noel, J., Pelin, A., Charron, P., Farinelli, L., Marton, T., Krüger, M., Fuchs, J., Brachmann, A., & Corradi, N. (2016). Evidence for the sexual origin of heterokaryosis in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature Microbiology*, 1(6), artikkeli 16033. <https://doi.org/10.1038/NMICROBIOL.2016.33>
- Sanz-Saez, A., Bunn, R., G Dastogeer, K. M., Okazaki, S., Ishrat Zahan, M., Tahjib-Ul-Arif, M., & Arjina Akter, M. (2020). Plant Salinity Tolerance Conferred by Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Associated Mechanisms: A Meta-Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 11, artikkeli 588550. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588550>
- Shannon, M. C., & Grieve, C. M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78(1–4), 5–38. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00189-7)
- Zhang, M., Smith, J. A. C., Harberd, N. P., & Jiang, C. (2016). The regulatory roles of ethylene and reactive oxygen species (ROS) in plant salt stress responses. *Plant Molecular Biology*, 91(6), 651–659. doi:10.1007/s11103-016-0488-1