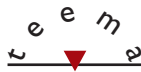


Leena Suvanto, Niina Stenvall, Aivo Vares ja Pertti Pulkkinen

Hybridihaavan geenivirta



Johdanto

Hybridihaapa on eurooppalaisen metsähaavan (*Populus tremula*) ja amerikkalaisen haavan (*P. tremuloides*) risteymä. Hybridihaapaa on istutettu Suomeen jo 1950-luvulta lähtien. Hybridihaapa on kuitenkin vieras lajiristeymä Suomen luonnolle, eikä hybridihaapaistutusten ekologisia ja geneettisiä ympäristövaikutuksia ole tutkittu. Metsähaapa on biodiversiteetin kannalta erittäin tärkeä laji. Suomessa haavalla elää yli 120 hyönteis-, sieni- ja jäkälälajia, jotka ovat täysin riippuvaisia haavasta (Siitonen 1999). Kaiken kaikkiaan yli 200 eliölajia käyttää haapaa ravintonaan tai pesäpaikkanaan. Kaikki nämä lajit eivät ehkä pysty käyttämään hybridihaapaa tai hybridihaavan ja haavan risteymää hyväkseen.

Poppelit ja haavat ovat käytetyimpiä puulajeja geneettisesti muunneltujen organismien (GMO) tutkimuksessa. GMO-tutkimuksia on rajoitettu lainsäädännöllä varsin tarkasti. Esim. kenttäkokeiden maksimikesto Suomessa on tällä hetkellä viisi vuotta, mikä tekee pitempiäaikaisen vaikutusten tutkimisen mahdottomaksi. Tämän vuoksi onkin syntynyt tarve malliorganismeille, joiden avulla GMO-organismien luontovaikutuksia voisi turvallisemmin tutkia. Hybridihaapa voisi toimia tällaisena mallikasvina GMO-lehtipuiden mahdollisten haittavaikutusten tutkimiseksi.

Hybridihaapa soveltuu monestakin syystä erinomaisen hyvin geenivirtatutkimuksiin. Kuten kaikki haavat, se lisääntyy sekä suvuttomasti että suvullisesti. Tämä mahdollistaa molempien lisääntymistä-

pojen merkityksen tutkimisen geenivirran kannalta. Hybridihaapa on tuottoisin Suomessa viljellyistä puulajeista, minkä vuoksi se voi kilpailla metsähaavan kanssa tämän luontaisilla kasvupaikoilla. Pitkäaikaisten istutusten vuoksi aineistoa pitkän aikavälin vaikutusten tutkimiseksi on hyvin saatavilla. Lisäksi Metsäntutkimuslaitoksen valtakunnan metsien inventoinnit tarjoavat tietoa haapametsiköiden koosta ja sijainnista koko Suomen alueella.

Hybridihaavan ja haavan geenivirtatutkimukset

Tässä katsauksessa käsitellään kolmea eri osatutkimusta, jotka liittyvät haavan ja hybridihaavan välillä tapahtuvan geenivirran tutkimiseen. Ensiksi selvitetään hybridihaavan ja haavan taimien alkuperää morfologisten merkkien ja mikrosatelliittien avulla. Seuraavaksi tutkitaan hybridihaavan siementaimien selviytymistä ja viimeiseksi vertaillaan risteystuloksia haavan ja hybridihaavan välisissä risteytyksissä.

Taimien alkuperä

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli pyrkiä selvittämään, voidaanko morfologisten merkkien ja DNA-merkkigeenien avulla tutkia, ovatko tutkimusmetsiköiden taimet siemen- vai juurivesataimia. Lisäksi haluttiin saada selville, mikä osuus taimien geno-

tyypeistä koostuu vieraista alleleista eli alleleista, jotka ovat peräisin koemetsikön ulkopuolelta.

Tutkimuksessa kerättiin lehti- tai silmunäytteitä kolmesta virolaisesta ja kahdesta suomalaisesta haapametsiköstä sekä kolmesta suomalaisesta hybridihaapametsiköstä (taulukko 1). Morfologisten merkkien avulla pyrittiin ensin tunnistamaan kaikki haapakloonit eli geneettisesti samanlaiset yksilöt. Jokaisesta kloonista otettiin tämän jälkeen näyte DNA-tutkimuksia varten. Morfologisina merkkeinä käytettiin rungon suoruutta, väriä ja kuviointia, latvan muotoa, oksakulmaa sekä lehtien muotoa, kokoa ja fenologiaa.

Mikrosatelliitit ovat DNA:ssa esiintyviä 1–4 emäksen pituisia toistojaksoja. Niitä esiintyy kaikissa eliöryhmissä ja tasaisesti ympäri genomia. Mikrosatelliittijaksojen pituus muuntelee suuresti, mikä mahdollistaa lukuisten alleelien esiintymisen samassa lokuksessa. Lisäksi mikrosatelliitit rekombinoituvat vapaasti ja ovat valinnallisesti neutraaleja. Näiden syiden vuoksi mikrosatelliitteja onkin käytetty viime aikoina varsin runsaasti erilaisissa populaatiogeneettisissä tutkimuksissa. Tässä tutkimuksessa käytettiin yhdeksää mikrosatelliittilokusta, jotka on alunperin kehitetty *P. tremuloides*ille (Dayanandan ym. 1998, Rahman ym. 2000, taulukko 2).

Tutkimuksessa havaittiin, että mikrosatelliitteihin pohjautuva kloonimäärä oli suomalaisissa metsiköissä suurempi kuin morfologisten merkkien perusteella arvioitu genotyyppien määrä (taulukko 1). Virolaisissa metsiköissä määrät olivat samat. Morfologisiin merkkeihin pohjautuva tunnistus on usein vaikeaa, subjektiivista ja vuodesta, vuodenajasta ja puun iästä suuresti riippuvaa. Lisäksi geneettisesti

erilaiset kloonit saattavat olla morfologisesti hyvin samanlaisia, mikä lisää virhearviointien määrää.

Kuvassa 1 on esitetty taimien genotyyppijakaumat eri metsiköissä. Uniikkien ja jaettujen genotyyppien osuudet eroavat varsin paljon suomalaisissa metsiköissä, kun taas virolaisissa ne ovat melkein samat. Paikallisten ja vieraiden alleelien osuudet vaihtelevat samoin suuresti metsiköstä toiseen. Uniikkeihin genotyyppisiin voi siementaimien lisäksi kuulua myös yksittäisiä juurivesataimia, joiden emopuu on joko hakattu tai kuollut. Jaetut genotyypit edustavat juurivesataimia. Vieraisiin alleleihin voi metsikön ulkopuolisen isäpuun alleelien lisäksi kuulua myös hakattujen emopuiden alleleja. Täten genotyyppijakauman perusteella ei suoraan voida päätellä, ovatko taimet siemen- vai juurivesataimia. Tutkimukset jatkuvatkin taimien juuriyhteyksien selvittelyllä.

Hybridihaavan siementaimien selviytyminen

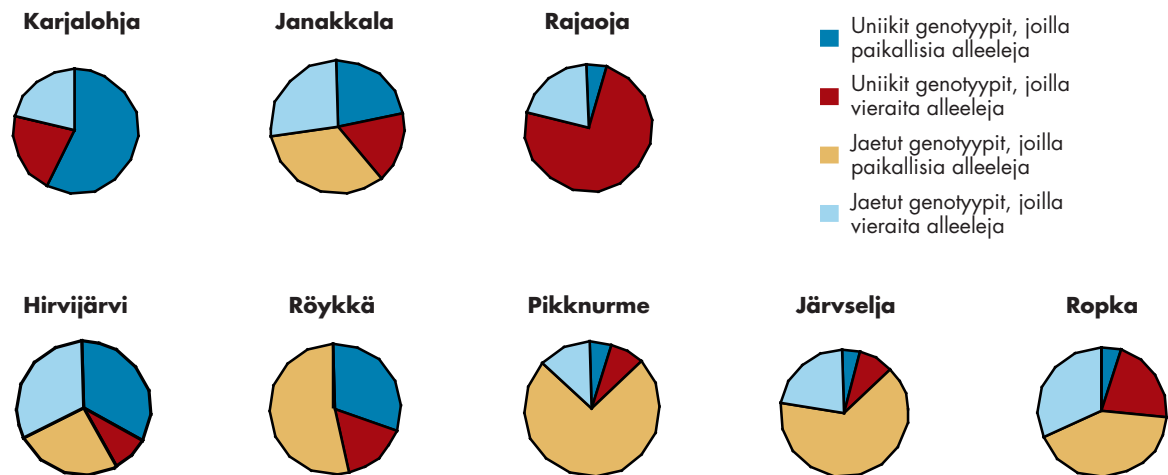
Keväällä 2002 aloitettiin Rajaojan koemetsikössä hybridihaavan siementaimien elinkykyä tutkiva koe. Kyseisenä keväänä hybridihaavikko kukki hyvin, ja sen vieressä olevalle kynnetylle kesantopellolle perustettiin koealoja taimikoetta varten. Kyntäminen ja haavikon ja pellon välinen oja estivät juurivesataimien muodostumisen koealoille. Osa koealoista muokattiin ja osa jätettiin koskematta, jotta pystyttäisiin selvittämään mahdollinen kilpailevan kasvillisuuden vaikutus selviytymiseen. Kaikkien koealojen taimet laskettiin kolmessa eri inventaariossa; kesäkuussa 2002, elokuussa 2002 ja kesäkuussa 2003.

Taulukko 1. Taimien alkuperän tutkimuksessa käytetyt koemetsiköt, niiden sijainti ja pääpuulaji sekä potentiaalisten emopuiden määrä, morfologisten merkkien perusteella arvioitu kloonimäärä ja DNA-analyysiin perustuva genotyyppimäärä kussakin metsikössä. Koska hybridihaavikot oli perustettu siementaimista, niiden genotyyppimäärä on sama kuin emopuiden määrä.

Paikka	Röykkä	Rajaoja	Hirvijärvi	Karjalohja	Janakkala	Ropka	Pikknurme	Järvelja
Maa	Suomi	Suomi	Suomi	Suomi	Suomi	Viro	Viro	Viro
Puulaji	Haapa	Hybridi	Haapa	Hybridi	Hybridi	Haapa	Haapa	Haapa
Emopuita	n. 500	250	80	yli 6	yli 80	150	70	50
Oletettu kloonimäärä	35	-	6	-	-	2–3	2–3	3–4
Genotyyppejä	53	16	10	4	8	3	2	4

Taulukko 2. Taimien alkuperätutkimuksessa käytetyt mikrosatelliittilokukset, niiden toistoajaksot, aineistossa esiintyneiden alleelien lukumäärä ja lokusten julkaisulähteet.

Lokus	Toistojakso	Alleelien lkm	Viite
PTR1	(GGT) ₅ N ₄₅ (AGG) ₉	4	Dayanandan ym. 1998
PTR2	(TGG) ₈	8	Dayanandan ym. 1998
PTR3	(TC) ₁₁	14	Dayanandan ym. 1998
PTR4	(TC) ₁₇	5	Dayanandan ym. 1998
PTR5	(TG) ₇	4	Rahman ym. 2000
PTR6	(AT) ₈	8	Rahman ym. 2000
PTR8	(A) ₁₁ (CT) ₈	7	Rahman ym. 2000
PTR12	(AAAG) ₃ A ₆ N ₇ (AAAG) ₂	3	Rahman ym. 2000
PTR14	(TGG) ₅	7	Rahman ym. 2000



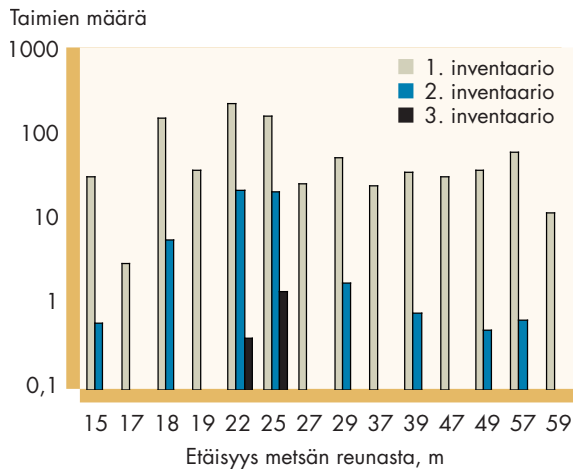
Kuva 1. Taimien genotyyppijakaumat (prosentteina) eri tutkimusmetsiköissä. Uniikeilla genotyypeillä tarkoitetaan genotyyppejä, joita edusti vain yksi taimi. Jaetuilla genotyypeillä tarkoitetaan genotyyppejä, joita esiintyi useammalla taimella. Paikalliset alleelit tarkoittavat alleleja, jotka esiintyivät ko. metsikön emopuilla ja vieraat alleelit alleleja, joita ko. metsikön emopuilla ei löytynyt.

Taimi-inventoinnin tulokset on esitetty kuvassa 2. Tulokset osoittavat, että taimien muodostuminen on varsin runsasta. Kuitenkin jo saman vuoden loppukesällä taimien määrä on selvästi pudonnut ja talven jälkeen enää muutamia taimia on elossa.

Haavan ja hybridihaavan väliset risteytykset

Haavan ja hybridihaavan välisillä risteytyskokeilla

pyrittiin selvittämään, pystyykö hybridihaapa tuottamaan siementä luonnossa. Lisäksi haavan ja hybridihaavan siitepölyseosta käyttämällä haluttiin selvittää, onko toinen lajeista parempi kuin toinen tilanteessa, jossa siitepölyt kilpailevat keskenään. Hybridihaapa-äidin, jonka haapaisä on pölyttänyt, tuottamalla siemenillä on geenivirran kannalta merkitystä vain hybridihaavikoiden läheisyydessä. Sen sijaan päinvastaisessa tilanteessa geenivirta ulottuu kauemmaksi siitepölyn kaukokulkeutumisen johdosta.



Kuva 2. Hybridihaavan siementaimien määrät logaritmi-asteikolla Rajaojan hybridihaavikon vierellä koealoilla kesäkuun 2002, elokuun 2002 ja kesäkuun 2003 inventaarioissa.

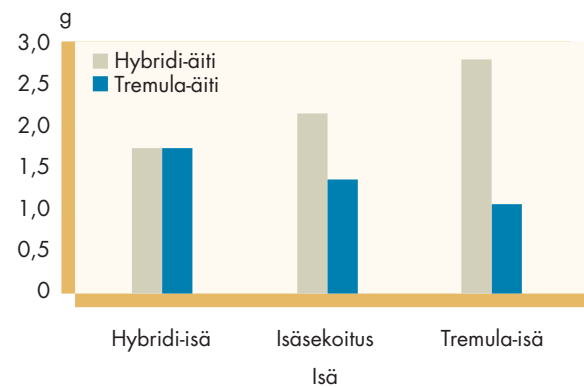
Tässä työssä kolme haapa- ja kolme hybridihaapaemopuuta risteytettiin niinkään kolmen haapa- ja kolmen hybridihaapaisäpuun kanssa kaikin mahdollisin yhdistelmin mukaanlukien kaikki mahdolliset siitepölyseokset. Yhteensä erilaisia siitepöly-yhdistelmiä oli siis 21 ja risteytyksiä $6 \times 21 = 126$. Varsinaiset kilpailuristeytystulokset ovat vielä analysoimatta, eikä niitä käsitellä tässä katsauksessa. Risteytykset suoritettiin kontrolloituina risteytyksinä ja syntyneiden siementien määrä ja itävyys tutkittiin.

Haavan ja hybridihaavan välisten risteytysten keskimääräinen siemensaato ja itävyys on esitetty kuvissa 3 ja 4. Hybridihaapaemopuut tuottivat enemmän ja itämiskykyisempää siementä kuin haavat. Isän lajilla sinänsä ei ollut merkittävää vaikutusta siementen määrään tai itävyyteen. Isä-äiti-yhdistelmä vaikutti sen sijaan merkittävästi molempiin ominaisuuksiin. Siemensaato ja itävyys olivat suurimmat, jos emopuu oli hybridihaapa ja isäpuu metsähaapa.

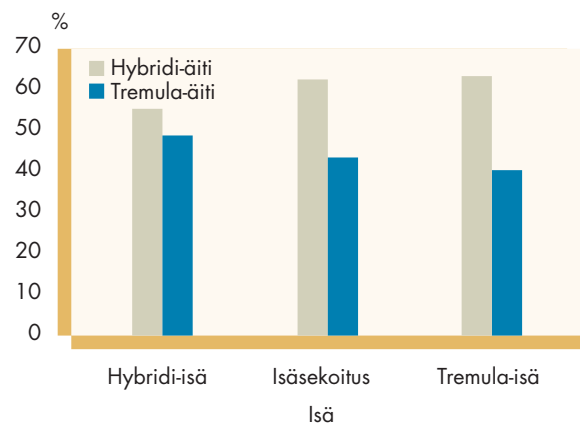
Johtopäätökset

Onko hybridihaavan ja haavan välinen geenivirta mahdollista luonnossa? Tässä katsauksessa esitellyt tulokset osoittavat selvästi, että haavan ja hyb-

ridihaavan välinen geenivirta on mahdollista sekä siitepölyn että siementen välityksellä. Alustavat risteytystulokset osoittavat, että vieraslajia suositetaan oman kustannuksella. Siementaimien heikko selviytyminen estää todennäköisesti laajemman geenivirran muuttumattomissa olosuhteissa. Erilaiset häiriötekijät kuten metsäpalot, myrskyt ja hakkuut voivat kuitenkin muuttaa tilannetta, jolloin geenivirran todennäköisyys kasvaa. Tässä katsauksessa esitetyt tulokset eivät sinänsä ole varsinaisen riskianalyysi vierasgeenien geenivirran todennäköisyydestä, mutta tuloksien valossa hybridihaapa vaikuttaa varsin sopivalta mallipuulta tutkittaessa geenimuunneltujen puiden ympäristövaikutuksia.



Kuva 3. Keskimääräinen siemensaanto grammoina haavan ja hybridihaavan välisissä risteytyksissä.



Kuva 4. Haavan ja hybridihaavan välisissä risteytyksissä syntyneiden siementen keskimääräinen itävyysprosentti.

Kirjallisuus

Dayanandan, S., Rajora, O.P. & Bawa, K.S. 1998. Isolation and characterization of microsatellites in trembling aspen (*Populus tremuloides*). *Theoretical and Applied Genetics* 96: 950–956.

Rahman, M.H., Dayanandan, S. & Rajora, O.P. 2000. Microsatellite DNA markers in *Populus tremuloides*. *Genome* 43: 293–297.

Siitonen, J. 1999. Haavan merkitys metsän monimuotoisuudelle. *Metsäntutkimuslaitoksen tiedonantoja* 725: 71–80.

■ FT Leena Suvanto, Helsingin yliopisto, bio- ja ympäristötieteiden laitos; FM Niina Stenvall, MMT, FT Pertti Pulkkinen, Metsäntutkimuslaitos, Vantaan tutkimuskeskus; M.Sc. Aivo Vares, Viron maatalousyliopisto, metsänhoidon laitos. Sähköposti leena.suvanto@helsinki.fi