

Tiina Rajala, Mikko Peltoniemi, Lara Valentin-Carrera, Taina Pennanen ja Raisa Mäkipää

Sienidiversiteetin merkitys puiden lahoamisprosessissa ja taimien kasvussa

Lahopuu sienten elinympäristönä

Sienet ovat boreaalisten metsien tärkeimpiä kuolleiden orgaanisen aineen hajottajia. Ne ovat avaintekijöitä ravinteiden kiertokulun ja siten koko metsäekosysteemin toiminnan kannalta. Kuollut lahoava puuaines ylläpitää valtavaa biodiversiteettiä: puusta riippuvaisia eliölajeja on Suomessa arvioitu olevan 4 000–5 000, joista kolmannes on sieniä. Todellinen sienilajilukumäärä on todennäköisesti vielä paljon suurempi, sillä arvio perustuu lähinnä helposti havaittaviin itiöemiin.

Osa lahopuulla elävistä sienistä elää läheisessä yhteydessä puiden ja muiden kasvien kanssa, joka korostaa lahopuun merkitystä ekosysteemin aineiden kierrossa. Mykorrhizasymbioosissa puiden hienojuurissa elävä sieni tehostaa ja turvaa isäntäpuun ravinteiden saantia: mykorrhizat pystyvät ottamaan maahan kasvavalla laajalla ulkorihmastolla ravinteita maan huokosista, jonne juuret eivät ulotu tai mahdu, sekä hyödyntämään yhdisteitä, joita kasvi ei itse suoraan pysty käyttämään.

Luonnontilaisten metsien väheneminen ja pirstoutuminen sekä lahopuun määrän pieneneminen uhkaa monia sienilajeja; esimerkiksi noin kolmannes tunnetuista kääpälajeista on Suomessa uhanalaisia tai vaarantuneita. Sopivien elinympäristöjen väheneminen saattaa uhata sieniyhteisöiden toimintaa. Sillä voi myös olla kohtalokkaita seurauksia koko metsäekosysteemin toiminnalle ja palautumiskyvylle. Jotta metsänhoidollisissa toimenpiteissä osattaisiin

turvata sienien tarjoamat ekosysteemipalvelut, tulisi paremmin ymmärtää sieniyhteisöjen vaatimukset lahopuuaineen laadun suhteen sekä lahottajasienidiversiteetin merkitys lahotusprosessille ja sen nopeudelle, sekä lahopuun merkitys symbionttisille mykorrhizasienille.

Sienisukcessio lahopuussa

Puuaineen lahotessa sen tiheys pienenee ja kosteuspitoisuus kasvaa. Puutuneiden soluseinien ainesosista ligniini on kaikkein vaikeimmin hajoava yhdiste ja siksi sen suhteellinen osuus yleensä kasvaa puun lahotessa. Samaan aikaan myös puuaineen typpipitoisuus kasvaa.

Lahopuun laadun muuttuessa muuttuu myös siinä elävä sienilajisto. Kotelosienet, joita ovat elävissäkin puissa elävät endofyyttiset sienet sekä kuolleeseen puuhun nopeasti levittäytyvät pioneerilajit, joutuvat väistymään kantasiendien vallatessa lahoavaa puuta. Valko- ja ruskolahottajien osuus sienilajistosta on suurimmillaan lahosukcession keskivaiheella. Valkolahottajat ovat ainoita sieniä, jotka pystyvät tehokkaasti hajottamaan puun soluseinien ligniiniä. Ligniinin osuuden lisääntyminen lahoavassa puuaineksessa näyttäisikin olevan hitaampaa rungoissa, joissa valkolahottajat ovat yleisiä. Pitkälle lahonneen puurungon lajisto alkaa vähitellen muistuttaa maan sienilajistoa. Metsämaan koko mikrobiomassasta mykorrhizasienien osuus on jo kolmannes, joten



Kuva 1. Kuusenkynsikääpä (*Trichaptum abietinum*).

ei ole yllättävää, että pitkälle lahonneissa, maan pintaa vasten makaavissa tai jo osittain maahan uponneissa rungoissa elää runsaasti mykorritsasieniä. Lahopuusta eristetyn sieni-DNA:n perusteella tutkimusryhmämme on kuitenkin osoittanut, että ensimmäiset mykorritsasienet ilmestyvät kuolleeseen puuhun jo puun ollessa varsin kovaa ja vähän lahonnutta. Tyypillisiä kuusilahopuusta löydettäviä mykorritsasieniä ovat humukkaat (*Tylospora* sp.) ja orvakkaat (*Piloderma* sp.) mutta myös sienestäjien paremmin tuntemat haperot (*Russula* sp.) sekä rouskut (*Lactarius* sp.).

Mykorritsa- ja lahottajasienet kilpailevat osin samoista elinympäristöistä sekä ravinteiden lähteistä. Valko- ja ruskolahottajat saattavat parempina lahottajina olla kilpailussa voitolla lahon alku- ja keskivaiheilla, mutta pitkälle lahonneessa puussa tilanne on toinen. Ravinteet ja hiili ovat tällöin sitoutuneet ligniiniin kaltaisiin vaikeasti hajotettaviin yhdisteisiin ja otaksumme, että siksi mykorritsasienet, jotka saavat hiiltä ja energiaa isänniltään, pärjäävät kilpailussa elintilasta. Viimeaikaisissa tutkimuksissa on löydetty todisteita siitä, että my-

korritsasienet pystyvät lahottamaan vaikeastikin hajoavia ligninolyttisiä yhdisteitä. Toistaiseksi ei kuitenkaan ole pystytty osoittamaan, että mykorritsat voisivat olla obligaatteja hajottajasieniä. Toisin sanoen, nykytietämyksen mukaan mykorritsasienet eivät pysty omatoimisesti hankkimaan riittävästi energiaksi tarvittavia hiiliyhdisteitä ja ne ovat aina riippuvaisia isäntäkasvistaan.

Diversiteetin monimutkainen merkitys lahotuksessa

Biodiversiteetin on usein sanottu olevan tärkeää ekosysteemin tehokkaan toiminnan kannalta sekä takaavan toimivuuden ja vakauden muuttuvissakin olosuhteissa. Sieniyhteisön kokonaisdiversiteetillä ei kuitenkaan näyttäisi olevan vaikutusta lahoamisnopeuteen, vaan oleellisinta on tärkeimpien lahottajasienilajien määrä ja aktiivisuus oikeissa lahoavaiheissa. Olemme havainneet, että lahoavassa puussa koko sienilajiston diversiteetti on suurimmillaan lahosukcession loppuvaiheessa, jolloin puuaines

on yhteydessä maahan ja alkaa jo sekoittua karikerrokseen. Sieniä on maassa paljon enemmän kuin puussa, joten on loogista, että lahoavan puun sienidiversiteetti on huipussaan pitkälle lahonneessa puussa. Lahoamisnopeus on kuitenkin Suomen olosuhteissa nopeimmillaan lahosukcession keskivaiheilla, jolloin tehokkaimpina lahottajasiemeninä tunnetut valko- ja ruskolahottajat ovat runsaimmillaan.

Tutkimusryhmämme tekemä laboratoriokoe osoitti lahottajasiemien yhteyden merkityksen lahoamisprosessin tehokkuudelle sen eri vaiheissa. Tutkimuksessa kuusipuuta pidettiin kontrolloiduissa olosuhteissa astioissa, joihin oli lisätty eri määriä lahoppuun luontaista sienilajistoa. Tulokset osoittivat, että lahoamisen edettyä tehokkaiden valko- ja ruskolahottajien dominoivaan sukkessiovaiheeseen lajidiversiteetillä on suora vaikutus lahoamisprosessin etenemiseen. Pitkälle lahonneen puun lahotukseen sienidiversiteetin muutoksilla ei ollut niin selvää vaikutusta. Sienidiversiteetin kasvattaminen ei myöskään edistänyt suhteellisen kovan, vasta vähän lahonneen puun hajoamista, mikä viittaa siihen, että lahoamisprosessin alussa puuaineksen laatu rajoittaa hajotusaktiivisuutta. Lahosukcession alkuvaiheen sienet, joista suuri osa on tieteelle vielä tuntemattomia lajeja, ovat siis tärkeitä, sillä ne aloittavat puuaineksen muokkauksen.

Sienidiversiteetin vaikutus taimien kasvuun

Borealisessa metsämaassa on varsin vähän ravinteita ja ravinteet ovat enimmäkseen kasveille vaikeasti saavutettavassa muodossa sitoutuneena orgaanisiin yhdisteisiin. Siksi vain yhteistyössä symbiontisten mykorrhizasientien kanssa puut pystyvät saamaan riittävästi ravinteita kasvaakseen ja pärjätäkseen luonnossa. Puuyksilö voi elää symbioosisa yhtä aikaa useiden mykorrhizasienilajien kanssa; lajilukumäärä voi vaihdella vain muutamasta sienestä kymmeneen.

Juurissa elävien mykorrhizalajien lukumäärän uskotaan edistävän isäntäkasvin kasvua. Maaperässä ravinteita on sitoutuneena hyvin monen tyyppiin yhdisteisiin ja eri ravinnelähteiden käyttöön tarvittavien entsyymien tuotto on sienilajikohtaista. Lisäksi lajien ulkorihmaston rakenne ja kasvu vaihtelevat heijastellen eroja mykorrhizasienilajien ravinteiden

denottokyvyissä. Vaikka useat tutkimukset ovat pystyneet osoittamaan mykorrhizasidiversiteetin edut tietyillä kasvilajeilla, on sen merkityksen tutkiminen aikuisilla puilla erittäin haastavaa. Jo joitain vuosia sitten tutkimusryhmämme löysi positiivisen yhteyden 11-vuotiaiden kuusikloonien kasvun ja mykorrhizasidiversiteetin välillä, mikä viittasi siihen, että monimuotoiset mykorrhizasayhteisöt olivat saattaneet edesauttaa kuusien kasvua. On vielä kuitenkin epäselvää pohjautuuko tämä nopea kasvu puuyksilön geneettiseen kykyyn muodostaa suuri mykorrhizasidiversiteetti. Periytyvällä taipumuksella suureen mykorrhizalajimäärään voisi olla käytännön merkitystä metsänjalostuksen ja taimituotannon näkökulmasta, sillä tiedämme, että kuusen istutustaimet, joilla on jo taimitarhalla suuri mykorrhizasienien diversiteetti ja suhteellisen iso juuristo, kasvavat nopeimmin metsään istutuksen jälkeen.

Kuusilahoppuusta löydettävät mykorrhizasienilajit ovat hyvin tyypillisiä kuusen taimien luontaisia symbiontteja. Pitkälle lahonneiden puunrunkojen päällä nähdään usein ryhmä puun taimia ”taimipenkissä”. Lahopuurunko tarjoaa valoisan kasvupaikan, jossa kilpailu muiden taimien ja aluskasvillisuuden kanssa ei ole yhtä kovaa kuin maanpinnalla. Pitkälle lahonnut puunrunko on myös sopivan kostea kasvualusta taimen juurille ja tarjolla on lisäksi nuorille taimille sopivia mykorrhizasienilajeja. Näin ollen sienidiversiteetti ja lahoppuaines ovat tärkeitä tekijöitä taimien luontaisen kasvun kannalta.

Uudet työkalut sienidiversiteetin arvioinnissa

Perinteisesti sienilajistoa luonnossa on tutkittu itiöemien perusteella tai kasvattamalla sieniä keinoekosysteemillä kasvualustoilla laboratoriossa. Itiöemäkartoitukset ovat suhteellisen halpa ja nopea tapa kartoittaa kohdelajistoa. Itiöemät paljastavat kuitenkin vain murto-osan puussa tai maassa elävistä sienistä, sillä suuri osa sienistä ei muodosta helposti havaittavia itiöemiä tai itiöemien muodostus on niin satunnaista, että niitä ei havaita itiöemäkartoituksissa. Myöskään viljelyyn perustuvat lajistotutkimukset eivät osoita koko diversiteettiä, sillä vain pari prosenttia sienistä kasvaa viljelyalustoilla siinä määrin, että ne voidaan tunnistaa.



Kuva 2. DNA-menetelmillä voidaan määrittää sienidiversiteetti tarkasti ympäristönäytteistä.

Nykyään molekyylibiologiset menetelmät mahdollistavat sen, että suoraan puusta voidaan eristää sienien DNA:ta ja tunnistaa lajit vertaamalla DNA:n emäsjärjestyksiä tunnettujen sienilajien emäsjärjestyksiin, joita on tallennettu geenipankkeihin. Vaikka DNA-tekniikoita on hyödynnetty ympäristömikrobiologisissa tutkimuksissa jo vuosikymmeniä, on niiden käyttö metsien sienidiversiteettitutkimuksissa vielä alkutekijöissään. Menetelmät kehittyvät valtaavaa vauhtia ja nyt uusimmat DNA:n sekvensointimenetelmät tuottavat niin paljon tietoa, että sienidiversiteettitutkimus ei enää olekaan vain laboratoriotyötä, vaan pitkälti myös valtavien sekvenssiaineistojen käsittelyä.

Jo nyt on selvää, että vain murto-osa sienistä on tieteelle ennestään tuttuja. Tähän mennessä kuvattu ja sienilajeja on noin 100 000, mutta todellisen lajilukumäärän on arvioitu olevan jopa yli 5 miljoonaa. Vaikka DNA-tekniikat ovat monella tapaa edistykseksiä ja mullistavat käsitystämme ympäristön sienidiversiteetistä, liittyy niihinkin monia ongelmia. Tekniikat ovat suhteellisen kalliita ja käytännössä

niillä voidaan tutkia vain pieniä näytemääriä; esimerkiksi yksi DNA-eristysnäyte puusta tai maasta on tyypillisesti vain 0,1 g. Siksi on monesti tyydyttävä siihen, että DNA-analyysiä käytettävä otos on vain pieni hippunen todellisesta tutkittavasta lahopuukappaleesta, kairalla otetusta maanäytteestä tai muusta substraatista. Toinen DNA-tekniikoiden ongelma liittyy löydettyjen DNA-sekvenssien tunnistukseen. Yleisiin geenipankkeihin tallennettujen tietueiden määrä on jo nyt huikaa ja kasvaa yhä kiihtyvällä vauhdilla. Geenipankkien kattavuuden hintana on kuitenkin laadun vaihtelevuus: tietojen oikeellisuutta ei pystytä valvomaan ja valitettavasti osa lajeista on väärin tunnistettuja. Lisäksi geenipankeissa ei vielä ole kaikkia taksonomisesti nimettyjä sienilajeja. Mykorritsasienien tunnistukseen on onneksi käytettävissä pohjoiseurooppalaisten tutkijoiden perustama UNITE-geenipankki (<http://unite.ut.ee/>), joka sisältää jo 3 878 hyvälaatuista DNA-sekvenssiä 1 508 luotettavasti tunnistetusta sienilajista.

Lahopuusta tai mistä tahansa muusta ympäristönäytteestä eristetty solujen DNA saattaa periaatteessa olla peräisin myös jokin aika sitten kuolleista soluista. Solujen RNA kuvastaa paremmin aktiivista mikrobiyhteisöä, koska RNA-molekyyli hajoaa solun ulkopuolella nopeammin kuin DNA ja sitä tuotetaan ainoastaan aineenvaihdunnallisesti aktiivisissa soluissa. RNA:n käyttö tutkittaessa sienidiversiteettiä luonnossa on kuitenkin haastavampaa kuin DNA:n käyttö, ja RNA:n käytöstä saatavat hyödyt verrattuna DNA:han ovat näytekohdaisia. Esimerkiksi eristämällä sienien DNA:ta vastikään kuolleesta puusta saatetaan saada ylioptimistinen arvio elävien sienien diversiteetistä, koska vain osa sienilajeista on aktiivisia sukcession alkuvaiheessa. Toisaalta lahon edetessä aktiivisten sienien osuus lisääntyy ja pitkälle lahonneen puun sienidiversiteettiä tutkittaessa DNA ja RNA antavat yhdenmukaisen kuvan lajilukumäärän kehityksestä.

Se, mitä menetelmää sitten pitäisi käyttää tutkittaessa sienidiversiteettiä, riippuu täysin tavoitteista, kysymyksestä ja tutkittavasta kohdelajistosta. Indikaattorilajien itiöemäkartoitukset ovat edelleen täysin käyttökelpoisia ja kustannustehokkaita tapoja arvioitaessa vanhojen metsien suojeluarvoa. Jos kuitenkin halutaan selvittää koko sienidiversiteetti mahdollisimman tarkasti tai analysoida sienidiver-

siteitin merkitystä ekosysteemipalveluille kuten ravinnekierrolle ja puiden kasvulle, on nykyaikaiset molekyylibiologiset menetelmät oiva valinta. Niiden avulla on jo saatu uutta tietoa sienilajistosta metsänhoitomenetelmien kehittämisen tueksi ja sienitutkimuksen nopean menetelmäkehityksen myötä pystytään vastaamaan moniin aiemmin ratkaisemattomiin kysymyksiin.

Kirjallisuutta

- Korkama, T., Fritze, H., Pakkanen, A. & Pennanen, T. 2007. Interactions between extraradical ectomycorrhizal mycelia, microbes associated with the mycelia and growth rate of Norway spruce (*Picea abies*) clones. *New Phytologist* 173: 798–807.
- Rajala, T., Peltoniemi, M., Hantula, J., Mäkipää, R. & Pennanen, T. 2011. RNA reveals a succession of active fungi during the decay of Norway spruce logs. *Fungal Ecology* 4: 437–448.
- , Peltoniemi, M., Pennanen, T. & Mäkipää, R. 2010. Relationship between wood-inhabiting fungi determined by molecular analysis (denaturing gradient gel electrophoresis) and quality of decaying logs. *Canadian Journal of Forest Research* 40: 2384–2397.

- , Peltoniemi, M., Pennanen, T. & Mäkipää, R. 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology*. (Painossa). doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01376.x.
- Vaario, L.-M., Tervonen, A., Haukioja, K., Haukioja, M., Pennanen, T. & Timonen, S. 2009. The effect of nursery substrate and fertilization on the growth and ectomycorrhizal status of containerized and outplanted seedlings of *Picea abies*. *Canadian Journal of Forest Research* 39: 64–75.
- Valentin-Carrera, L., Rajala, T., Peltoniemi, M., Heinonsalo, J., Pennanen, T. & Mäkipää, R. Diversity of wood-inhabiting fungi affects the decomposition activities of Norway spruce wood in a microcosm experiment. Lähetetty käsikirjoitus.

■ FT Tiina Rajala, FT Mikko Peltoniemi, FT Lara Valentin-Carrera, FT Taina Pennanen ja MMT Raisa Mäkipää, Metla, Vantaan toimipaikka. Sähköposti tiina.rajala@metla.fi