

Tartu Ülikool  
Loodus- ja täppisteaduste valdkond  
Ökoloogia ja maateaduste instituut

Mari-Liis Kirsimägi

**SUURENDATUD ÕHUNIISKUSE MÕJU ARUKASE (*Betula pendula* Roth.) JA  
HÜBRIIDHAAVA (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) VALGUSKAITSE  
STRATEEGIALE**

Bioloogia eriala  
Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: PhD Pille Mänd  
MSc Linda Rusalepp

Tartu 2018

## **Suurendatud õhuniiskuse mõju arukase (*Betula pendula* Roth.) ja hübriidhaava (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) valguskaitse strateegiatele**

Lühikokkuvõte

Eestis on tulevikus prognoositud aasta keskmise sademete hulga ja seega keskmise õhuniiskuse suurenemist. Selle võimaliku mõju uurimiseks Eesti metsaökosüsteemidele on rajatud FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) katseala, kus manipuleeritakse suurenenud õhuniiskusega Eesti metsanduses kasutatavaid kiirekasvulisi puid. Antud töö eesmärgiks oli uurida suurenenud õhuniiskuse mõju arukase (*Betula pendula* Roth.) ja hübriidhaava (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) fotosünteesi efektiivsusele ja valguskaitse strateegiatele rakendamisele kasvuperioodi erinevates faasides. Selleks mõõdeti kolmel korral kasvuperioodi jooksul lehtede klorofüllü fluorestsentsi parameetreid ning määrati nende pigmentide sisaldus. Tulemustest selgus, et arukased hoidsid suve vältel suurendatud õhuniiskuse tingimustes hübriidhaabadest efektiivsemalt fotokeemilist võimekust stabiilsena. Arukased suurendasid kõrgema õhuniiskuse tingimustes suve lõpu poole karotenoidide kontsentratsiooni ja vähendasid valguspüüdvate antennikomplekside osakaalu. Hübriidhaaval oli kõrgema õhuniiskuse tingimustes suurenenud karotenoidide vahendatud mittefotokeemilise kustutamise aktiivsus. Sügisel oli oluliseks valguskaitse mehhanismiks ka antotsüaniinide kogunemine. Käesolev töö näitas, et suurenenud õhuniiskus lükkas hübriidhaaval lehtede vananemist edasi.

Märksõnad: õhuniiskuse suurendamine, valguskaitse, fotosüntees, klorofüllü fluorestsents, arukask, hübriidhaab.

CERCS kood: B270 Taimeökoloogia

## **Effects of increased air humidity on photoprotective mechanisms in silver birch (*Betula pendula* Roth.) and hybrid aspen (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.)**

Abstract

As a consequence of global climate change, annual precipitation and atmospheric air humidity are predicted to increase in Estonia. To study possible effects of this on Estonian forest ecosystems, FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) experimental facility has been established, where fast growing tree species commonly used in forestry are manipulated with

humidity treatments. The aim of the present thesis is to study the effect of increased atmospheric air humidity on photosynthetic efficiency and utilization of photoprotective mechanisms in silver birch (*Betula pendula* Roth.) and hybrid aspen (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) during different phases of the growing season. Chlorophyll fluorescence parameters and leaf pigment concentrations were measured three times during the growing season. The results show that during the summer, silver birch retained high photosynthetic efficiency in increased air humidity as opposed to hybrid aspen whose photosynthetic efficiency declined in August. Silver birch acclimated to elevated air humidity by increasing leaf carotenoid concentration and decreasing the proportion of light capturing complexes. In response to elevated air humidity, hybrid aspen increased the activity of carotenoid-mediated non-photochemical quenching. In the fall, anthocyanin accumulation was also an important photoprotective mechanism. Increased air humidity delayed leaf senescence in hybrid aspen.

Keywords: increased air humidity, photoprotection, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, silver birch, hybrid aspen.

CERCS code: B270 Plant ecology

## SISUKORD

1. SISSEJUHATUS .....	5
1.1. Taimede valguskaitse mehhanismid .....	5
1.1.1. Ülevaade fotosünteesist ja valguskaitsest .....	5
1.1.2. Karotenoidide roll valguskaitsest .....	6
1.1.3. Antotsüaniinide roll valguskaitsest .....	8
1.2. Suurenenud õhuniiskuse mõju puu füsioloogiale .....	8
1.3. Bakalaureusetöö eesmärgid .....	10
2. METOODIKA .....	11
2.1. FAHM katseala kirjeldus .....	11
2.2. Fluorestsentsi parameetrite mõõtmine .....	11
2.3. Pigmentide analüüs .....	13
2.4. Statistiline analüüs .....	14
3. TULEMUSED .....	15
3.1. Fluorestsentsi parameetrid .....	15
3.2. Pigmentide sisaldus .....	17
4. ARUTELU .....	22
4.1. Fotosüntees ja valguskaitse kasvuperioodi keskel .....	22
4.2. Valguskaitse lehtede vananemisel .....	24
KOKKUVÕTE .....	27
SUMMARY .....	28
TÄNUAVALDUSED .....	29
KASUTATUD KIRJANDUS .....	30

# 1. SISSEJUHATUS

## 1.1. Taimede valguskaitse mehhanismid

### 1.1.1. Ülevaade fotosünteesist ja valguskaitsest

Taimed on fototroopsed organismid ehk vajavad oma elutegevuseks päikesevalgust. Valgustingimused on keskkonnas nii ruumis kui ajas väga varieeruvad ning taimed peavad sageli taluma liigset päikesekiirgust. Valgusstress tekib siis, kui taim ei suuda neelatud valgusenergiat fotosünteesis ära kasutada. Selline olukord võib tekkida kas fotosünteesi efektiivsuse langedes või neelatud energia mahu suurenedes. Varjutingimustega kohanenud lehtede võime end ülemäärase valgusenergia eest kaitsta on väike. Kõrge valgusintensiivsuse tingimustes arenenud leht on aga lisastressi puudusel võimeline enamuse neelatud energiast fotosünteesis ja valguskaitse protsessides hajutama. Lisastressi mõjul langeb fotosünteesi efektiivsus ning valguskaitse tugevneb (Demmig-Adams & Adams III, 1992).

Footonite neelamine fotosünteesis toimub fotosüsteem I (PSI) ja II-ga (PSII) seotud antennipigmentide (peamiselt klorofüll) poolt. Valguse neeldumine viib klorofüll ergastunud ühevalentse oleku ( $^1\text{Chl}^*$ ) tekkeni, mille energia kantakse klorofüll molekulide kaudu fotosüsteemi reaktsioonitsentrisse, kus seda kasutatakse fotokeemiliste protsesside käivitamiseks. Valgusreaktsioonides neelatud energia kasutatakse peamiselt  $\text{CO}_2$  redutseerimiseks (Lambers *et al.*, 2008). Neelatud valgusenergia mahu tõustes suurendab taim fotosünteesi efektiivsust, tõstes  $\text{CO}_2$  fikseerimise mahtu läbi elektronkandjate ja ensüümide sünteesi suurendamise. Üleliigse energia ärakasutamiseks rakendatakse ka alternatiivseid energia neelajaid nagu näiteks valgushingamine (Demmig-Adams & Adams III, 1992).

Fotosünteesi valgusreaktsioonid toimuvad kloroplasti tülakoidi membraani pinnal. Valgusreaktsioonides vabanevad prootonid tülakoidi luumenisse ning pumbatakse ATP süntaasi poolt tagasi kloroplasti stroomasse (Lambers *et al.*, 2008). Kui valgusenergia neeldumine ületab selle ärakasutamise võime, kogunevad prootonid tülakoidi luumenisse, mistõttu luumeni pH langeb ning membraani  $\Delta\text{pH}$  väärtus tõuseb. Vastusena  $\Delta\text{pH}$  tõusule aktiveeruvad energia soojusena hajutamise protsessid. Taimed on võimelised soojusena hajutama üle poole neelatud valgusenergiast (Ort, 2001).

Kui neelatud energiat ei õnnestu fotosünteesis ära kasutada ega soojusena hajutada, moodustuvad reaktiivsed hapnikuühendid (ROS) (Müller *et al.*, 2001). ROS-id mängivad rolli

ka normaalsel raku signalisatsioonil, kuid nende üleproduktsoon kahjustab taimekudesid (Lambers *et al.*, 2008). Kui valgusenergia neelanud klorofüllilise molekuli jääb liiga kaua ergastunud ühevalentsesse olekusse ( $^1\text{Chl}^*$ ), laguneb see kolmevalentse oleku ( $^3\text{Chl}^*$ ) kaudu, mis hapnikuga reageerides tekitab ühevalentse hapniku ( $^1\text{O}_2^*$ ) (Müller *et al.*, 2001). ROS-ide moodustumine kloroplastides võib toimuda ka elektroni ülekandel hapnikule fotosüsteemi reaktsioonitsentris, mille tulemusena moodustub superoksiidanioon ( $\text{O}_2^-$ ) (Jahns & Holzwarth, 2012).  $\text{O}_2^-$  kahjutukstegemiseks konverteerib ensüüm superoksiid dismutaas selle vesinikperoksiidiks ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).  $\text{H}_2\text{O}_2$  lagunemist veeks ja hapnikuks katalüüsib näiteks ensüüm askorbaadi peroksüdaas (Demmig-Adams & Adams III, 1992), samuti osalevad  $\text{H}_2\text{O}_2$  kahjutukstegemises antotsüaniinid (Gould, 2004).  $^1\text{O}_2^*$  kahjutukstegijad taimes on karotenoidid (Jahns & Holzwarth, 2012).

ROS-ide kõrge kontsentratsioon raku viib fotoinhibitsioonini, mis on seotud PSII reaktsioonitsentri valkude kahjustustega. Fotoinhibitsioon viib fotosünteetilise võimekuse languseni ning sellest taastumine võtab valguskomponentide aeglase parandamise tõttu mõne tunni (Ruban *et al.*, 2012).

### 1.1.2. Karotenoidide roll valguskaitstes

Karotenoidid on terpenoidide hulka kuuluv klass rasvlahustuvaid ühendeid, mille põhistruktuuri moodustab konjugeeritud kaksiksidemetega süsinikahel. Oksüdeerunud karotenoide nimetatakse ksantofüllideks, oksüdeerumata karotenoidid on karoteenid. Rohelistes kudedes akumulereeruvad karotenoidid (zeaksantiin, violaksantiin, anterksantiin, luteiin) on universaalsed kõigile kõrgematele taimedele (Tanaka *et al.*, 2008; Esteban *et al.*, 2015).

Taimede PSII antennid seovad lisaks klorofüllile ksantofüllilise (luteiini, neoksantiini ja ksantofüllilise tsükli pigmentide) molekule. Ksantofüllilise funktsioonideks on antennivalkude stabiliseerimine, valguse neelamine ja edastamine klorofüllile, valguskaitse läbi klorofüllilise energia vastuvõtmise ja selle hajutamise ning toimimine antioksidantidena. Fotosüsteemide reaktsioonitsentrid akumulereerivad samuti karotenoide, näiteks  $\beta$ -karoteeni, mis on tugev antioksidant (Jahns & Holzwarth, 2012; Esteban *et al.*, 2015).

Ksantofüllilise de-epoksüdatsioon violaksantiinist anterksantiiniks ja zeaksantiiniks ning vastupidine epoksüdatsioon moodustab ksantofüllilise tsükli (Demmig-Adams & Adams III,

1992). Nimetatud reaktsioone katalüüsivad ensüümid violaksantiini de-epoksüdaas ja zeaksantiini epoksüdaas (Müller *et al.*, 2001). Violaksantiini de-epoksüdaas on pH-sõltuv ensüüm ning otseselt elektrontranspordi kontrolli all, seega neelatud valgusenergia mahu suurenemisel ksantofüll de-epoksüdeerub. Maksimaalse de-epoksüdatsiooni saavutab taim 15–30 minutiga, zeaksantiini epoksüdatsioon violaksantiiniks toimub pimedas ja järk-järguliselt (Jahns & Holzwarth, 2012). Ksantofüllide de-epoksüdatsiooni määr peegeldab seega lühiajalisi keskmiseid valgustingimusi, samas kui summaarne ksantofüllide kontsentratsioon lehes sõltub pikaajalistest keskmistest valgustingimustest (Esteban *et al.*, 2015). Ksantofüllid osalevad üleliigse neelatud valgusenergia hajutamisel soojusena (Demmig-Adams & Adams III, 1992). Tülakoidi membraani  $\Delta pH$  väärtuse tõusmisel toimuvad konformatsioonilised muutused PSII antennis, mille tulemusel seondub sinna de-epoksüdeerunud ksantofüll zeaksantiin. Zeaksantiin võtab antennipigmentide neelatud valgusenergia vastu ja hajutab selle soojusena (Ruban, 2016).

Energia soojusena hajutamise efektiivsust on võimalik mõõta klorofüllü fluorestsentsi abil. Klorofüllü neelatud valgusenergiast fluorestseerub osa tagasi neelatust pikema lainepikkusega valgusena. Seega konkureerivad klorofüllü poolt neelatud energia edasi kasutamisel kolm protsessi: fluorestsents, fotokeemilised protsessid ja soojushajutamine ehk mittefotokeemilised protsessid. Nii fotokeemiliste kui mittefotokeemiliste protsesside efektiivsuse tõus surub alla fluorestsentsi määra. Et kindlaks teha ainult mittefotokeemiliste protsesside osa fluorestsentsi kustutamises, on võimalik kaotada fotokeemiliste protsesside osatähtsus, küllastades lühikese valgussähvatusega fotosüsteemide reaktsioonitsentrid ning mõõta tekkinud fluorestsentsi. Sellest on võimalik arvutada fluorestsentsi mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) parameeter, mis on lineaarselt seotud valgusenergia soojushajumise määraga (Maxwell & Johnson, 2000).

Stress mõjutab karotenoidide metabolismi. Lisaks nende rollile valguskaitstes sünteesitakse karotenoididest ka näiteks fütohormooni abtsiishapet, mis mängib rolli stressifaktoritega kohanemisel. Karotenoidide sünteesi aktiveerivad erinevad stressifaktorid nagu põud, kõrge valgusintensiivsus ja temperatuur (Esteban *et al.*, 2015). Lehtede vananemisel langeb nendes nii klorofüllü kui karotenoidide kontsentratsioon, kuid karotenoidide ja klorofüllü suhte (Car/Chl) väärtus kasvab. Karotenoidide funktsiooniks vananevates lehtedes on hoida ära kahjustusi fotosünteesi aparaadile klorofüllü kontsentratsiooni langedes ning tagada optimaalne lämmastiku tagasiimendumine lehtedest teistesse kudedesse (Adams III *et al.*, 1990).

### 1.1.3. Antotsüaniinide roll valguskaitstes

Antotsüaniinid on flavonoidide hulka kuuluv klass veeslahustuvaid ühendeid. Erinevaid värvilisi antotsüaniine akumulatsioonid toimuvad taimed õitesse, viljadesse, lehtedesse, seemnetesse ja teistesse organitesse (Tanaka *et al.*, 2008). Levinuim antotsüaniin lehtedes on tsüanidiin-3-glükosiid (Gould, 2004). Antotsüaniinide süntees toimub rakkude tsütosoolis, hiljem paiknevad need vakuoolis (Tanaka *et al.*, 2008). Antotsüaniinide omadused on pH-sõltuvad. Happelistes tingimustes (vakuoolis) on antotsüaniinid punased ja mõõdukalt happelistes tingimustes (tsütosoolis) värvitud. *In vitro* on antotsüaniinid stabiilseimad happelistes tingimustes (pH<3) (Tanaka *et al.*, 2008).

Antotsüaniinide sünteesi indutseerivad mitmed stressifaktorid, näiteks madal temperatuur, toitainetepuudus, põud, UV-kiirgus, herbivooria ja patogeenid (Hoch *et al.*, 2001; Gould, 2004). Antotsüaniinid toimivad rakus antioksüdantidena (Gould, 2004), tehes kahjutuks kloroplastist väljapääsevad ROS-e (Fini *et al.*, 2011). Samuti neelavad antotsüaniinid kõrge energiaga valguskvante, hoides nii ära valgustundlike ühendite lagunemist rakus (Gould, 2004). Sarnaselt karotenoididele aitab antotsüaniinide kogunemine vananevates lehtedes kaitsta fotosünteesi aparaati enneaegse lagunemise eest ning tagab lämmastiku tagasiimendumise lehtedest teistesse taimekudedesse (Hoch *et al.*, 2001; Gould, 2004). Sügisesed antotsüaniinid kogunevad peamiselt lehe epidermi ja sammaskoe ülemisse kihti (Hoch *et al.*, 2001), kus nad filtreerivad kloroplastideni jõudvat valgust (Feild *et al.*, 2001).

## 1.2. Suurenenud õhuniiskuse mõju puu füsioloogiale

Gloobalse kliima soojenemisega seoses prognoositakse Põhja-Euroopas sademete hulga ja sageduse suurenemist (Tullus, 2017). Sellega seoses tuleb taimedel tulevikus kohaneda suurenenud atmosfääri õhuniiskusega.

Puud kannavad mullast omandatud toitaineid lehtedeni vee massivoolu abil. Vee massivoolu juurtest lehtedeni käivitab transpiratsioon (Matimati *et al.*, 2014). Transpiratsioon on vee aurustumine taimest, mis toimub peamiselt lehtede õhulõhede kaudu (Lambers *et al.*, 2008). Kõrge õhuniiskuse vähendab aururõhu erinevust lehe ja ümbritseva atmosfääri vahel, mis vähendab transpiratsiooni määra ja massivoolu kiirust. Selle tõttu jõuab juurtest lehtedeni vähem toitaineid, millest on eriti tugevasti mõjutatud lämmastiku omandamine (Tullus *et al.*, 2012). Lehe lämmastikust on umbes pool paigutatud fotosünteesi aparaati (Takashima *et al.*,



2004), seega on lehe lämmasikuisaldus selle fotosünteesilise võimekuse otsustav tegur. Varasemad uuringud on näidanud, et lämmastikupuuduses taimedel on lehtedes kõrgem ksantofüllü tsükli pigmentide ja summaarsete karotenoidide kontsentratsioon (Verhoeven *et al.*, 1997). Valguskaitse strateegiad võivad (Kitajima & Hogan, 2003), aga ei pruugi olla piisavad (DaMatta *et al.*, 2002), et hoida ära fotosünteesilise võimekuse langust lämmastikupuuduse tingimustes.

Transpiratsiooni väiksema mahu tõttu kasutatakse suurenenud õhuniiskuse korral pinnase vett aeglasemalt ära. Väiksem transpiratsiooni määr võib suurendatud õhuniiskuse tingimustes kasvavatel puudele olla põuastel kasvuperioodidel kasulik, kuna mulla veevarude ammendumine on aeglasem. Sademeterohketel kasvuperioodidel aga võib pikk liigniiske periood põhjustada kasvustressi (Tullus, 2017). Mullas võib tekkida liigniiskus, mille tulemusena jäävad juured hapnikupuudusesse (Jaeger *et al.*, 2009). Juurte hapnikupuuduse tingimustes lehtede õhulõhed sulguvad, mis omakorda toob kaasa CO<sub>2</sub> assimilatsiooni vähenemise ja fotosünteesi efektiivsuse languse. Samuti on veega küllastunud mullast taimedel raskem toitaineid ja vett omastada (Ahmed *et al.*, 2002; Smethurst & Shabala, 2003). Põua tingimustes, mis samuti viib õhulõhede sulgumiseni, on paju (*Salix*) liikidel näidatud lehtede ksantofüllü kontsentratsiooni suurenemist (Savage *et al.*, 2009).

Kõrge õhuniiskuse tingimustes on hübriidhaaval (Tullus *et al.*, 2012) ja arukasel (Sellin *et al.*, 2013) kontrollist väiksem lehe mass pindalaühiku kohta (LMA). Väiksem LMA väärtus näitab sageli liigisiselt väiksemat fotosünteesilist võimekust (Niinemets, 1999). Lehe paksus on oluline fotosünteesi efektiivsust määrav tegur, kuna paksemad lehed sisaldavad reeglina rohkem klorofüllü pinnaühiku kohta (Jinwen *et al.*, 2009).

Arukase puhul on näidatud, et kõrgendatud õhuniiskus lükkab sügisest lehtede langemist edasi (Godbold *et al.*, 2014; Tullus, 2017). Pikem kasvuperiood võimaldab enne lehtede varisemist lämmastikku tõhusamalt relokaliseerida (Tullus, 2017). Kõrgendatud õhuniiskuse tingimustes kasvavad puud paigutavad rohkem biomassi peenjuurtesse, et toitaineid efektiivsemalt kätte saada (Rosenvald *et al.*, 2014). Tsütokiine (valke, mis on seotud lehtede vananemise edasilükkumisega) toodetakse juurtes, seega võib suurenenud peenjuurte osakaal lehtede langemist mõjutada (Godbold *et al.*, 2014).

### **1.3. Bakalaureusetöö eesmärgid**

Antud töö eesmärk on analüüsida, kas suurenenud õhuniiskus mõjutab arukase (*Betula pendula* Roth.) ja hübriidhaava (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) valguskaitse strateegiaid vegetatsiooniperioodi erinevates faasides. Samuti uurida, kas taimed suudavad kasvuperioodi erinevates faasides hoida fotosünteesi efektiivsuse maksimaalsena rakendades erinevaid valguskaitse strateegiaid ning kuivõrd niiskem kliima mõjutab puude fotosünteesi efektiivsust.

## 2. METOODIKA

### 2.1. FAHM katseala kirjeldus

Andmete kogumine toimus 2017. aastal kolme mõõtmiskampaniana juulis, augustis ja septembris Tartumaal Meeksi vallas Rõka külas (58°24'N, 27°29'E) Metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise ehk FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) katsealal. Regiooni pikaajaline aastane keskmine sademete hulk on 650 mm ning keskmine temperatuur 17°C juulis ning -6,7°C jaanuaris. Vegetatsiooniperiood kestab aprilli keskpaigast oktoobrini (174–180 päeva).

FAHM katseala moodustab üheksa 14 x 14 m katseringi, millest neljas (H1, H2, H3, H4) suurendatakse kunstlikult õhuniiskust ning neli (C1, C2, C3, C4) on kontrollringid. Üheksas katsering D1 oli algselt varustatud õhukuivatiga, kuid antud töös kasutatakse seda kontrollina, kuna töötlust sellel ei toimu. Iga katseringi ühel poolel kasvavad 1 m vahedega arukased (*Betula pendula* Roth.) ja teisel poolel hübriidhaavad (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.). Katseringid on üksteisest eraldatud hübriidhaabadest puhvertsooniga.

Õhuniiskuse tõstmine toimub niisutusringides (H) kõrgsurvepumbast, õhujaotustorustikust, ventilaatorist ja veedüüsidest koosneva süsteemiga. Niisutamine toimub maist septembrini kuuel päeval nädalas, juhul kui õhuniiskus on <75% ja tuulekiirus <4 m s<sup>-1</sup>. Keskmiselt tõuseb õhuniiskus niisutussüsteemide abil ümbritseva keskkonna suhtes 7%. FAHM eksperimenti on lähemalt kirjeldatud Kupper *et al.* (2011) artiklis.

Käesoleva töö jaoks märgistati kuuel katseringil (D1, C2, C4, H1, H2, H4) kolmel kuul (juuli, august, september) kaheksa lehte kummaltki puuliigilt (arukask, hübriidhaab). Lehed valiti katseringi keskelt umbes 1,5 m kõrguselt maapinnast sarnaste valgustingimustega võra piirkonnast.

### 2.2. Fluorestsentsi parameetrite mõõtmine

Lehtede fotosünteesi efektiivsuse hindamiseks teostati klorofüllü fluorestsentsi mõõtmised, mis viidi läbi kaasaskantava PAM (*Pulse-Amplitude-Modulated*) fluoromeetriga FluorPen FP100 (Photon Systems Instruments, Tšehhi). 20 minuti jooksul leheklipi all pimeadapteerunud lehtedel viidi läbi kuuel lehel kaheksast OJIP ja kahel lehel NPQ2 programm.

Fluoromeetri OJIP programm mõõdab pimeadapteerunud proovile PSII reaktsioonitsentreid küllastavat valgussähvatust andes tekkivat fluorestsentsi. OJIP protokollist saadi PSII maksimaalse fotokeemilise võimekuse ( $F_v/F_m$ ) hinnangud, mis on arvutatud valemi (1) järgi, kus  $F_0$  täistab enne valgussähvatust esinevat minimaalset fluorestsentsi (reaktsioonitsentrid on lahti) ning  $F_m$  valgussähvatuse ajal tekkivat maksimaalset fluorestsentsi (reaktsioonitsentrid sulguvad).  $F_v/F_m$  näitab maksimaalset fotosünteesi võimekust, kui kõik toimivad PSII reaktsioonitsentrid on avatud (Maxwell & Johnson, 2000).

$$F_v/F_m = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad (1)$$

NPQ2 programm algab minimaalse fluorestsentsi ( $F_0$ ) mõõtmisega, misjärel lühike küllastav valgussähvatuse ajal mõõdetakse pimeadapteerunud maksimaalse fluorestsentsi väärtus ( $F_m^0$ ). Seejärel lülitatakse sisse fotosünteesiliselt aktiivne valgus ning järgnevate küllastavate valgussähvatuste ajal mõõdetakse maksimaalne fluorestsentsi väärtus 200 sekundi jooksul valgusadapteerunud lehtedes ( $F'_m$ ). Samuti mõõdetakse stabiilne fluorestsentsi määr fotosünteesilises valguses ( $F_t$ ). NPQ2 protokollist saadi fluorestsentsi mittefotokeemilise (NPQ) ja fotokeemilise (qP) kustutamise ning PS II kvantsaagise ( $\Phi_{PSII}$ ) väärtused, mis on arvutatud vastavalt valemite (2), (3) ja (4) järgi.

$$NPQ = \frac{F_m^0 - F'_m}{F'_m} \quad (2)$$

$$qP = \frac{F'_m - F_t}{F'_m} \quad (3)$$

$$\Phi_{PSII} = \frac{F'_m - F_t}{F'_m} \quad (4)$$

Kui  $F_v/F_m$  näitab maksimaalset PS II kvantsaagist pimeadapteerunud proovis, siis  $\Phi_{PSII}$  näitab PS II kvantsaagist püsitalitlusel.  $\Phi_{PSII}$  abil on võimalik hinnata üldist fotosünteesilist võimekust. Fluorestsentsi fotokeemiline kustutamise (qP) väärtus näitab avatud reaktsioonitsentrite osakaalu. Fluorestsentsi mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) väärtus näitab soojushajutamise efektiivsust (Maxwell & Johnson, 2000).

### 2.3. Pigmentide analüüs

Märgistatud lehtedest leiti klorofüllimõõtja Minolta SPAD-502 (Spectrum Technologies, Inc., Ameerika Ühendriigid) abil kolme mõõtmise keskmisena SPAD väärtus ehk suhteline klorofüllisisaldus lehes. Pärast fluorestsentsi ja SPAD mõõtmiste läbiviimist võeti lehtedelt 10,2 mm läbimõõduga lehekettad, mida säilitati kuni analüüsimiseni  $-80^{\circ}\text{C}$  sügavkülmikus. Ülejäänud lehel mõõdeti pindala kasutades LI-300C pindalamõõtjat (LI-COR Inc., Ameerika Ühendriigid). Lehed kuivatati  $70^{\circ}\text{C}$  juures ning seejärel määrati nende kuivkaal.

Pigmentide analüüs tehti klorofüllil ja karotenoidide jaoks iga katseringi kummagi puuliigi kuuele lehele ning antotsüaniinide jaoks kahele lehele. Klorofüllil ja karotenoidide kvantifitseerimiseks hoiti lehekettast 24 tundi pimendatult  $4^{\circ}\text{C}$  juures 2 ml N,N-dimetüülformamiidi (DMF) lahuses. Antotsüaniinide sisalduse määramiseks peenestati lehekettas uhmriga. Ekstraheerimisel kasutati lahustina 90:1:1 vol:vol:vol suhtes 99,9% metanooli, 37% HCl ja destilleeritud vett, et tagada antotsüaniinide stabiilsus lahuses (Sims & Gamon, 2002). Proovid tsentrifugeeriti 5 min 5000 rpm  $17^{\circ}\text{C}$  juures, supernatant pipeteeriti teise katseklaasi ning ruumala viidi 6 ml-ni.

Proovide optiline läbipaistvus mõõdeti kasutades spektrofotomeetrit AvaSpec 2048-2 (Avantes BV, Holland). Saadud tulemuste põhjal arvutati lahuse optiline tihedus ning seejärel pigmentide kontsentratsioonid lehes.

Lahuse klorofüllil kontsentratsiooni ( $C_a$  ja  $C_b$ ) arvutamiseks kasutati valemit (5) ja (6) (Porra *et al.*, 1989) ning karotenoidide kontsentratsiooni ( $C_c$ ) arvutamiseks valemit (7) (Wellburn, 1994), kus  $A_{646,8}$ ,  $A_{663,8}$ ,  $A_{480}$  ja  $A_{750}$  tähistavad lahuse neelduvuse väärtuseid vastavatel valguse lainepikkustel. Seejärel arvutati pigmentide sisaldus lehe pindalaühiku ja massiühiku kohta.

$$C_a (mg\ l^{-1}) = 12 (A_{663,8} - A_{750}) - 3,11 (A_{646,8} - A_{750}) \quad (5)$$

$$C_b (mg\ l^{-1}) = 20,78 (A_{646,8} - A_{750}) - 4,88 (A_{663,8} - A_{750}) \quad (6)$$

$$C_c (mg\ l^{-1}) = \frac{(1000 A_{480} - 1,12 C_a - 34,07 C_b)}{245} \quad (7)$$

Spektrofotomeetriliselt mõõdetud klorofüllil ja karotenoidide sisaldused pandi regressiooni mõõdetud SPAD-väärtustega. Saadud regressioonivõrrandit kasutati ülejäänud SPAD-väärtustele vastavate pigmentide kontsentratsioonide arvutamiseks.

Lahuse antotsüaniinide kontsentratsiooni arvutamiseks leiti kõigepealt korrigeeritud neelduvuse väärtus (A) valemi (8) abil (Sims & Gamon, 2002), kus  $A_{529}$  ja  $A_{650}$  tähistavad lahuse neelduvuse väärtuseid vastavatel valguse lainepikkustel. Eeldusel, et tsüanidiin-3-glükosiid on levinuim antotsüaniin taimlehtedes (Gould, 2004), arvutati seejärel valemi (9) järgi selle kontsentratsioon lahuses (C). Valemis (9) tähistab V lahuse ruumala (L), M tsüanidiin-3-glükosiidi molaarmassi ( $\text{mg mol}^{-1}$ ),  $\epsilon$  ekstinktsioonikoeffitsienti ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), l valguse teepikkust (cm) ning m ekstraheerimisel kasutatud leheketta massi (g). Saadud antotsüaniinide kontsentratsiooni järgi lahuses arvutati seejärel antotsüaniinide sisaldus lehe massiühiku kohta.

$$A = A_{529} - (0,288 A_{650}) \quad (8)$$

$$C (\text{mg l}^{-1}) = \frac{A * V * M}{\epsilon * l * m} \quad (9)$$

#### 2.4. Statistiline analüüs

Andmesisestuse ja esmase töötuse jaoks kasutati programmi MS Excel 2013 (Microsoft Corp., Ameerika Ühendriigid). Statistiline analüüs viidi läbi programmiga Statistica 7.1 (StatSoft Inc., Ameerika Ühendriigid).

Andmerühmade normaaljaotusele vastavust ja grupisisese varieeruvuse homogeensust kontrolliti kirjeldava statistika meetodiga. Kui eeldused olid täidetud, kasutati töötuse ja liigi mõju analüüsimiseks korduvmõõtmiste ANOVA statistilist meetodit ning Fisher Post-hoc testi. Vastasel juhul kasutati mitteparameetrilist Mann-Whitney testi.

### 3. TULEMUSED

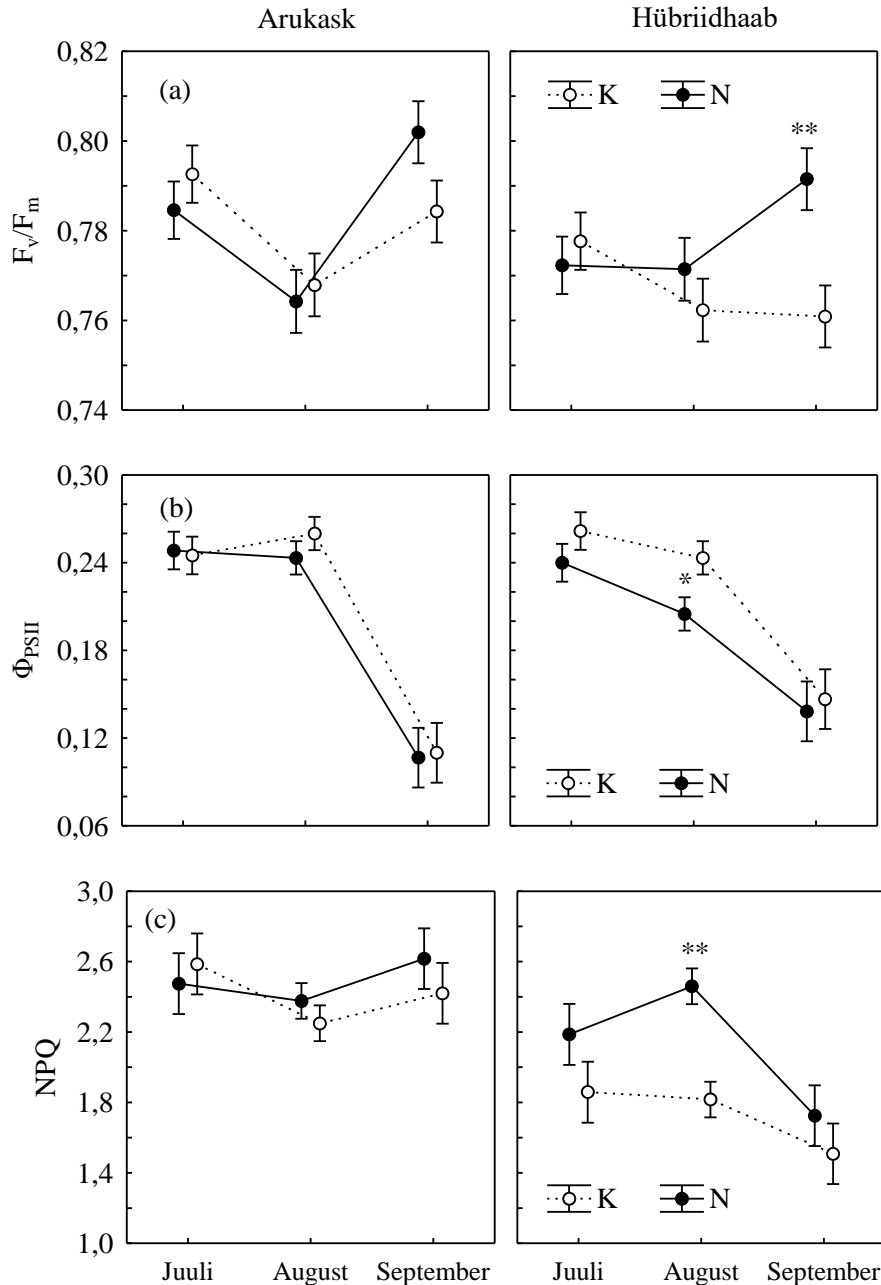
#### 3.1. Fluorestsentsi parameetrid

Arukasel lehtede fotosünteesi efektiivsust näitavad fluorestsentsi parameetrid niisutustööstusest mõjutatud ei olnud, kuid hübriidhaaval esines oluline sõltuvust tööstusest ( $p < 0,05$ ) nii augustis kui septembris (tabel 1).

Maksimaalset fotosünteesilist võimekust näitav  $F_v/F_m$  parameeter sõltus oluliselt ajast ( $p < 0,001$ ) (tabel 2). Arukasel oli  $F_v/F_m$  väärtus juulis keskmiselt 0,79 ning augustis langes 0,77- ni, hübriidhaaval mõlemal kuul keskmiselt 0,77 (tabel 1). Septembris  $F_v/F_m$  väärtused niisutusringides mõlemal puuliigil eelmiste kuudega võrreldes oluliselt tõusid (arukasel keskmiselt 0,8 ja hübriidhaaval 0,79), kontrollringides aga sellist muutust ei toimunud (joonis 1a).

**Tabel 1.** Fluorestsentsi parameetrite keskmised väärtused  $\pm$  standardviga kontroll- ja niisutusringides. *ns* – tööstuste vahel ei leitud statistiliselt olulist erinevust ( $p > 0,05$ ).

		Arukask			Hübriidhaab		
		Kontroll	Niisutus	p	Kontroll	Niisutus	p
$F_v/F_m$	juuli	0,79 $\pm$ 0,03	0,78 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>	0,77 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>
	aug	0,77 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,04	<i>ns</i>	0,76 $\pm$ 0,03	0,77 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>
	sept	0,78 $\pm$ 0,03	0,80 $\pm$ 0,02	<i>ns</i>	0,76 $\pm$ 0,05	0,79 $\pm$ 0,02	0,009
qP	juuli	0,63 $\pm$ 0,05	0,61 $\pm$ 0,06	<i>ns</i>	0,62 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,06	<i>ns</i>
	aug	0,63 $\pm$ 0,05	0,62 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>	0,60 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,06	0,031
	sept	0,28 $\pm$ 0,10	0,31 $\pm$ 0,10	<i>ns</i>	0,31 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,16	<i>ns</i>
$\Phi_{PSII}$	juuli	0,25 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,04	<i>ns</i>	0,26 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,03	<i>ns</i>
	aug	0,26 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,05	<i>ns</i>	0,24 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,013
	sept	0,11 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	<i>ns</i>	0,15 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,08	<i>ns</i>
NPQ	juuli	2,59 $\pm$ 0,38	2,48 $\pm$ 0,47	<i>ns</i>	1,86 $\pm$ 0,49	2,19 $\pm$ 0,35	<i>ns</i>
	aug	2,25 $\pm$ 0,26	2,38 $\pm$ 0,31	<i>ns</i>	1,82 $\pm$ 0,24	2,46 $\pm$ 0,15	0,007
	sept	2,42 $\pm$ 0,44	2,62 $\pm$ 0,37	<i>ns</i>	1,51 $\pm$ 0,28	1,73 $\pm$ 0,55	<i>ns</i>



**Joonis 1.** Fluorestsentsi parameetrite  $F_v/F_m$  (a),  $\Phi_{PSII}$  (b) ja NPQ (c) väärtuse sõltuvus niisutustötlusest arukasel ja hübriidhaaval. Vertikaalsed jooned näitavad standardviga. Tärnid näitavad statistiliselt olulist tötluse mõju:  $0,01 < p < 0,05^*$ ;  $0,001 < p < 0,01^{**}$ ;  $p < 0,001^{***}$ . N – niisutusringid, K – kontrollringid.

Realiseerunud fotosünteesi efektiivsust ( $\Phi_{PSII}$ ) ja avatud reaktsioonitsentrite osakaalu (qP) näitavate fluorestsentsiparameetrite väärtused juulis kummalgi puuliigil tötlusest oluliselt ei sõltunud (tabel 1). Augustis olid  $\Phi_{PSII}$  ja qP väärtused hübriidhaaval niisutusringides kontrollist oluliselt madalamad ( $p < 0,05$ ), arukasel aga statistiliselt olulist sõltuvust tötlusest ei leitud (joonis 1b). Septembriks olid  $\Phi_{PSII}$  keskmised väärtused arukasel 44% ja hübriidhaaval 65%



augusti väärtustest. Nii qP kui  $\Phi_{PSII}$  väärtustel oli septembris võrreldes augustiga statistiliselt oluline langus ( $p < 0,001$ ). Septembris  $\Phi_{PSII}$  ja qP väärtused kummalgi puuliigil oluliselt töötlustest ei sõltunud (tabel 1).

Mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) väärtus oli augustis hübriidhaaval niisutusringides oluliselt suurem kontrollist ( $p = 0,007$ ) (tabel 1). NPQ väärtus polnud arukasel ühelgi mõõtmiskorral oluliselt töötlustest mõjutatud ning oli võrreldes haavaga kõigil kolmel kuul stabiilselt kõrge väärtusega (joonis 1c), hübriidhaaval aga sõltus NPQ väärtus oluliselt ajast (tabel 2). NPQ väärtus sõltus oluliselt ka liigist ( $p < 0,001$ ) (tabel 2), olles hübriidhaaval keskmiselt madalam kui arukasel (tabel 1).

**Tabel 2.** Töötluste, liigi ja mõõtmisaja mõju fluorestsentsi parameetritele  $F_v/F_m$  ja NPQ; summaarsele klorofüllile kontsentratsioonile (Chl a+b,  $\text{mg g}^{-1}$ ), klorofüllile a ja b suhtele (Chl a/b), karotenoidide ja klorofüllile suhtele (Car/Chl), antotsüaniinide kontsentratsioonile (Ac,  $\text{mg g}^{-1}$ ) ning LMA ( $\text{g m}^{-2}$ ) väärtustele: dispersioonianalüüsil saadud p-väärtused. *ns* – faktori mõju pole statistiliselt oluline ( $p > 0,05$ ).

Faktor	$F_v/F_m$	NPQ	Chl a+b	Chl a/b	Car/Chl	Ac	LMA
Töötlus	<i>ns</i>	0,015	0,020	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,001
Liik	0,004	<0,001	0,001	<0,001	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<0,001
Töötlus x liik	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,002
Aeg	<0,001	<i>ns</i>	<0,001	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<0,001	<0,001
Aeg x töötlus	0,001	<i>ns</i>	0,016	<0,001	<0,001	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Aeg x liik	<i>ns</i>	0,007	<0,001	<0,001	<0,001	<i>ns</i>	<0,001
Aeg x töötlus x liik	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0,004

### 3.2. Pigmentide sisaldus

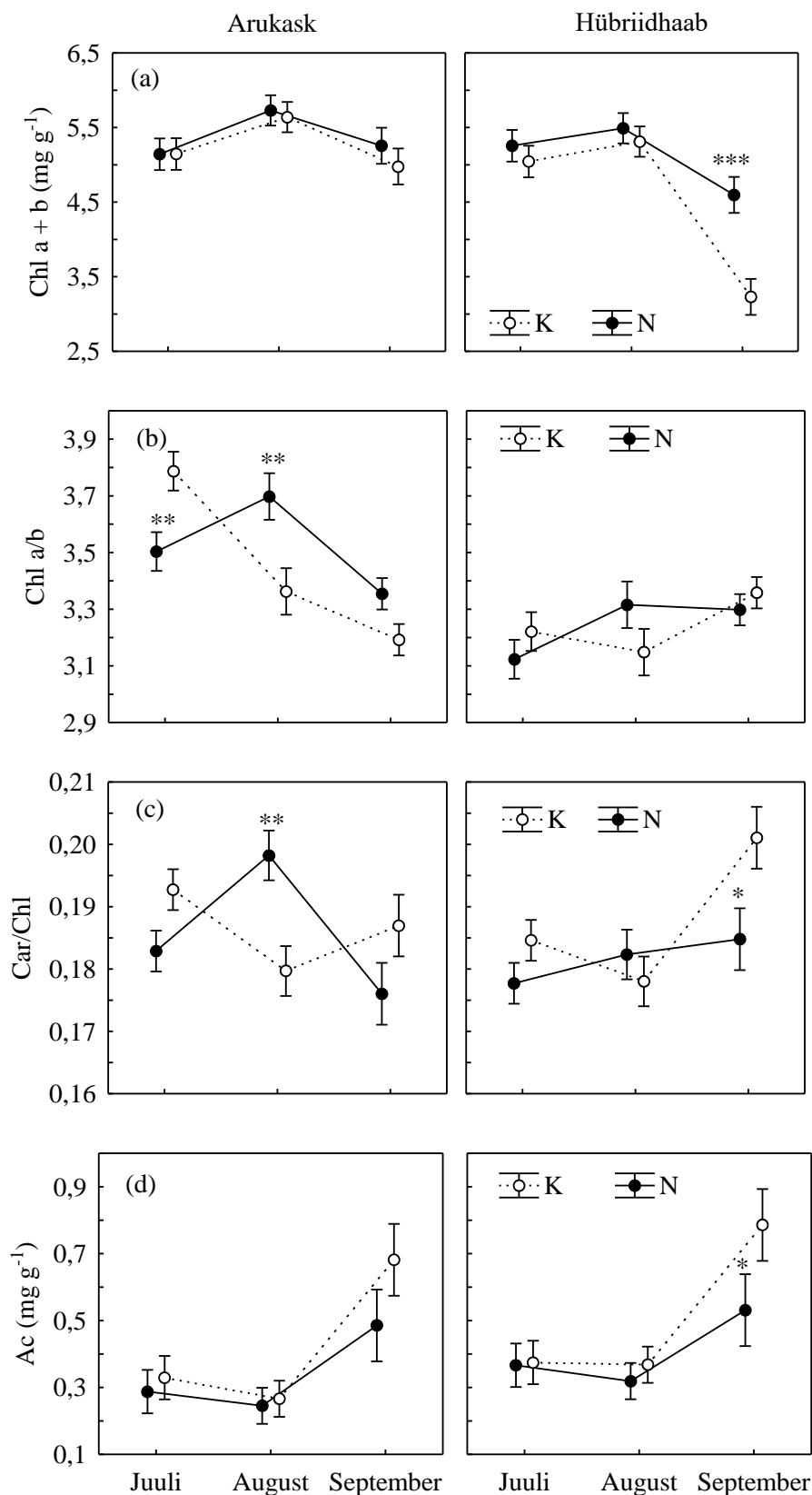
Lehtede klorofüllisisaldust juulis ja augustis kummalgi puuliigil niisutustöötlus oluliselt ei mõjutanud (joonis 2a). Klorofüllile kontsentratsiooni ( $\text{mg g}^{-1}$ ) väärtused sõltusid oluliselt ajast ja liigist ( $p < 0,001$ ) (tabel 2), kuna septembris hübriidhaaval erinevalt arukasest klorofüllile kontsentratsioon langes, olles niisutusringides 84% ja kontrollringides 61% augusti väärtustest (tabel 3 ja joonis 2a). Arukasel klorofüllile kontsentratsioon septembri mõõtmiseks langenud ei olnud ning olulist mõju polnud ka töötlustel (joonis 2a). Klorofüllile a ja b suhte (Chl a/b) väärtus oli ajast ja liigist oluliselt mõjutatud ( $p < 0,001$ ) (tabel 2). Chl a/b väärtus sõltus arukasel juulis ja augustis oluliselt töötlustest, juulis oli Chl a/b väärtus niisutusringides kontrollist madalam ( $p = 0,006$ ) ning augustis vastupidi ( $p = 0,001$ ). Hübriidhaaval töötluste mõju Chl a/b väärtusele ei

leitud (tabel 3). Hübriidhaaval oli keskmine Chl a/b väärtus arukasest madalam ( $p < 0,001$ ) ning kasvuperioodi jooksul oluliselt ei muutunud, arukasel aga septembris langes võrreldes juuli ja augustiga (tabel 2 ja joonis 2b).

**Tabel 3.** Summaarse klorofüllü (Chl a+b,  $\text{mg g}^{-1}$ ), karotenoidide (Car,  $\text{mg g}^{-1}$ ) ja antotsüaniinide (Ac,  $\text{mg g}^{-1}$ ) kontsentratsioonid ning Chl a/b ja Car/Chl suhete väärtused  $\pm$  standardviga kontroll- ja niisutusringides. *ns* – töötluste vahel ei leitud statistiliselt olulist erinevust ( $p > 0,05$ ).

		Arukask			Hübriidhaab		
		Kontroll	Niisutus	p	Kontroll	Niisutus	p
Chl a+b ( $\text{mg g}^{-1}$ )	juuli	5,15 $\pm$ 1,00	5,14 $\pm$ 1,29	<i>ns</i>	5,05 $\pm$ 0,84	5,26 $\pm$ 0,98	<i>ns</i>
	aug	5,64 $\pm$ 1,06	5,73 $\pm$ 1,29	<i>ns</i>	5,31 $\pm$ 0,74	5,49 $\pm$ 0,80	<i>ns</i>
	sept	4,98 $\pm$ 1,55	5,25 $\pm$ 0,99	<i>ns</i>	3,23 $\pm$ 0,97	4,60 $\pm$ 1,13	<0,001
Chl a/b	juuli	3,79 $\pm$ 0,47	3,50 $\pm$ 0,37	0,006	3,22 $\pm$ 0,26	3,12 $\pm$ 0,16	<i>ns</i>
	aug	3,36 $\pm$ 0,31	3,70 $\pm$ 0,57	0,001	3,15 $\pm$ 0,26	3,32 $\pm$ 0,40	<i>ns</i>
	sept	3,19 $\pm$ 0,29	3,35 $\pm$ 0,27	<i>ns</i>	3,36 $\pm$ 0,26	3,30 $\pm$ 0,27	<i>ns</i>
Car ( $\text{mg g}^{-1}$ )	juuli	0,98 $\pm$ 0,14	0,93 $\pm$ 0,19	<i>ns</i>	0,92 $\pm$ 0,11	0,93 $\pm$ 0,16	<i>ns</i>
	aug	1,01 $\pm$ 0,16	1,11 $\pm$ 0,19	0,036	0,94 $\pm$ 0,09	0,99 $\pm$ 0,13	<i>ns</i>
	sept	0,90 $\pm$ 0,19	0,92 $\pm$ 0,14	<i>ns</i>	0,63 $\pm$ 0,16	0,84 $\pm$ 0,15	<0,001
Car/Chl	juuli	0,19 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	<i>ns</i>	0,19 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	<i>ns</i>
	aug	0,18 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,03	0,006	0,18 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,02	<i>ns</i>
	sept	0,19 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,01	<i>ns</i>	0,20 $\pm$ 0,04	0,18 $\pm$ 0,02	0,016
Ac ( $\text{mg g}^{-1}$ )	juuli	0,33 $\pm$ 0,17	0,29 $\pm$ 0,12	<i>ns</i>	0,38 $\pm$ 0,17	0,37 $\pm$ 0,18	<i>ns</i>
	aug	0,27 $\pm$ 0,13	0,25 $\pm$ 0,07	<i>ns</i>	0,37 $\pm$ 0,12	0,32 $\pm$ 0,19	<i>ns</i>
	sept	0,68 $\pm$ 0,27	0,49 $\pm$ 0,22	<i>ns</i>	0,79 $\pm$ 0,35	0,53 $\pm$ 0,18	0,04

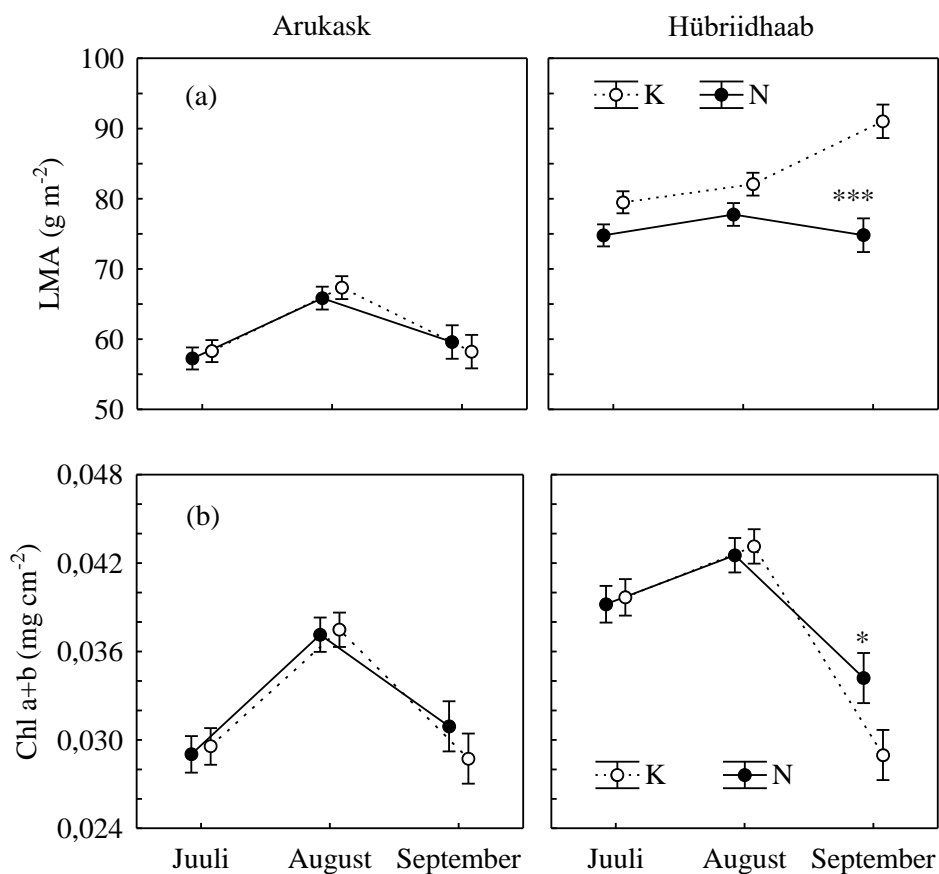
Karotenoidide ja klorofüllü suhte (Car/Chl) väärtuseid juulis niisutustöötlus kummalgi liigil oluliselt ei mõjutanud (joonis 2c). Augustis oli arukase karotenoidide kontsentratsiooni ja Car/Chl väärtustele töötlusel oluline mõju ( $p < 0,05$ ), niisutusringides olid väärtused kõrgemad kontrollist. Septembris arukasel karotenoidide kontsentratsiooni ja Car/Chl väärtustele olulist töötluse mõju ei leitud, kuid hübriidhaaval olid kontrollringides oluliselt madalamad karotenoidide kontsentratsiooni ja Car/Chl väärtused kui niisutusringides ( $p < 0,05$ ). Karotenoidide kontsentratsioon küll klorofüllüga sarnaselt augustiga võrreldes langes, kuid Car/Chl väärtus tõusis (tabel 3). Car/Chl väärtused muutusid töötlustest ja liigist sõltuvalt veidi erinevasuunaliselt (tabel 2 ja joonis 2c).



**Joonis 2.** Summaarse klorofüllü kontsentratsiooni (Chl a + b, mg g<sup>-1</sup>) (a), klorofüll a ja b suhte (Chl a/b) (b), karotenoidide ja klorofüllü suhte (Car/Chl) (c) ja antotsüaniinide kontsentratsiooni (Ac, mg g<sup>-1</sup>) (d) väärtused arukasel ning hübriidhaaval. Vertikaalsed jooned näitavad standardviga. Tärnid näitavad

statistiliselt olulist töötuse mõju:  $0,01 < p < 0,05^*$ ;  $0,001 < p < 0,01^{**}$ ;  $p < 0,001^{***}$ . N – niisutusringid, K – kontrollringid.

Juulis ja augustis kummalgi puuliigil lehtede antotsüaniinide sisaldus oluliselt töötusest ei sõltunud. Septembris antotsüaniinide kontsentratsioon lehtedes mõlemal puuliigil juuli ja augustiga võrreldes tõusis ( $p < 0,001$ ) (tabel 3). Hübriidhaaval sõltus lehe antotsüaniinide kontsentratsioon septembris oluliselt töötusest, olles niisutusringides madalam kontrollist (joonis 2d).



**Joonis 3.** Õhuniiskuse ja mõõtmisaja mõju lehe massile pinnaühiku kohta (LMA, g m<sup>-2</sup>) (a) ja lehe klorofüllide kontsentratsioonile pinnaühiku kohta (mg cm<sup>-2</sup>) (b) arukasel ja hübriidhaaval. Vertikaalsed jooned näitavad standardviga. Tärnid näitavad statistiliselt olulist töötuse mõju:  $0,01 < p < 0,05^*$ ;  $0,001 < p < 0,01^{**}$ ;  $p < 0,001^{***}$ . N – niisutusringid, K – kontrollringid.

Lehe mass pinnaühiku kohta (LMA) sõltus oluliselt liigist ( $p < 0,001$ ). Arukasel oli hübriidhaavast väiksem LMA väärtus ( $p < 0,001$ ) (tabel 2) ja klorofüllide kontsentratsioon pindalaühiku kohta (mg cm<sup>-2</sup>) ( $p < 0,001$ ) (joonis 3b). Arukasel töötuse olulist mõju LMA väärtusele ühelgi mõõtmiskorral ei esinenud. Hübriidhaaval oli kõikidel mõõtmiskordadel LMA väärtused niisutusringides kontrollist keskmiselt kõrgemad, kuid statistiliselt oluline

töötuse mõju ( $p < 0,001$ ) leiti ainult septembris (joonis 3a). Klorofüllü kontsentratsioonile pindalaühiku kohta töötusel üldiselt olulist mõju ei olnud ( $p > 0,05$ ) (joonis 3b). LMA väärtus sõltus oluliselt ajast ( $p < 0,001$ ) (tabel 2). Arukasel mõlemal töötusel LMA väärtus augustis võrreldes juuliga tõusis ning septembris taas langes ( $p < 0,05$ ). Hübriidhaaval septembris kontrollringides LMA väärtus eelmiste kuudega võrreldes tõusis ( $p < 0,001$ ) (joonis 3a). Klorofüllü kontsentratsioon pindalaühiku kohta oli hübriidhaaval septembris aga kontrollringides madalam niisutusringidest ( $p = 0,016$ ) (joonis 3b).

## 4. ARUTELU

### 4.1. Fotosüntees ja valguskaitse kasvuperioodi keskel

Juulis arukase ega hübriidhaava fluorestsentsi parameetrite ega pigmentide kontsentratsioonide väärtuseid kõrgem õhuniiskus oluliselt ei mõjutanud (tabel 1 ja 3). Mõningaid erinevusi esines arukase ja hübriidhaava vahel. Maksimaalne võimalik fotokeemiline efektiivsus ( $F_v/F_m$ ) ja mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) võimekus oli hübriidhaaval madalam kui arukasel, kuid realiseerunud fotokeemiline efektiivsus ( $\Phi_{PSII}$ ) liikide vahel ei erinenud (joonis 1). Klorofüll a ja b suhte (Chl a/b) väärtus oli nii juulis kui augustis hübriidhaaval arukasest väiksem (joonis 2b), mis viitab arukase väiksemale investeringule valgustpüüdvatesse antennikompleksidesse (Sato *et al.*, 2015). Tõenäoliselt aitas antennikomplekside vähendamine arukasel juulis hoida hübriidhaavast kõrgemat  $F_v/F_m$  väärtust ja seega väiksemat fotoinhibitsiooni määra (Maxwell & Johnson, 2000). Klorofüllisisaldus lehe massiühiku kohta oli suvekuudel mõlemal puuliigil sarnane (joonis 2a), kuid lehe mass pindalaühiku kohta (LMA) ja klorofüllisisaldus lehe pindalaühiku kohta oli arukasel oluliselt madalam hübriidhaavast (joonis 3). Suurem lehe mass pindalaühiku kohta võib viidata näiteks suuremale investeringule lehe mehaanilisse tugevusse (Takashima *et al.*, 2004). Arukase puhul töötuse mõju LMA väärtusele ei täheldatud (joonis 3a). Sellin *et al.* (2013) on näidanud, et arukase madalamate okste lehtedel on kõrgendatud õhuniiskuse tingimustes suurem lehe eripind (lehe pindala massi kohta), kuid võra ülemistes okstes selline mõju kaob. Hübriidhaaval oli käesolevas töös LMA väärtus niisutusringides keskmiselt madalam kui kontrollringides (joonis 3a), mida on näidatud ka varem (Tullus *et al.*, 2012). LMA väärtus on liigisiselt sageli seotud fotosünteesilise võimekusega, kuna paksematel (suurema LMA väärtusega) lehtedel on suurem klorofüll kontsentratsioon pinnaühiku kohta (Poorter *et al.*, 2009). Käesolevas töös klorofüll kontsentratsiooni pindalaühiku (joonis 3b) ega massiühiku kohta (joonis 2a) töötus oluliselt ei mõjutanud. Väiksem LMA väärtus on tõenäoliselt kohastumus tulemaks toime vähesema evaporsatsiooniga niiskemas õhus (Sellin *et al.*, 2013).

Augustis hübriidhaaval niisutustöötuse tulemusena fotosünteesiline võimekus langes. Kuigi maksimaalse võimaliku fotosünteesi efektiivsuse ( $F_v/F_m$ ) väärtus hübriidhaaval augustis võrreldes juuliga langenud ei olnud, oli langenud realiseerunud püsitalitluslik fotosünteesi efektiivsus ( $\Phi_{PSII}$ ) ning fotokeemiline kustutamine ehk avatud reaktsioonitsentrite osakaal (qP) (tabel 1). Seega oli valguse neeldumine potentsiaalselt sama efektiivne mõlema töötuse korral,

kuid niisutusringides esines mingi muu fotosünteesi limiteeriv tegur. Selleks võis olla CO<sub>2</sub> kättesaadavuse vähenemine õhulõhede sulgumise tõttu (Lambers *et al.*, 2008). Suurenenud õhuniiskuse tingimustes on õhulõhed üldiselt rohkem lahti, kuid hübriidhaaval on näidatud suurenenud õhuniiskuse tingimustes arenenud lehtede õhulõhede suuremat tundlikkust sulgumist indutseerivate faktorite suhtes nagu näiteks lehe ja atmosfääri vahelise aururõhu erinevuse suurenemine (Niglas *et al.*, 2015). CO<sub>2</sub> assimilatsiooni vähenemine võis olla ka fotosünteesi tagasiside inhibitsiooni tulemus, kus fotosünteesi produktide kogunemine inhibeerib fotosünteesi toimumist (Lambers *et al.*, 2008). qP ja  $\Phi_{PSII}$  langust CO<sub>2</sub> assimilatsiooni vähenemise tõttu on näidatud ka lämmastikupuuduses taimedel (Lu & Zhang, 2000). Kuna käesolevas töös klorofüllü kontsentratsioon niisutustöötamise mõjul ei vähenenud (joonis 2a), siis tõsist lämmastikupuudust lehtedes tõenäoliselt ei olnud. Hübriidhaaval tõusis augustis võrreldes juuliga energia soojushajutamise efektiivsus (NPQ) (joonis 1c), kuid see polnud piisav, et kõrgema õhuniiskuse tingimustes fotosünteesi efektiivsuse langust ära hoida (joonis 1b). Mittefotokeemilise kustutamise aktiivsuse suurenemisega ei tõusnud augustis hübriidhaaval Car/Chl väärtus (joonis 2c). See võis tulla asjaolust, et NPQ väärtus näitab ksantofüllü tsükli de-epoksüdatsiooni määra, samas kui ksantofüllüde kontsentratsiooni suurenemine peegeldab pikaajalisemaid tingimusi (Esteban *et al.*, 2015). Samuti pole ksantofüllü tsükli pigmentid ainsad taimedes esinevad karotenoidid (Esteban *et al.*, 2015) ning seega ei pruugi need käesoleval juhul mõõdetud summaarsete karotenoidide sisalduse hulgast välja paista.

Arukasel fluorestsentsi parameetrid ( $F_v/F_m$ ,  $\Phi_{PSII}$ , qP) augustis õhuniiskuse mõjul tekkinud fotosünteesilise võimekuse langust ei näidanud, küll aga oli sarnaselt hübriidhaavaga märke liigsest valgusenergia neelamisest. Selle põhjuseks võis olla sarnaselt hübriidhaavaga CO<sub>2</sub> assimilatsiooni vähenemine. Car/Chl suhte väärtus oli arukasel augustis suurendatud õhuniiskuse tingimustes oluliselt suurem kontrollist (joonis 2c). Karotenoidid võtavad vastu klorofüllü ergastuse energia ning hajutavad selle, vältides niimoodi kahjustusi fotosünteesi aparaadile (Esteban *et al.*, 2015). Car/Chl väärtuse suurenemine näitab ka valgustpüüdivate antennikomplekside arvu vähenemist, kuna reaktsioonitsentrid sisaldavad antennikompleksidega võrreldes rohkem karotenoide (Selzer & Busso, 2016). Arukasel oli augustis niisutusringides kontrolliga võrreldes suurem Chl a/b väärtus (joonis 2b), mis samuti näitab suurenenud investeeringut fotosüsteemide reaktsioonitsentritesse antennikomplekside arvelt. Tänu sellele neelab taim vähem footoneid reaktsioonitsentri kohta ning on paremini liigse valguse eest kaitstud (Sato *et al.*, 2015). Arukask optimeeris energia kasutamist niimoodi,

et fotokeemiline efektiivsus erinevalt hübriidhaavast augustis niisutustöötuse tulemusena ei langenud.

Kokkuvõtvalt seisnesid arukase valguskaitse strateegiad juulis ja augustis peamiselt valgustpüüdvate antennikomplekside suuruse kohandamises (Chl a/b väärtuse muutuses) vastavalt keskkonnatingimustele, kusjuures mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) efektiivsus hoiti stabiilselt kõrgena. Hübriidhaava puhul oli Chl a/b väärtus stabiilselt madal ning stressitingimuste korral tõusis üldjuhul arukasest madalamana püsinud mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) aktiivsus.

#### **4.2. Valguskaitse lehtede vananemisel**

Arukase lehtede langemine algab FAHM katseala kontrollringides tavaliselt augusti esimesel poolel, niisutusringides hiljem (Godbold *et al.*, 2014). Visuaalsel hinnangul hakkasid kased katsealal kolletuma juba augustis, kuid septembriks puhkes puudele uusi lehti. Kuna noortel lehtedel on madalam LMA väärtus (Poorter *et al.*, 2009), toetab seda järeldust ka arukase lehtede LMA väärtuse langus septembris võrreldes augustiga (joonis 3a). Hübriidhaava LMA väärtus niisutusringides jäi septembris augustiga sarnaseks, samal ajal kui kontrollringides oluliselt tõusis (joonis 3a), seega võis ka haava puhul olla septembris niisutusringides tegu värskete lehtedega.

Septembris kummagi puuliigi maksimaalne fotosünteesi efektiivsus ( $F_v/F_m$ ) ei langenud, küll aga langes mõlemal liigil töötusest sõltumatult realiseerunud fotokeemilise efektiivsuse ( $\Phi_{PSII}$ ) väärtus (joonis 1). Fotosünteesi efektiivsuse langemise põhjuseks oli tõenäoliselt tagasivõtte inhibitsioon. Sügisel madalamatel temperatuuridel langeb süsivesinike transpordi ja tarbimise intensiivsus, mille tõttu kogunevad fotosünteesi produktid lehte (Lambers *et al.*, 2008). Suurenenud lehe suhkrukontsentratsioon toob kaasa fotosünteesi efektiivsuse languse ja indutseerib lehe vananemist (Quirino *et al.*, 2000). Lehtede vananemise protsess viib fotosünteesi tasakaalust välja, kuna CO<sub>2</sub> sidumise efektiivsus langeb enne kui valguse neelamise efektiivsus. Selle tõttu tekib energia ülejääk ja suurenenud oht ROS-ide tekkeks (Dai *et al.*, 2004). Oksüdatiivsete kahjustuste ärahoidmiseks tõuseb vananevates lehtedes tavaliselt soojushajutamise aktiivsus ning antioksidantide (kaasa arvatud antotsüaniinide) produktsioon (Wingler *et al.*, 2004). Harilikul müürloogal (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) (Wingler *et al.*, 2004) ja harilikul nisul (*Triticum aestivum* L.) (Dai *et al.*, 2004) on näidatud lehtede vananemise algfaasis mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) väärtuse olulist tõusu ning sellele järgnevat



langust. Käesolevas töös NPQ väärtus ei arukasel ega hübriidhaaval septembris võrreldes augustiga oluliselt ei tõusnud (joonis 1c). Küll aga tõusis mõlemal puuliigil lehtede antotsüaniinide kontsentratsioon (joonis 2d). Kanada leedril (*Sambucus canadensis* L.) on näidatud, et antotsüaniinidel on sügisperioodil NPQ kõrval oluline roll valgusstressi leevendamisel ning antotsüaniinide akumulatsioon kompenseerib madalamat NPQ aktiivsust (Cooney *et al.*, 2018). Vastupidiselt karotenoididele (sealhulgas ksantofüllilise tsükli pigmentidele), mida lehtede vananemisel lagundatakse, toimub antotsüaniinide kogunemine kuni lehtede langemiseni (Keskitalo *et al.*, 2005; Cooney *et al.*, 2018). Seega oli antotsüaniinidel käesolevas töös mittofotokeemilise kustutamise kõrval sügisperioodil ilmselt valguskaitseks oluline roll.

Hübriidhaaval langes lehtede klorofüllilise kontsentratsioon arukasest varem (joonis 2a). Lehtede klorofüllisisaldus oli septembris haaval kontrollringides niisutusringidest madalam ning Car/Chl väärtus kõrgem (joonis 2c). Karotenoidide sisaldus klorofüllilise kohta vananevates lehtedes tavaliselt tõuseb, kuna karotenoidid hajutavad klorofüllilise poolt neelatud üleliigset valgusenergiat ning seega kaitsevad fotosünteesi aparati klorofüllilise kontsentratsiooni langedes, tagades optimaalse lämmastiku tagasiimendumise lehtedest teistesse kudedesse (Adams III *et al.*, 1990). Soojushajutamise efektiivsus (NPQ väärtus) aga töötlust ei sõltunud ning keskmiselt langes augustiga võrreldes (joonis 1c). Mittofotokeemilise kustutamise aktiivsuse vähenemist sügisel võis kompenseerida suurem antotsüaniinide kontsentratsioon. Kontrollringides, kus oli oluliselt väiksem lehtede klorofüllilise ja karotenoidide kontsentratsioon, oli antotsüaniinide sisaldus kõrgem (tabel 3). Antotsüaniinidel on vananevates haavalehtedes oluline fotoprotektiivne roll ning nende akumulatsioon sõltub tugevasti valgusstressist, mis tekib näiteks külmadel ja päikeselistel päevadel (Keskitalo *et al.*, 2005).

Kuna klorofüllilise ja karotenoidide kontsentratsioon langes septembris hübriidhaaval kontrollringides varem kui niisutusringides, lükkas niisutustöötlus ilmselt hübriidhaava lehtede vananemist mingil määral edasi. See võis tuleneda väiksemast veestressist niisutusringides, kuna suurenenud õhuniiskuse tingimustes on puudel väiksem transpiratsiooni määr ning aeglasem mulla veevarude ammendumine (Tullus, 2017). Varem on FAHM katsealal vastupidiselt näidatud, et hübriidhaava lehtede langetamise dünaamika pole niisutustöötlustest oluliselt mõjutatud või põhjustab suurendatud õhuniiskuse hoopis varasemat lehtede langemist (Godbold *et al.*, 2014).

Arukase puhul on FAHM katses näidatud, et suurenenud õhuniiskuse lükkab lehtede langemist edasi (Godbold *et al.*, 2014). Käesolevas töös analüüsitud fotosünteesiliselt aktiivsetes lehtedes

töötlustevahelised erinevused välja ei tulnud, kuid niisutusringides püsisid lehed 2017. aastal kontrollringidest kauem puudel (Tullus, 2017). Septembri mõõtmisteks käesolevas töös arukase lehtede klorofüllisisaldus kummagi töötluste korral juuli ja augustiga võrreldes langenud ei olnud (joonis 2a). Arukasel langes seega fotosünteesi efektiivsus enne klorofülliki kontsentratsiooni langust. Arukasel tõusis sarnaselt hübriidhaavaga septembris lehtede antotsüaniinide kontsentratsioon (joonis 2d). Varasemalt on näidatud, et kase (*Betula*) liigid tavaliselt sügiseti antotsüaniini ei akumulēeri (Lee *et al.*, 2003), kuigi arukasel on mõningatel juhtudel näidatud antotsüaniinidest tuleneva punase värvuse tekkimist nii lehtede puhkemisel kevadel kui nende sügisel vananemisel (Taulavuori *et al.*, 2011). Samas on kase lehtede antotsüaniinide sisalduse kohta kirjandust vähe. Käesolevas töös hübriidhaava ja arukase vaheline erinev antotsüaniinide kontsentratsioon välja ei tulnud (tabel 2).

Kokkuvõttes toetas sügisel arukasel ja hübriidhaaval teisi valguskaitse mehhanisme oluliselt antotsüaniinide kogunemine lehtedesse. Laiema ökoloogilise ja metsamajandusliku tähtsusega on käesoleva töö tulemus, mis näitas, et kõrgendatud õhuniiskus pikendas puude kasvuperioodi ja lükkas edasi lehtede vananemist.

## KOKKUVÕTE

Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida suurenenud õhuniiskuse mõju arukase (*Betula pendula* Roth.) ja hübriidhaava (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) fotosünteesi efektiivsusele ja valguskaitse strateegiatele vegetatsiooniperioodi erinevates faasides. Selleks mõõdeti kolmel korral kasvuperioodi jooksul lehtede fluorestsentsi parameetreid ning määrati nende pigmentide sisaldus.

Tulemustest selgus, et arukased suutsid kasvuperioodi keskel hübriidhaavast efektiivsemalt fotokeemilist võimekust suurendatud õhuniiskuse tingimustes kõrgel hoida. Augustis hübriidhaava realiseerunud fotosünteesi efektiivsus niisutusringides langes hoolimata mittefotokeemilise kustutamise (NPQ) väärtuse tõusust. Arukasel hoidis valguskaitse mehhanismide rakendamine (karotenoidide kontsentratsiooni suurendades ja valgustpüüdivate antennikomplekside osakaalu vähendades) suvel fotosünteesi efektiivsuse stabiilsena.

Septembris mõlema puuliigi fotosünteesi efektiivsus tagasiside inhibitsiooni tõttu langes. Antotsüaniinide kogunemine oli sügisel oluliseks valguskaitse mehhanismiks. Suurenenud õhuniiskus lükkas hübriidhaaval lehtede langemist edasi, lehtede klorofüllisisaldus langes kontrollringides enne niisutusringe. Arukasel püsisid lehed hübriidhaavast kauem puul ning septembriks lehtede klorofüllisisaldus kontsentratsioon langenud ei olnud.

## SUMMARY

### **Effects of increased air humidity on photoprotective mechanisms in silver birch (*Betula pendula* Roth.) and hybrid aspen (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.)**

The aim of this thesis is to study the effect of increased air humidity on photosynthetic efficiency and photoprotective mechanisms in silver birch (*Betula pendula* Roth.) and hybrid aspen (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) during different phases of the growing season. Therefore, chlorophyll fluorescence parameters and leaf pigment concentrations were measured three times during the growing season.

The results show that silver birch retained high photosynthetic efficiency in elevated air humidity throughout the summer. In August, photosynthetic efficiency of hybrid aspen was shown to decrease despite increased non-photochemical quenching (NPQ). In silver birch, the photosynthetic efficiency remained stable as a result of photoprotective mechanisms such as increased leaf carotenoid concentration and decreased the proportion of light harvesting complexes.

In September, photosynthetic efficiency decreased in both species due to feedback inhibition. Anthocyanin accumulation was an essential photoprotective mechanism during leaf senescence. Increased air humidity delayed leaf senescence in hybrid aspen, whose leaf chlorophyll concentration declined more rapidly in control plots. In silver birch, leaf chlorophyll content had not decreased by September.

## **TÄNUAVALDUSED**

Täna oma juhendajaid Pille Mändi ja Linda Rusaleppa igakülgse abi eest. Samuti tänan kõiki, kes osalesid FAHM katse käiguhoidmises ning kelle kõrvalt sain nii katsealuseid kui katsevahendeid kasutada.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Adams III, W. W., Winter, K., Schreiber, U., & Schramel, P. (1990). Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Plantanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence. *Plant Physiology*, 92(4), 1184-1190.
- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., & Sakuratani, T. (2002). Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Science*, 163(1), 117-123.
- Cooney, L. J., Logan, B. A., Walsh, M. J., Nnatubeugo, N. B., Reblin, J. S., & Gould, K. S. (2018). Photoprotection from anthocyanins and thermal energy dissipation in senescing red and green *Sambucus canadensis* peduncles. *Environmental and Experimental Botany*, 148, 27-34.
- Dai, J., Gao, H., Dai, Y., & Zou, Q. (2004). Changes in activity of energy dissipating mechanisms in wheat flag leaves during senescence. *Plant Biology*, 6(2), 171-177.
- DaMatta, F. M., Loos, R. A., Silva, E. A., & Loureiro, M. E. (2002). Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal of Plant Physiology*, 159(9), 975-981.
- Demmig-Adams, B., & Adams III, W. W. (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43(1), 599-626.
- Esteban, R., Moran, J. F., Becerril, J. M., & García-Plazaola, J. I. (2015). Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany*, 119, 63-75.
- Feild, T. S., Lee, D. W., & Holbrook, N. M. (2001). Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *127(2)*, 566-574.
- Fini, A., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F., & Tattini, M. (2011). Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(5), 709-711.

- Godbold, D., Tullus, A., Kupper, P., Söber, J., Ostonen, I., Godbold, J. A., Lukac, M., Ahmed, I. U., & Smith, A. R. (2014). Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and humidity delay leaf fall in *Betula pendula*, but not in *Alnus glutinosa* or *Populus tremula* x *tremuloides*. *Annals of Forest Science*, 71(8), 813-824.
- Gould, K. S. (2004). Nature's swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 314-320.
- Hoch, W. A., Zeldin, E. L., & McCown, B. H. (2001). Physiological significance of anthocyanins during autumnal leaf senescence. *Tree Physiology*, 21(1), 1-8.
- Jaeger, C., Gessler, A., Biller, S., Rennenberg, H., & Kreuzwieser, J. (2009). Differences in C metabolism of ash species and provenances as a consequence of root oxygen deprivation by waterlogging. *Journal of Experimental Botany*, 60(15), 4335-4345.
- Jahns, P., & Holzwarth, A. R. (2012). The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817(1), 182-193.
- Jinwen, L., Jingping, Y., Pinpin, F., Junlan, S., Dongsheng, L., Changshui, G., & Wenyue, C. (2009). Responses of rice leaf thickness, SPAD readings and chlorophyll a/b ratios to different nitrogen supply rates in paddy field. *Field Crops Research*, 114(3), 426-432.
- Keskitalo, J., Bergquist, G., Gardeström, P., & Jansson, S. (2005). A cellular timetable of autumn senescence. *Plant Physiology*, 139(4), 1635-1648.
- Kitajima, K., & Hogan, K. P. (2003). Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant, Cell and Environment*, 26(6), 857-865.
- Kupper, P., Söber, J., Sellin, A., Löhmus, K., Tullus, A., Räm, O., Lubenets, K., Tulva, I., Uri, V., Zobel, M., Kull, O., & Söber, A. (2011). An experimental facility for free air humidity manipulation (FAHM) can alter water flux through deciduous tree canopy. *Environmental and Experimental Botany*, 72(3), 432-438.
- Lambers, H., Chapin III, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer.
- Lee, D. W., O'Keefe, J., Holbrook, N. M., & Feild, T. S. (2003). Pigment dynamics and autumn leaf senescence in a New England deciduous forest, eastern USA. *Ecological Research*, 18(6), 677-694.

- Lu, C., & Zhang, J. (2000). Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Science*, 151(2), 135-143.
- Matimati, I., Verboom, G. A., & Cramer, M. D. (2014). Nitrogen regulation of transpiration controls mass-flow acquisition of nutrients. *Journal of Experimental Botany*, 65(1), 159-168.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- Müller, P., Li, X.-P., & Niyogi, K. K. (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant physiology*, 125(4), 1558-1566.
- Niglas, A., Alber, M., Suur, K., Jasińska, A. K., Kupper, P., & Sellin, A. (2015). Does increased air humidity affect stomatal morphology and functioning in hybrid aspen? *Botany*, 93(4), 243-250.
- Niinemets, Ü. (1999). Components of leaf dry mass per area – thickness and density – alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytologist*, 144(1), 35-47.
- Ort, D. R. (2001). When there is too much light. *Plant Physiology*, 125(1), 29-32.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I. J., & Villar, R. (2009). Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, 182(3), 565-588.
- Porra, R. J., Thompson, W. A., & Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975(3), 384-394.
- Quirino, B. F., Noh, Y.-S., Himelblau, E., & Amasino, R. M. (2000). Molecular aspects of leaf senescence. *Trends in Plant Science*, 5(7), 278-282.
- Rosenvald, K., Tullus, A., Ostonen, I., Uri, V., Kupper, P., Aosaar, J., Varik, M., Söber, J., Niglas, A., Hansen, R., Rohula, G., Kukk, M., Söber, A., & Lõhmus, K. (2014). The effect of elevated air humidity on young silver birch and hybrid aspen biomass



- allocation and accumulation - acclimation mechanisms and capacity. *Forest Ecology and Management*, 330, 252-260.
- Ruban, A. V. (2016). Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiology*, 170(4), 1903-1916.
- Ruban, A. V., Johnson, M. P., & Duffy, C. D. (2012). The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817(1), 167-181.
- Sato, R., Ito, H., & Tanaka, A. (2015). Chlorophyll b degradation by chlorophyll reductase under high-light conditions. *Photosynthesis Research*, 126(2-3), 249-259.
- Savage, J. A., Cavender-Bares, J., & Verhoeven, A. (2009). Willow species (genus: *Salix*) with contrasting habitat affinities differ in their photoprotective responses to water stress. 36(4), 300-309.
- Sellin, A., Tullus, A., Niglas, A., Öunapuu, E., Karusion, A., & Lõhmus, K. (2013). Humidity-driven changes in growth rate, photosynthetic capacity, hydraulic properties and other functional traits in silver birch (*Betula pendula*). *Ecological Research*, 28(3), 523-535.
- Selzer, L. J., & Busso, C. A. (2016). Pigments and photosynthesis of understory grasses: light irradiance and soil moisture effects. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(2), 224-234.
- Sims, D. A., & Gamon, J. A. (2002). Relationship between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, 81(2-3), 337-354.
- Smethurst, C. F., & Shabala, S. (2003). Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. *Functional Plant Biology*, 30(3), 335-343.
- Takashima, T., Hikosaka, K., & Hirose, T. (2004). Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves. *Plant, Cell and Environment*, 27(8), 1047-1054.
- Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, 54(4), 733-749.

- Taulavuori, K., Pihlajaniemi, H., Huttunen, S., & Taulavuori, E. (2011). Reddish spring colouring of deciduous leaves: A sign of ecotype? *Trees*, 25(2), 231-236.
- Tullus, A. (2017). *Eesti arukaasikute kohanemisvõime kliimamuutusega – rakendusuuringud FAHM katsealal*. Tartu.
- Tullus, A., Kupper, P., Sellin, A., Parts, L., Sõber, J., Tullus, T., Lõhmus, K., Sõber, A., & Tullus, H. (2012). Climate change at northern latitudes: rising atmospheric humidity decreases transpiration, N-uptake and growth rate of hybrid aspen. *PLoS ONE*, 7(8).
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 114(3), 307-313.
- Verhoeven, A. S., Demmig-Adams, B., & Adams III, W. W. (1997). Enhanced employment of the xanthophyll cycle and thermal energy dissipation in spinach exposed to high light and N stress. *Plant Physiology*, 113(3), 817-824.
- Wingler, A., Marès, M., & Pourtau, N. (2004). Spatial patterns and metabolic regulation of photosynthetic parameters during leaf senescence. *New Phytologist*, 161(3), 781-789.

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Mari-Liis Kirsimägi,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Suurendatud õhuniiskuse mõju arukase (*Betula pendula* Roth.) ja hübriidhaava (*Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx.) valguskaitse strateegiatele“, mille juhendajad on Pille Mänd ja Linda Rusalepp,
  - 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 23.05.2018