

Tiina Rajala

Selittävätkö mykorrhitsojen lajit ja lajilukumäärät puiden kasvueroja?

Johdanto

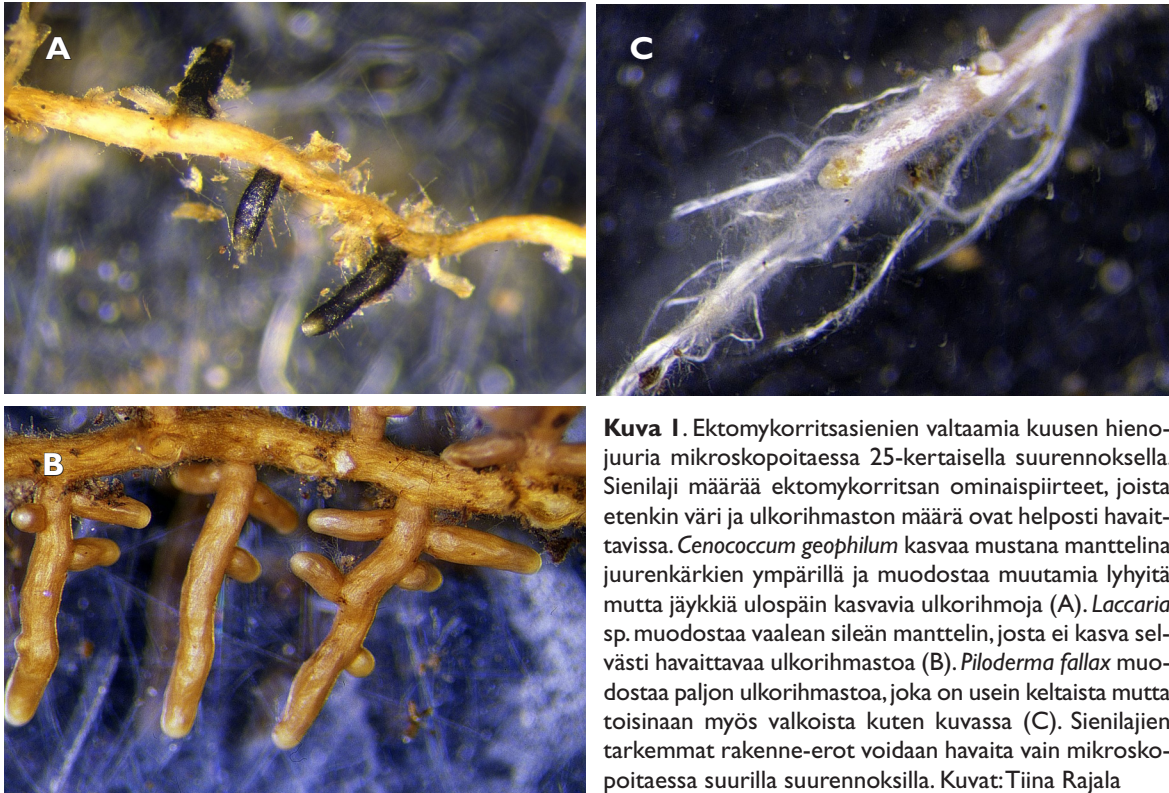
Puun juuriston tehtävänä on paitsi ankkuroida puu maahan, myös ottaa maasta vettä ja ravinteita. Boreaaliset metsämaamme ovat kuitenkin varsin vähäravinteisia ja ravinteita on sitoutunut maaperään sellaisissa muodoissa, joita kasvit eivät pysty hyödyntämään. Puiden ravinteiden saannin kannalta oleellisia ovat maassa elävät mykorrhitsasienet, joiden kanssa puu muodostaa sienijuuriksi eli mykorrhitsoiksi kutsuttuja symbiooseja. Mykorrhitsasymbioosissa sieni kuljettaa isäntäpuulle maasta ravinteita ja vettä. Mykorrhitsasieni voi lisätä puun ravinteiden- ja vedenottopinta-alaa 1000-kertaiseksi, sillä hennot sienirihmat levittäytyvät laajemmalle alalle kuin juuret ja tunkeutuvat myös pieniin huokosonkaloihin, joihin juuret eivät mahdu. Mykorrhitsasienet pystyvät myös ottamaan ravinteita sellaisista orgaanisista yhdisteistä sekä mineraaliyhdisteistä, joista juuret eivät pysty. Mykorrhitsasymbioosissa puu vastavuoroisesti luovuttaa sienikumppanilleen yhteystuotteita energian lähteeksi.

Suomen pääpuulajit, kuusi, mänty ja koivu, muodostavat ektomykorrhitsoja, joille tunnusomaista on sienien kasvu juuren solujen välissä sekä tiukkana manttelina juuren pinnalla. Manttelin pinnasta kasvaa ulospäin sienilajista riippuen enemmän tai vähemmän sienien ulkorihmastoja (Kuva 1). Koska eri mykorrhitsasienilajit ovat rakenteellisesti ja toiminnallisesti erilaisia, voi useampi sienilaji taata paremmin kasvin ravinteiden ja veden saannin ja

lisätä siten kasvin kasvua. Puun mykorrhitsojen muodostumiseen vaikuttaa puulaji, puun ikä, maaperän ravinteisuus ja muut ominaisuudet, tarjolla oleva sienilajisto, kilpailu sekä maaperän muu eliöstö. Vaikka suurin osa kaikista kasveista muodostaa mykorrhitsoja, ovat monet kasvit ja mykorrhitsasienet keskenään yhteen sopimattomia. Tottunut sienestäjä tietää, että kangastattia (*Suillus variegatus*) kannata etsiä kuusimetsän sijaan männiköstä, ja että kantarellin (*Cantharellus cibarius*) voi löytää koivujen lähietäältä. Tietyn puulajin tiedetään siis suosivan tiettyjä mykorrhitsasieniä. Saman puulajin eri yksilöiden välisestä vaihtelusta mykorrhitsalajiston suhteen ei ole aiemmin tiedetty juuri mitään. Vuosi sitten tarkastetussa väitöskirjassani tarkasteltiin kuusiyksilöiden vaikutusta ektomykorrhitsayhteisön rakenteeseen. Tutkitut kuuset olivat samanikäisiä mutta kasvumenestykseltään erilaisia, minkä takia haluttiin selvittää mahdolliset erot niiden mykorrhitsayhteisöissä.

Molekyylibiologisten menetelmien käyttö mykorrhitsayhteisöiden tutkimisessa

Vuosi vuosikymmeneltä asti lisääntynyt molekyylibiologisten menetelmien käyttö ekologisissa tutkimuksissa on lisännyt räjähdysmäisesti mykorrhitsayhteisöiden tuntemusta. Perinteisesti ektomykorrhitsasienilajistoa on tutkittu kartoittamalla maanpäälliset itiöemät, minkä nykyään tiedetään



Kuva 1. Ektomykorritsasienien valtaamia kuusen hienojuuria mikroskoipoitaessa 25-kertaisella suurennoksella. Sienilaji määrää ektomykorritsan ominaispiirteet, joista etenkin väri ja ulkorihmaston määrä ovat helposti havaittavissa. *Cenococcum geophilum* kasvaa mustana manttelina juurenkärkien ympärillä ja muodostaa muutamia lyhyitä mutta jäykkiä ulospäin kasvavia ulkorihmoja (A). *Laccaria* sp. muodostaa vaalean sileän manttelin, josta ei kasva selvästi havaittavaa ulkorihmastoja (B). *Piloderma fallax* muodostaa paljon ulkorihmastoja, joka on usein keltaista mutta toisinaan myös valkoista kuten kuvassa (C). Sienilajien tarkemmat rakenne-erot voidaan havaita vain mikroskoipoitaessa suurilla suurennoksilla. Kuvat: Tiina Rajala

antavan erilaisen näkymän lajistosta kuin jos tutkitaan mykorritsajuurenkärkiä tai maassa kasvavaa sienirihmastoja. Mykorritsasyhteisöjä voidaan myös tarkastella mikroskoipoimalla juurenkärkiä (Kuva 1). Mykorritsasienien lajitunnistus mikroskooppisten tunnusmerkkien perusteella vaatii kuitenkin vuosien harjaantumista, ja kokeneeltakin mikroskoipoijalta voi joku sienilaji jäädä tunnistamatta tai vasta kehittymässä oleva mykorritsa havaitsematta.

Nykyään sienilaji voidaan tunnistaa DNA:n (deoksiribonukleiinihapon) perusteella. Väitöskirjatutkimuksessani tutkin mykorritsasieniyhteisöjä eristämällä DNA:ta mykorritsajuurenkärjistä sekä maassa kasvavasta sienirihmastosta. DNA-juosteen emäsjärjestyksestä eli sekvenssistä suuri osa on kaikilla lajeilla samankaltaista mutta DNA:ssa on myös alueita, joita tutkimalla voidaan erottaa eri lajit toisistaan. Itse käytin sienien tunnistukseen DNA:n niin kutsuttua ITS-aluetta (internal transcribed spacer), jota on eniten käytetty eri sienilajin

erotteluun ja tunnistukseen. ITS-alue osoittautui tutkimuksessani hyvin muuntelevaksi ja se soveltui erinomaisesti eri lajein erotteluun. Toisaalta havaitsin, että ITS-alue muuntelee myös saman lajin ja jopa saman yksilön sisällä, mikä osaltaan vaikeutti analyysyä ja lajiston monimuotoisuuden arviointia. Löytämieni sienien lajinimet selvitin määrittämällä niiden DNA-sekvenssit ja vertaamalla niiden samankaltaisuuksia lajilleen tunnistettujen sienien DNA-sekvensseihin. Maailmanlaajuisesti eri organismien DNA-sekvenssejä on kerätty niin sanottuun geenipankkiin, joka on kaikkien käytettävissä internetin kautta (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Yleinen geenipankki laajenee nykyään eksponentiaalista vauhtia ja se on kaikkein kattavin DNA-sekvenssien tietopankki. Siitä huolimatta sen tiedot eivät riitä kaikkien sienien luotettavaan lajitunnistukseen, minkä itsekkin havaitsin tutkimuksessani. Yleisen geenipankin ongelmana ovat myös virheet sekvensseissä ja niiden nimeämisissä. Ongelman

ratkaisuksi on perustettu tarkastettuja, luotettavia geenipankkeja, joissa virheitä ei pitäisi olla. Yksi tällainen on pohjoismaisten mykorritsatutkijoiden luoma UNITE (<http://unite.ut.ee/>), johon on tällä hetkellä (keväällä 2009) tallennettu yli tuhannen mykorritsasienilajin ITS-alueen DNA-sekvenssit. Kaikki UNITE:n sekvenssit ovat peräisin mykorritsasienien itiöemistä, jotka ovat asiantuntijoiden lajilleen tunnistamia. Tulevaisuudessa UNITE:a laajennetaan kattamaan myös mykorritsajuurenkärjistä peräisin olevia DNA-sekvenssejä, jolloin tutkimukseni tuottamat DNA-sekvenssitkin voidaan tallentaa kyseiseen tietokantaan.

Mykorritsojen vaikutus puiden kasvuun

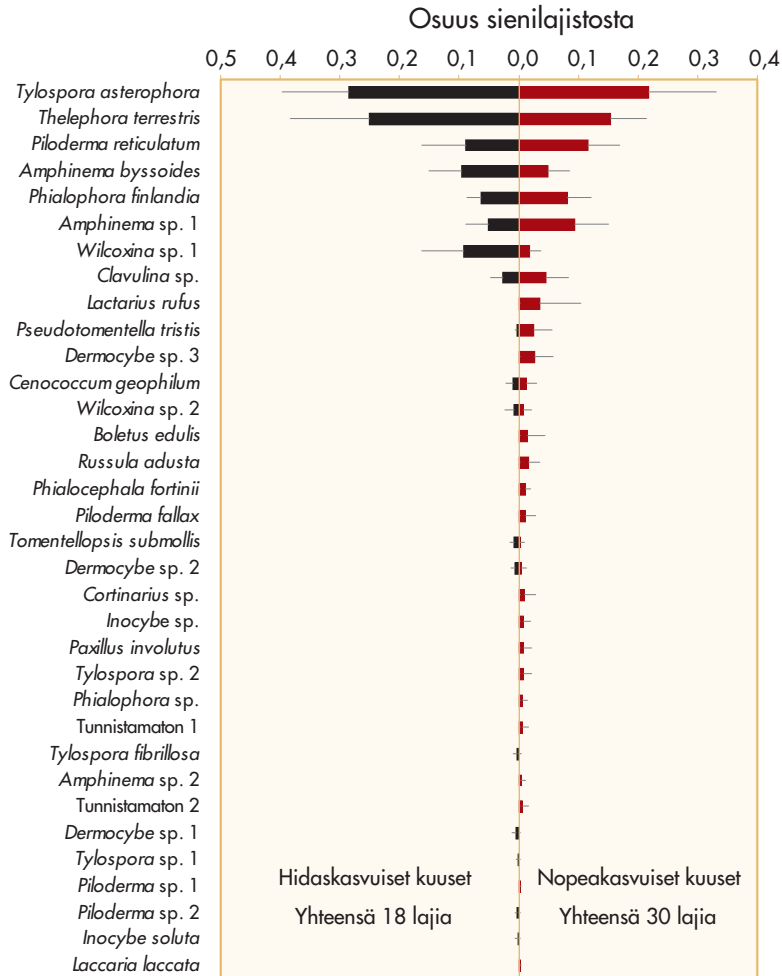
Lukuisat tutkimukset ovat osoittaneet, että mykorritsoilla on positiivinen vaikutus kasvien kasvuun ja elinvoimaisuuteen. Pohjois-Amerikassa ja myös Euroopassa on jopa myynnissä kaupallisia mykorritsasieniymppejä puiden ja puutarhakasvien kasvun edistämiseksi. Mykorritsojen vaikutus kasvin kasvuun kuitenkin riippuu aina kasvuolosuhteista, sienestä ja kasvista. Esimerkiksi runsaravinteisessa kasvualustassa, jossa kasvi saa itse riittävästi liukoissa muodossa olevia ravinteita, voi mykorritsasieni olla kasville tarpeeton tai jopa pelkkä kustannus. Myös yhteensopimaton kasvi-sienikumppanuus voi johtaa kasvin elinvoimaisuuden heikkenemiseen.

Tutkimuksessani tarkasteltiin Metsänjalostussäätiön 1994 perustamaa kuusen kloonikoetta, jossa 11 vuoden kasvun jälkeen oli havaittavissa kaksinkertaisia kasvueroja eri kuusikloonien välillä. Tutkimukseeni valittiin yhteensä kahdeksan kuusikloonia, joista neljä hidaskasvuista olivat keskimäärin 159 cm pitkiä (142–170 cm) ja neljä nopeakasvuista keskimäärin 280 cm (259–303 cm). Nämä pluspuiden ja niiden risteytysten pistokaskloonit oli istutettu avohakatulle 1 ha metsämaa-alalle satunnaisesti, joten eri kuusiklooneilla oli ollut samanlaiset edellytykset kasvuun. Suuret kasvuerot herättivät väitöstutkimukseni keskeisen kysymyksen: ”ovatko mykorritsat voineet vaikuttaa puiden kasvueroihin?”

Tutkimus osoitti, että maan ravinnepitoisuudet eivät eronneet hitaasti ja nopeasti kasvaneiden kuusien alla. Se sijaan nopeakasvuilla kuusilla eli juuristoissaan lähes kaksinkertainen määrä ektomykorrit-

salajeja verrattuna hidaskasvuisiin kuusiin (Kuva 2). Nopeakasvuisten kuusien hienojuurista löytyi yhteensä 30 sienilajia, kun taas hidaskasvuisten kuusien juuristoista löytyi vain 18 sienilajia. Sekä sienilajien lukumäärä että lajiston monimuotoisuutta kuvaava Shannonin diversiteetti-indeksi olivat tilastollisesti suurempia nopeakasvuilla kuusilla verrattuna hidaskasvuisiin kuusiin. Tulos tukee olettamusta, että mykorritsojen suuri monimuotoisuus edistää kasvien kasvu. Mykorritsamonimuotoisuuden on aiemmin osoitettu lisäävän ainakin heinäkasvien kasvu. Myös pienillä puuntaimilla tehdyt tutkimukset ovat antaneet viitteitä siitä, että mykorritsamonimuotoisuudesta on puulle hyötyä etenkin vähäravinteisessa maassa. Mykorritsamonimuotoisuuden vaikutuksen tutkiminen täysikasvuisten puiden kasvuun on kuitenkin käytännössä hankalaa ja siksi tutkimustietoa on vielä vähäistä.

Havaitsin myös mykorritsalajistokoostumuksessa eroja nopea- ja hidaskasvuisten kuusien välillä. Ero kuusien mykorritsasienissä oli selvemmin havaittavissa tarkasteltaessa maassa kasvanutta mykorritsasienirihmastoja, vaikka juurissa ja maassa kasvanut sienilajisto oli samankaltaista. Hidaskasvuisten kuusien yhteydessä eli enemmän kotelosieniä kuin nopeakasvuilla kuusiklooneilla. Löydettyjä kotelosieniä olivat *Cenococcum geophilum*, *Phialophora finlandia*, *Phialopcephala fortinii* ja *Wilcoxina* sp., joista erityisesti viimeksi mainittu oli yleinen sieni hidaskasvuilla kuusilla. Löydettyistä Atheliaceae-heimon sienistä (*Tylospora*, *Amphinema*, *Piloderma*) erityisesti *Piloderma*-orvakkalajit sitä vastoin olivat yleisiä nopeakasvuilla kuusilla. *Piloderma* ja monet muut Atheliaceae-heimon kuuluvat ektomykorritsasienilajit muodostavat tyypillisesti paljon ravinteiden oton kannalta tärkeää ulkorihmastoja (Kuva 1C). Tämä näkyi maassa kasvavan mykorritsasienirihmaston määrässä, joka oli tilastollisesti merkittävästi suurempi nopeasti kasvaneiden kuusien alla. Suurempi sienibiomassa nopeakasvuisten kuusten yhteydessä selittyi tosin osaksi suuremmilla juuristoilla. Tulokset kuitenkin viittaavat siihen, että suuri mykorritsalajimäärä sekä optimaalinen lajistokoostumus ovat voineet edistää nopeakasvuisten kuusien kasvu.



Kuva 2. Nopea- ja hidaskasvuisten kuusien hienojuurista löydetty mykorritsalajit. Nopeakasvuuisilla kuusilla oli enemmän eri ektomykorritsalajeja kuin hitaammin kasvaneilla kuusilla. Kunkin mykorritsalajin runsaus on ilmoitettu osuutena kaikkien laskettujen mykorritsajuurenkärkien lukumäärästä. (Muokattu väitöskirjan Rajala 2008 I. osajulkaisusta Korkama et al. New. Phyt. 2006.)

Puun perimän vaikutus mykorritsoihin

Aiemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että puuntaimen geneettinen perimä vaikuttaa mykorritsallisten juurenkärkien osuuteen juuristossa ensimmäisen kasvukauden jälkeen. Juurien mykorritsoitumista on kuitenkin tutkittu kasvatuskokeissa siten, että pienellä taimella oli tarjolla vain yhtä sientä kerrallaan, mikä luonnossa ei ole todennäköinen tilanne. Luonnossa yli 95 % puiden hienojuurista on mykor-

ritsasiendien valloittamia ja siksi mielekkäämpää on kysyä, miten puun perimä vaikuttaa mykorritsojen lajistokoostumukseen. Taimitarhalta taimi saa mykorritsakumppanikseen jo useita eri sienilajeja ja täysikasvuisiksi puuksi kasvettuuaan sen juuristossa voi elää toistakymmentä erilaista mykorritsasienilajia. Joitain viitteitä on siitä, että mykorritsajisto saattaa erota eri puuyksilöiden välillä.

Metsissämme ektomykorritsasympiooseja muodostavien puulajien lukumäärä ei ole suhteessa

mykorritsasienien lajilukumäärän kanssa: Suomessa ektomykorritsoja muodostavia puulajeja on vain kourallinen mutta ektomykorritsasienilajeja on ainakin yli tuhat. Yhden puulajin metsiköstäkin voi löytää 50 eri ektomykorritsasienilajia. Tutkimukseni toinen keskeinen hypoteesi oli, että perimältään erilaiset puut suosivat eri sienilajeja symbioottiseksi kumppaneikseen. Kuusien mykorritsalajistorakenteita kuvattiin monimuuttujamenetelmiin kuuluvilla ordinaatioanalyysillä (DCA, NMS). Vaikka selkeimmät erot mykorritsayhteisöissä oli havaittavissa nopea- ja hidaskasvuisten kuusien välillä, oli eroja myös näiden kahden ryhmän sisällä. Kaksi hidaskasvuista kuusikloonaa eivät eronneet mykorritsalajilukumäärän suhteen toisistaan mutta ne suosivat eri mykorritsalajeja. Toisella hidaskasvuisella kuusikloonilla oli enemmän *Tylospora asterophora* -sienilajia, kun taas toisen juuristoissa oli enemmän karvasilokkaa (*Thelephora terrestris*). Karvasilokkaa ei pidetä isäntäpuun elinvoimaisuuden kannalta erityisen hyvänä mykorritsalajina ja päällisin puolin nämä kuuset näyttivätkin huonokuntoisemmilta kuin toiset hidaskasvuiset kuuset. Neulasten ravinnepitoisuuksissa ei kuitenkaan ollut eroa kloonien välillä. Nopeakasvuisia kuusia tarkasteltaessa mielenkiintoista oli, että alkuperältään virolaiset kuuset erosivat mykorritsayhteisön rakenteen suhteen muista kasvultaan vastaavista kuusista. Niiden juuristoissa eli vähemmän mykorritsalajeja kuin muilla nopeakasvuisilla kuusilla. Ilmeisesti geeniperimältään vierasperäiset, vaikkakin vain naapurimaasta peräisin olevat, kuuset olivat huonommin sopeutuneet suomalaiseen mykorritsalajistoon kuin kotoperäiset kuuset ja siksi niillä oli vähemmän mykorritsalajeja.

Päätelmiä

Tutkimukseni tulokset osoittivat, että puiden symbioottiset mykorritsasieniyhteisöt voivat erota puiden lajista, iästä ja kasvupaikasta riippumatta. Näin ollen puiden yksilölliset vaikutukset selittävät mykorritsasienien esiintymisen laikuittaisuutta ja lisäävät maaperän mykorritsasieniyhteisön monimuotoisuutta. Mykorritsayhteisön monimutoisuuden on arveltu lisäävän puiden kasvua, mihin viittaa myös havaitsemani ero nopea- ja hidaskasvuisten kuusien

mykorritsasienilajien lukumäärässä. Näyttäisi siis siltä, että ominaisuuksiltaan heterogeeninen puusto pystyy parhaiten ylläpitämään metsämaan mykorritsamonimuotoisuutta, joka edelleen takaa puille parhaat kasvuedellytykset. Kestävän metsänhoidon kannalta tulisikin turvata puuston riittävän suuri geneettinen vaihtelu, jotta puut ja niiden kanssa symbioosissa elävät mykorritsasienet voisivat hyvin nyt ja tulevaisuudessa.

Varsinaiset syys-seuraussuhteet puiden geneettisen säätelyn, kasvun ja mykorritsamonimuotoisuuden välillä jäivät tutkimuksessani avoimiksi kysymyksiksi. Metsäntutkimuslaitoksessa alkoi tänä vuonna Suomen Akatemian rahoittama nelivuotinen hanke, joka jatkaa aiheen tutkimista. Tavoitteena on selvittää, onko puun kyky muodostaa monimuotoinen mykorritsayhteisö geneettisesti periytyvä ominaisuus, ja edistääkö monimuotoinen ja lajistoltaan optimaalinen mykorritsayhteisö jo taimivaiheesta lähtien puun kasvua ja elinvoimaisuutta.

Kirjallisuutta

- Agerer, R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 11: 107–114.
- Horton, T.R. & Bruns, T.D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10: 1855–1871.
- Rajala, T. 2008. Responses of soil microbial communities to clonal variation of Norway spruce. *Dissertationes Forestales* 58. 50 s.
<http://www.metla.fi/dissertationes/df58.htm>
- Tagu, D., Rampant, P.F., Lapeyrie, F., Frey-Klett, P., Vion, P. & Villar, M. 2001. Variation in the ability to form ectomycorrhizas in the F1 progeny of an interspecific poplar (*Populus* spp.) cross. *Mycorrhiza* 10: 237–240.
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglou, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72.

■ FT Tiina Rajala, Metsäntutkimuslaitos, Vantaa. Sähköposti tiina.rajala@metla.fi