

Hannele Tuominen

Puun ominaisuuksien fysiologinen säätely

Puun laatu määräytyy useiden eri ominaisuuksien ja näihin vaikuttavien tekijöiden perusteella. Ulkoiset tekijät, kuten kasvukauden pituus, lämpöolosuhteet, ravinnetilanne, veden saatavuus ja erilaiset häiriötilanteet säätelevät puun eri ominaisuuksia (Barnett 1981). Näiden tekijöiden vaikutus kasvien kasvuun ja kehitykseen ei kuitenkaan ole suoranaista, vaan yleensä välittyä sisäisten signaalimekanismien kautta. Tällaisia fysiologisia signaaleja ovat ainakin kasvihormonit ja erilaiset hiilihydraattiyhdisteet kuten oligosakkaridit. Signaalit välittyvät aina geenitasolle saakka; signaalimolekyylit aktivoivat tai passivoivat geenien ekspressiota siten että puun kasvu parhaiten sopeutuu vallitseviin ulkoisiin olosuhteisiin.

Kasvihormonit säätelevät puusolujen erilaistumista

Kasvihormonit ovat tärkein puiden fysiologiaa säätelevä signaalimolekyyli-ryhmä. Tähän ryhmään kuuluu yhdisteitä viidestä eri päätyypistä; auksiniinit, sytokiniinit, gibberelliinit, abskisiinihappo ja etyleeni (Davies 1995). Jokaisen kasvihormoniryhmän on raportoitu sisältävän yhdisteitä, jotka liittyvät tavalla tai toisella puun laadun säätelyyn. Vahvimmat todisteet kasvihormonien tärkeydestä on saatu protoplasti- ja kallusviljelmistä, joissa kasvihormonien lisäys on ollut edellytys puusolujen erilaistumiselle (Roberts ym. 1988). Lisäksi eräiden kasvihormonien on voitu todeta yksistään korvaavan lehtien tai silmujen johtosolukkoja indusoiva

vaikutus (Sachs 1981). Eri kasvihormonien vaikutus on usein hyvin erilainen, ja yhden kasvihormonin aiheuttama reaktio saattaa myös vaihdella eri solukko- tai solutyypeissä. Vaikuttaakin siltä, että yksittäiset kasvihormonit ovat osallisena useassa eri prosessissa, ja että jokaisen prosessin säätelyyn osallistuu useita eri kasvihormoneita, jotka toimivat joko additiivisesti, antagonisesti tai synergistisesti.

Hyvä esimerkki kasvihormonien osallisuudesta puun muodostuksen säätelyyn on auksiiniryhmään kuuluva indolyyli-3-etikkahappo (IAA). Ensinnäkin IAA ylläpitää jälleen integriteettiä ja aktiivisuutta. Korkea IAA:n biosynteesinopeus puun latvassa indusoi jälsisolujen määrän lisääntymisen, mikä vuorostaan johtaa lisääntyneeseen puuntuottoon (Uggla ym. 1996). Toisaalta IAA:n uskotaan säätelevän useita eri puun laatuun vaikuttavia ominaisuuksia, kuten puusolujen läpimittaa ja pituutta, puun eri solutyypin esiintymisfrekvenssiä, ja soluseinien kemiallista koostumusta (Little ja Pharis 1995). Korkean IAA-konsentraation on raportoitu lisäävän puusolujen kokoa sekä poikki- että pituussuunnassa, parenkymaattisen solukon osuutta puussa ja soluseinien paksuutta. Useat tutkimukset osoittavat kuitenkin, että IAA:n osuus puun fysikaalisten ominaisuuksien säätelyssä ei ole näin yksinkertainen. Aloni ja Zimmerman (Aloni ja Zimmermann 1983) esittivät teorian IAA:n jakautumisesta puun eri osissa, ja miten se säätelee puusolujen ominaisuuksia, kuten kokoa ja suhteellista esiintymisfrekvenssiä. Heidän mukaansa korkea IAA-konsentraatio puun latvaosissa indusoi puusolujen nopean eri-



Kuva 1. Kaksi transgeenistä hybridihaapaa (linja G1'2'D vasemmalla, linja 58A oikealla), joihin on siirretty IAA-biosynteesistä vastaava geeni, ja normaali hybridihaapa (kuvassa keskellä). Kasvien hormonipitoisuus on tarkan säätelyn alaisena, ja muutokset hormonipitoisuudessa, kuten tässä tapauksessa IAA:n ylituotanto, johtavat usein kasvun heikkenemiseen.

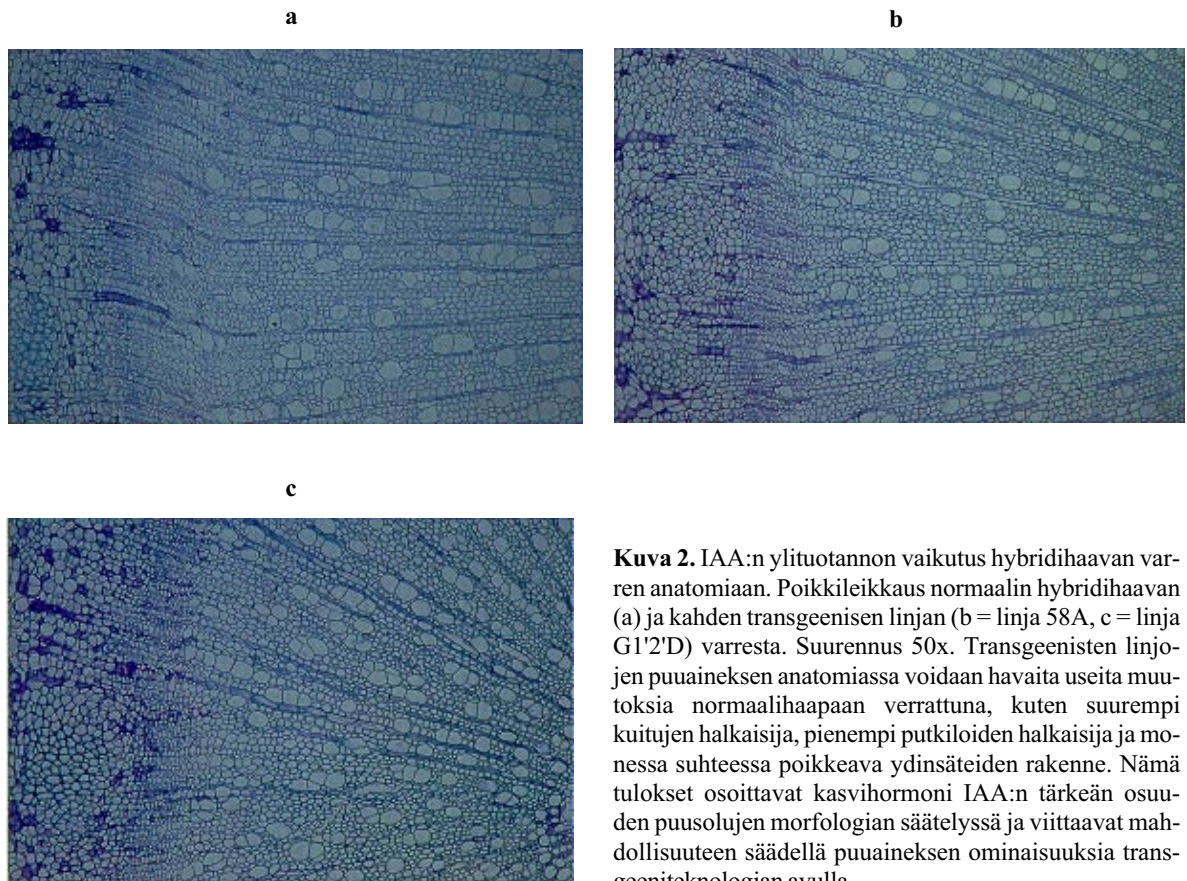
laistumisen ja solukoon pienenemisen. Tästä seuraa, että IAA-konsentraation vähentyessä puun tyveä kohti myös puusolujen erilaistuminen hidastuu ja solukoko suurenee. Tämä teoria on ristiriidassa useimpien muiden tutkimustulosten kanssa, mutta on herättänyt suurta huomiota puufysiologien parissa. On kuitenkin huomattavaa, että teoria perustuu eräänlaisen loogisen perustelun lisäksi koejärjestelyihin, joissa IAA:n konsentraatio on keinotekoisesti kohotettu ulkoisen lisäyksen avulla. Tällaisten koejärjestelyiden perusteella vedetyt johtopäätökset ovat kyseenalaisia, jos niitä ei vahvisteta analysoimalla solujen tai solukon endogeeninen IAA-konsentraatio eri kehitysprosessien yhteydessä. Lisäksi kunkin prosessin yhteydessä tulisi ottaa huomioon muiden kasvihormonien säätelevä vaikutus. Gibberelliinien on esimerkiksi osoitettu ole-

van olennainen kasvisolujen pitenemistä aktivoiva tekijä, kun taas abskisiinihappo ja etyleeni ovat luultavasti solujen kasvua inhiboivia yhdisteitä.

Tutkimus puretuu säätelyn ajankohtaan

Kun puun ominaisuuksien säätelyä pyritään selvittämään kasvihormonikonsentraation avulla, on tärkeää ottaa huomioon säätelyn ajalliset ja paikalliset tekijät. Kun esimerkiksi halutaan määrittää IAA-konsentraatio puusolujen erilaistumisen aikana, näytteet tulisi kerätä juuri siitä solukosta tai solusta, jossa erilaistuminen määräytyy. Näin ei kuitenkaan usein ole tilanne, vaan konsentraatio määritetään usean eri solukotyypin muodostamista näytteistä. Kasvihormonien välittämän säätelyn, kuten muidenkin puun ominaisuuksiin vaikuttavien tekijöiden, tutkimuksen suuri ongelma onkin säätelyn tarkka ajankohta. Tiedetään hyvin vähän siitä, millä hetkellä solujen erilaistuminen määräytyy, ja kuinka paljon erilaistumiseen voidaan vaikuttaa määräytymisen jälkeen. Puun molekyylibiologian parissa työskentelevien tutkijoiden mukaan puusolujen identiteetti ja osittain myös erilaistuminen määräytyvät hyvin aikaisessa vaiheessa, jo ennen solujen irtaantumista jälsisolukosta (Steeves ja Sussex 1989, Savidge 1996). Siten puusolujen suhteellinen esiintymisfrekvenssi ja ryhmittäytyminen olisi lyöty lukkoon jo jäljen alueella, mutta puusolujen fysikaalisten ja kemiallisten ominaisuuksien säätely jatkuisi vielä jonkin matkaa ksyleemin puolelle.

Eräs keino paikallisen ja ajallisen säätelyn tutkimiseen on mahdollisten säätelymolekyylien konsentraation muuntaminen transgeeniteknologian (= siirtogeeniteknologia) avulla. Tutkijoilla on käytävissään yhä laajeneva joukko geenejä, joiden avulla pystytään muuttamaan esimerkiksi kasvihormonien tai eri hiilihydraattiyhdisteiden konsentraatiota kasveissa. Tätä muuntelua voidaan ajallisesti ja paikallisesti säädellä käyttämällä erilaisia geenien säätelysekvenssejä ja indusoituvia systeemejä. Meidän laboratoriossamme on valmistettu transgeenisia hybridihaapoja (*Populus tremula* × *P. tremuloides*), joihin on siirretty IAA-biosynteesistä vastaava geeni, ja jotka sen seurauksena tuottavat ylimäärin IAA:ta (Tuominen ym. 1995). Ylituotto ei ole ajallisesti säädeltä, mutta paikallises-



Kuva 2. IAA:n ylituotannon vaikutus hybridihaavan varren anatomiaan. Poikkileikkaus normaalin hybridihaavan (a) ja kahden transgeenisen linjan (b = linja 58A, c = linja G1'2'D) varresta. Suurenus 50x. Transgeenisten linjojen puuaineksen anatomiaa voidaan havaita useita muutoksia normaalahaapaan verrattuna, kuten suurempi kuitujen halkaisija, pienempi putkiloiden halkaisija ja monessa suhteessa poikkeava ydinsäteiden rakenne. Nämä tulokset osoittavat kasvihormoni IAA:n tärkeän osuuden puusolujen morfologian säätelyssä ja viittaavat mahdollisuuden säädellä puuaineksen ominaisuuksia transgeenitekniikan avulla.

ti kylläkin. Käyttämällä erilaisia IAA-biosynteesigeenin säätelysekvenssejä voimme kohdentaa ylituotannon siihen soluksoon tai jopa soluun, josta olemme kiinnostuneet. Yksi tällainen transgeeninen linja, jonka IAA-tuotantoa on vain hieman kohotettu, osoittaa useita muutoksia puun laadussa. Ensinnäkin puusolujen koko on normaalista poikkeava; kuitujen halkaisija on normaalia suurempi ja putkiloiden halkaisija on normaalia pienempi, mikä johtaa puusolujen yhtäläisempään kokojakaamaan. Puusolujen pituus on muuttumaton, kuten myös puun ligniinipitoisuus, mutta puun parenkymaattinen solukko osoittaa jälleen useita muutoksia normaaleihin puihin verrattuna. Parenkymaattisten ydinsädesolujen koko on normaalia suurempi, mutta ydinsäteiden määrä on pienempi ja organisaatio häiriintynyt. Kaiken kaikkiaan nämä tu-

okset viittaavat siihen, että IAA on tärkeä puusolujen morfologiaa säätelevä yhdiste, ja että säätely välittyy eri tavoin eri solutyypeissä.

Siirtogeenitekniikan avulla saadaan tietoa solujen erilaistumisesta

Kuten yllä esitetystä esimerkistä selviää, transgeenitekniikka on arvokas väline kasvien kehitystä säätelevien perusmekanismien tutkimuksessa. Tämä tekniikka on kuitenkin vielä hyvin uusi, ja laaja, pitkän tähtäyksen tutkimuspanostus tarvitaan ennenkuin transgeenisä puita voidaan käyttää teollisissa mittapuitteissa. Ongelmina tällä hetkellä nähdään muunnellun geneettisen aineksen leviäminen luonnollisiin populaatioihin, kloonattujen populaa-

tioiden käyttö luonnossa, eri ympäristöolosuhteiden vaikutus siirtogeenisiin puihin, puutteellinen tietämys puun erilaistumisen geneettisestä säätelystä ja geeniekspression epävakaisuus. Ensin mainittu ongelma on ehkä helpoin ratkaista, ja sitä selvitetään esimerkiksi Joensuun yliopistossa professori Tuomas Sopasen johdolla. Geeniekspression säätely on usein melko huonosti tunnettu, ja kun on puiden kasvusta kysymys, tämä tulisikin selvittää hyvin pitkällä aikajaksolla, ja yllättävienkin ympäristöolosuhteiden seurauksena. Suurin ongelmakenttä on kuitenkin ehkä puun fysikaalisten ominaisuuksien geneettisen säätelyn selvittäminen. Tällä hetkellä ei tunneta puusolujen erilaistumista säätelevää geneettistä ja biokemiallista mekanismia. Muiden kehitysprosessien tapaan siihen osallistuu luultavasti suuri määrä genejä, jotka vastaavat esimerkiksi puusolutyyppin määräytymisestä ja kehityksestä sekä näiden prosessien koordinoimisesta jälleen alueella. Näiden prosessien tärkeys ja sovellusmahdollisuudet on laajalti tunnustettu viime aikoina, ja useissa maissa onkin käynnistetty uusia tutkimusprojekteja puun erilaistumiseen osallistuvien geenien selvittämiseksi. Puun kemiallisten ominaisuuksien geneettinen säätely on sen sijaan huomattavasti paremmin tunnettu, ja ensimmäiset käytännön sovellutukset puiden transgeenitekniologiaa käyttäen saattavatkin perustua puiden kemiallisten ominaisuuksien muunteluun. Aivan äskettäin raportoitiin esimerkiksi kasvien selluloosan biosynteesiä koodaavan geenin eristäminen, mikä periaatteessa mahdollistaa biosynteesireitin modifioinnin transgeenisissä kasveissa (Pear ym. 1996).

Ligniinin biosynteesin tutkimuksessa on voitu jo pitkään hyödyntää tietämystä biosynteesireitin entsyymeistä ja niitä koodaavista geeneistä (Campbell ja Sederoff 1996). Useat tutkimusryhmät ovat pyrkineet vähentämään lehtipuiden ligniinipitoisuutta siirtämällä puihin eri ligniinibiosynteesigeenejä päinvastaisessa geenijärjestyksessä, jolloin geenin ekspressio inhiboituu ja ligniinin synteesi katkeaa tällä kohtaa. Nämä pyrkimykset ligniinin biosynteesin osittaiseen pysäyttämiseen ovat tuottaneet osittain yllättäviä tuloksia. Transgeenisissä puissa ligniinin määrä pysyy usein vakiona, mikä viittaa siihen, että biosynteesireitti on oletettua monimutkaisempi; yhden reitin pysäytyessä ak-

tivoituu jokin vaihtoehtoinen reitti. Tämän seurauksena ligniinin määrä on muuttumaton mutta koostumus vaihtelee, ja parhaat tulokset transgeenitekniologian alalla onkin saatu pyrkimyksissä muuttaa ligniinin koostumusta haluttuun suuntaan. Transgeenisissä lehtipuissa on saatu aikaan ligniiniä, jonka syringyyli- ja guaiacyyliyksikköjen suhde on suurempi kuin normaaleissa puissa. Ligniinitutkimusta ei ole tehty laajemmalla mittavalla havupuilla, koska geeninsiirto niihin ei vielä onnistu, mutta tulevaisuudessa voitaisiin esimerkiksi pyrkiä tuottamaan havupuuta, joiden ligniini koostuisi guaiacyyliyksikköjen lisäksi myös syringyyliyksikköistä. Olisi kiinnostavaa tietää, miten tämä vaikuttaa havupuiden kasvuun ja niiden käyttöominaisuuksiin massateollisuudessa.

Kirjallisuus

- Aloni, R. & Zimmermann, M. H. 1983. The control of vessel size and density along the plant axis. A new hypothesis. *Differentiation* 24: 203–208.
- Barnett, J. R. 1981. Xylem cell development. Castle House Publications Ltd., Tunbridge Wells.
- Campbell, M. M. & Sederoff, R. R. 1996. Variation in lignin content and composition. Mechanisms of control and implications for the genetic improvement of plants. *Plant Physiology* 110: 3–13.
- Davies, P. J. 1995. Plant hormones physiology, biochemistry and molecular biology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Little, C. H. A. & Pharis, R. P. 1995. Hormonal control of radial and longitudinal growth in the tree stem. Julkaisussa: Gartner, B. L.(ed.). *Plant stems: physiology and functional morphology*. Academic Press, San Diego, CA. s. 281–319.
- Pear, J. R., Kawagoe, Y., Schreckengost, W. E., Delmer, D. P. & Stalker, D. M. 1996. Higher plants contain homologs of the bacterial celA genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 12637–12642.
- Roberts, L. W., Gahan, P. B. & Aloni, R. 1988. Vascular differentiation and plant growth regulators. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Sachs, T. 1981. The control of the patterned differentiation of vascular tissues. *Adv. Bot. Res.* 9: 151–262.
- Savidge, R. A. 1996. Xylogenesis, genetic and environmental regulation. *IAWA Journal* 17: 269–310.

Steeves, T. A. & Sussex, I. M. 1989. Patterns in plant development. Cambridge University Press, Cambridge.

Tuominen, H., Sitbon, F., Jakobsson, C., Sandberg, G., Olsson, O. & Sundberg, B. 1995. Altered growth and wood characteristics in transgenic hybrid aspen expressing *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA indoleacetic acid-biosynthetic genes. *Plant Physiology* 109: 1179–1189.

Ugla, C., Moritz, T., Sandberg, G. & Sundberg, B. 1996. Auxin as a positional signal in pattern formation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 9282–9286.

■ Kirjoittaja valmistelee väitöskirjaa Sveriges Lantbruksuniversitetissa Uumajassa.