

# ESIKOKEITA KINETIININ VAIKUTUKSESTA MÄNNYN HYPOKOTYYLIEN KALLUS- JA JUURIMUODOSTUKSEEN

OLAVI LUUKKANEN

## SUMMARY:

### *EFFECT OF KINETIN ON THE FORMATION OF CALLUS AND ROOTS IN HYPOCOTYLS OF SCOTS PINE: PRELIMINARY EXPERIMENTS*

Saapunut toimitukselle 21. 3. 1974

Sterilisti 64 vrk kasvatetut männyn sirkkataimet katkaistiin hypokotyylin keskeltä ja juurenniskan yläpuolelta. Näin saatuja sirkkalehdellisiä ja sirkkalehdettämiä hypokotyyliä viljeltiin edelleen mm. 2 mg/l indolietikkahappoa ja 0.1, 1 tai 10 mg/l kinetiiniä sisältävillä RM-1964-agaralustoilla. Samalla alustalla olivat joko molemmat hypokotyylin osat tai jompikumpi osa yksin. Kalluksen ja juurien muodostumista tutkittiin 55 vrk:n kuluttua.

Sirkkalehdellisiin hypokotyyliin muodostui kallusta leikkauspintaan ja lisäksi viidesosassa materiaalia tästä edelleen juuri. Molemmista päistä katkaistuihin hypokotyyliin ei syntynyt adventiivijuuria, ja myös kalluksen kasvu näissä oli heikkoa; kalluksen kasvua edisti kuitenkin sirkkataimen yläosan sijoittaminen samalle kasvatusalustalle. Kinetiinimäärän lisäys nopeutti lievästi kalluksen kehittymistä sirkkalehdellisiin hypokotyyliin mutta vähensi molemmista päistä katkaistujen kasvatusalustalle yksin sijoitettujen hypokotyylien kallusmuodostusta. Kalluksen kokonaismäärä oli suurin sirkkalehdellisissä hypokotyyleissä.

Kääpiöversoja muodostui noin puoleen hypokotyylin keskeltä katkaistuista, sirkkalehdet sisältävistä taimista. Kääpiöversoja ei kuitenkaan syntynyt ennen varsinaista koetta jo 16 vrk:n idätyksen jälkeen katkaistuihin ja agaralustoille siirrettyihin taimiin, vaikka näitä viljelmiä kasvatettiin samoissa oloissa kuin varsinaisen kokeen taimia kaikkiaan 103 vrk.

## 1. JOHDANTO

Käytännön kokemukset ovat osoittaneet, että havupuista kuusta on helpompi monistaa pistokkaista kuin mäntyä. Tämä tulos on johtanut sii-

hen, että viljelymateriaalin suurimittaisen pistokastuotannon kehittäminen Suomessa käynnissä kuusen mutta ei männyn osalta. Toisaalta on selvää, että myös männyn jalostus metsäpuuna ja tästä jalostuksesta odotettavissa oleva geneettinen hyöty riippuu ratkaisevasti siitä, missä määrin kasvullinen lisääminen männyn osalta tulee olemaan käytännössä mahdollista. Uusia näkökohtia männyn pistokaslisyksen mahdollisuuksista on meillä viime aikoina tuotu esille (YLI-VAKKURI 1973).

Monet muut mäntylajit muodostavat adventiivijuuria huomattavasti helpommin kuin *Pinus silvestris* (NIENSTAEDT ym. 1958). Tämä tosiasia sekä se yleinen havainto, että erilaistuneet kasvisolut ja -solukot ylipäänsä voivat uudelleen muodostaa perussolukkoa (kallusta) ja tästä edelleen jopa uusia kasviyksilöitä (vrt. STEWARD 1968, s. 466), antaa aiheen otaksua, että männyn pistokkaiden tuottamiselle ei ole mitään varsinaista geneettistä tai fysiologista estettä, kysymys on vain juurtumisalttiuden aste-eroista.

Koska perinteellisin pistokasmonistuksen keinoin on vaikea ryhtyä kehittämään männyn juurruttamisen massamenetelmiä, on ilmeisesti huomion arvoinen ongelman ratkaisun toinen tie, kokeellisesta fysiologisesta tutkimuksesta liikkeelle lähteminen. Tässä työssä ovat perustana kaikki kasvi-hormonien ja kasvien erilaistumisen tutkimuksen jo saavutetut tulokset.

Solukkoviljelytekniikka on kehittynyt kasvifysiologian tutkimuksen rutiinimenetelmäksi (vrt. LINSMAIER ja SKOOG 1965, SIMOLA 1973). Koemateriaalina eri hormonien vaikutusta selvitetessä käytetään tavallisesti helpoimmin steriilinä viljelmänä kasvavia, siis elatusainevaatimuksiltaan mahdollisimman yksinkertaisia soluja tai solukkoja, kuten *Nicotianan* varren ytimistä muodostuvaa kallusta. Myös puiden solukkoja on kasvatettu solukkoviljelmänä ja on havaittu, että havupuut ovat lehtipuita vaikeammin viljeltävissä (WINTON 1972). Tämä koskee sekä erilaistumattoman ja yleensä lehtivihreättömän kallussolukon elossapysymistä että sen erilaistumista esimerkiksi juuri- tai versosoluiksi.

Varsinkin *Nicotianan* solukkoviljelysten ollessa kysymyksessä tunnetaan jo hyvin toisaalta voimakkaan kasvun ja toisaalta erilaistumisen edellytyksenä olevan kasvatusalustan koostumukset. On käynyt ilmi, että kasvuaineiden, niiden joukossa kasvihormonien, suhteet pikemminkin kuin absoluuttiset määrät ohjaavat kasvua, erilaistumista ja erilaistumisen suuntaa. *Nicotianassa* sekä auksiinien (esimerkiksi indolietikkahapon, IAA:n) ja sytokiniinien (esim. kinetiinin) läsnäolo on välttämätön kalluksen solunjakautumisen jatkumiseksi. Kinetiinin määrän alentaminen IAA-konsentraatioon verrattuna aikaansaa erilaistumista ja nimenomaan juurien muodostumisen. Päinvastainen suhde puolestaan edistää silmujen ja edelleen verson syntymistä (GEISSBÜHLER ja SKOOG 1957).

Puiden solukkoviljelmät voidaan aloittaa rungosta eristetystä jälsisolukosta tai nuorien taimien erilaisista solukoista (HARVEY ja GRASHAM 1969).

Hypokotyylien eli sirkkavarsien on todettu olevan helposti kallusta muodostavaa ja juurtuvaa solukkoa myös havupuiden ollessa kysymyksessä. HONG ja HYUN (1970) totesivat neljän mäntylajin (*P. rigida*, *P. densiflora*, *P. radiata* ja *P. koraiensis*) katkaistuihin sirkkataimiin muodostuvan pelkässä vedessä adventiivijuuria hypokotyylistä ilman kallusmuodostusta. Samat tutkijat kuitenkin totesivat kirjallisuuden perusteella, että vaikeasti juurtuvien havupuiden adventiivijuuret yleensä syntyvät kallussolukosta. Havupuiden endospermi (vrt. RYYNÄNEN 1973) tuottaa haploidista solukkoa, mikä geneettisissä tutkimuksissa on huomion arvoista.

Eri havupuulajeista *Sequoia sempervirens* ja etenkin tämän lajin silmupahkat ovat osoittautuneet helposti viljeltäviksi yksinkertaisella (vain mineraaliravinteita, sakkaroosia ja auksiinia sisältävällä) ravintoalustalla (WINTON 1972). GEISSBÜHLER ja SKOOG (1957) totesivat mallasuutelisäyksen edistävän suuresti useiden muiden havupuulajien solukkoviljelysten kasvua. SKOOGIN työryhmä (STEINHART ym. 1961) sai selville, että aminohapot ja mahdollisesti muutkin aminotyyppiyhdisteet olivat kuusen (*Picea abies*) kalluksen kasvua ylläpitäviä mallasuutteen sisältämiä ainesosia. Myös urea riitti, joskin heikommin, korvaamaan mallasuutteen, mutta  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ei yksin kelvannut typen lähteeksi. Sama koulukunta on myöhemmin (STEINHART ym. 1962) osoittanut myös inositolit tärkeiksi kuusen kalluksen kasvua edistäviksi aineiksi.

Tämän työn tarkoituksena oli selvittää perusteita männyn solukkoviljelyn, kasvatetun solukon ravinne- ja kasvuainevaatimusten sekä etenkin männyn juurien adventiivimuodostuksen tutkimista varten. Kasvuaineista päähuomion kohteena oli tässä työssä kinetiini.

Tekijä on kiitollinen professori FOLKE SKOOGILTA vuosina 1970–1971 Wisconsinin yliopistossa saamastaan innostavasta henkilökohtaisesta ohjauksesta, joka on antanut virikkeen käsillä olevan työn aloittamiseen.

Preparaattori AINO PIISPASEN apu materiaalin kasvatuksessa ja siirrostamisessa on ollut korvaamaton.

## 2. AINEISTO JA MENETELMÄ

Koeaineisto kasvatettiin Oitin autoktonista alkuperää olevasta männyn siemenestä. Siemenet steriloitiin 15 minuuttia kestäneellä  $\text{H}_2\text{O}_2$ -käsittelyllä ja huuhdeltiin vedessä. Siemeniä idätettiin 7 vuorokautta petrimaljoissa vesiagaralustalla, minkä jälkeen sirkkataimet siirrettiin kvartsihiekkään suurikokoisiin koeputkiin. Kvartsihiekkassa ravintoliuoksena oli ns. Melinin liuos (MIKOLA 1948, s. 77). Idätyksen alkamisesta laskien sirkkataimia kasvatettiin 64 vuorokautta ennen solukkoviljelmien aloittamista. Kasvatuksen ja solukkoviljelyn ajan taimet olivat seuraavissa olosuhteissa: päivän

pituus 16 h, valonvoimakkuus n. 10 Wm<sup>-2</sup> (valonlähteenä loisteputket), päivälämpötila 25° ja yölämpötila 15°.

Solukkoviljelmien ravintoalusta valmistettiin Skoogin laboratorion kehittämän koostumuksen (LINSMAIER ja SKOOG 1965) mukaiseksi. Tässä alustassa oli mineraaliravinteiden lisäksi litrassa liuosta 30 g sakkaroosia, 100 mg meso-inositolia, 0.4 mg tiamiinihydrokloridia ja 13 g agaria (B. D. L. Japanese Powder, Fine). Indolietikkahappoa oli vakiomäärä 2 mg/l, ja kinetiinin konsentraationa käytettiin kolmea eri väkevyyttä: 0.1, 1 ja 10 mg/l.

Edellä kuvatun alkukasvatuksen jälkeen siirrettiin alustoille solukkoviljelyä varten männyn sirkkataimien osia seuraavasti: Sirkkataimet katkaistiin steriilisti hypokotyylin puolivälistä ja taimen ylempi osa siirrettiin kasvatusalustalle. Juurenniskan yläpuolelta katkaistuja hypokotyylin alaosa siirrettiin sekä näille samoille alustoille että myös yksinään omille alustoilleen. Viljelyalustat olivat normaalikokoisiin koeputkiin valettuja vinopintoja. Kutakin kinetiinikonsentraatiota kohti oli sirkkalehdellisen hypokotyylin sisältäviä koeputkia noin 30, näistä puolessa oli lisäksi erillinen hypokotyylin alaosa. Pelkän hypokotyylin alaosan sisältäviä koeputkia oli n. 15 kutakin kinetiinikonsentraatiota kohti.

Ennen varsinaisen solukkoviljelmien kasvatuksen aloittamista siirrettiin joillekin alustoille materiaalia edellä kuvatulla tavalla jo 16 vuorokautta kestäneen idätyksen jälkeen. Tämä materiaali siirrostettiin edelleen uusille kasvatusalustoille 43 vuorokauden kuluttua, mutta se pidettiin muutoin samoissa olosuhteissa kuin varsinaisen kokeen aineisto.

Maaliskuussa 1974 tutkittiin materiaalin kehittyminen 55 vuorokautta (esikokeessa 103 vrk) kestäneen ravintoalustalla viljelyn jälkeen. Eri ominaisuuksien perusteella materiaali jaettiin silmävaraisesti neljään elinvoimaisuusluokkaan. Muodostuneiden juurien lukumäärä laskettiin ja juurien pituus mitattiin. Tuloksia analysoitiin varsianssianalyysiä ja  $\chi^2$ -testiä apuna käyttäen.

### 3. TULOKSET

Taulukossa 1 on esitetty tulosten yhteenveto. Kuten taulukosta käy ilmi, jonkinasteista kallusmuodostusta esiintyi yleensä kaikissa sirkkalehdellisissä hypokotyyleissä ja niissä lehdettömissä hypokotyyleissä, jotka oli sijoitettu sirkkalehdellisten kanssa samalle alustalle. Yksinään alustalla kasvaneet lehdettömät hypokotyytit olivat muodostaneet kallusta huomattavasti harvemmin. Kun eri kinetiinikäsittelyt yhdistettiin, ero yksin ja lehdellisen hypokotyylin kanssa kasvaneiden hypokotyylin kappaleiden kasvussa oli todettavissa myös  $\chi^2$ -testillä (P < 0.01).

Taulukko 1. Katkaistujen ja agaralustalla 55 vuorokautta viljeltyjen hypokotyylien eräiden osien silmävaraisen luokituksen sekä juurien määrän ja pituuden keskiarvot eri kinetiinipitoisuuksissa. Luokituksessa 0 vastaa heikointa, 3 suurinta elinvoimaa tai kasvua. n = näytemäärä.

Table 1. Means of the classification of some characteristics as well as the number and length of roots in hypocotyls at three levels of kinetin concentration after excision and 55 days of culture on agar medium. In the classification, 0 equals the lowest, 3 the highest vigor or amount of growth. n = number of samples.

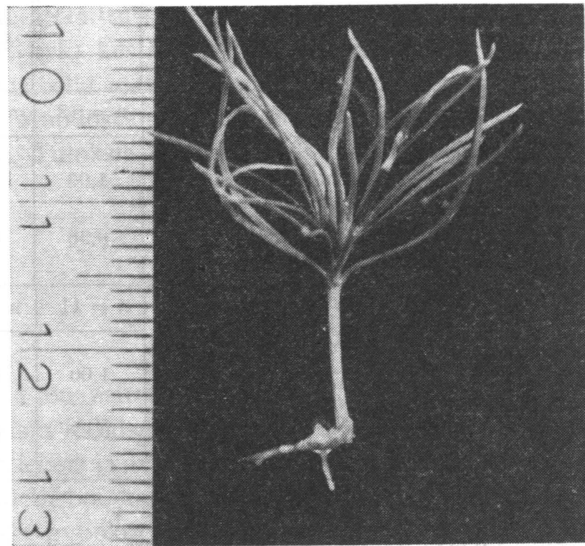
Materiaali <i>Materials</i>	Luokiteltu ominaisuus <i>Classified characteristic</i>	Kinetiiniä, mg/l <i>Kinetin, mg/l</i>		
		0,1	1	10
Sirkkalehdelliset hypokotyytit <i>Basally cut seedlings</i>	Kallus — <i>Callus</i> <sup>1)</sup>	n = 25	n = 30	n = 27
	Sirkkalehdet — <i>Cotyledons</i>	1,36	1,60	1,50
	Varhaislehdet — <i>Juvenile needles</i>	1,72	1,80	1,42
	Kääpiöversot — <i>Fascicles</i>	1,44	1,37	1,42
	Juurtuneita (%) — <i>Rooted (%)</i>	0,68	0,63	0,62
		24	17	19
Sirkkalehdelliset juurtuneet hypokotyytit <i>Basally cut rooted seedlings</i>	Pääjuuren pituus (mm) <i>Length of main root (mm.)</i>	n = 6	n = 5	n = 5
	Sivujuuria (kpl) <i>Side roots (No. per rooted plant)</i>	16,8	8,8	9,6
		1,5	0,8	2,4
Pelkät hypokotyytit (sirkkalehdellisten kanssa) <i>Hypocotyls, both ends cut (with basally cut seedlings)</i>	Kallus — <i>Callus</i> :	n = 13	n = 13	n = 13
	Paremmiin kasvava pää <i>End with better growth</i>	1,00	1,31	1,00
	Heikommin kasvaa pää <i>End with poorer growth</i>	0,38	0,38	0,31
Pelkät hypokotyytit (yksin alustalla) <i>Hypocotyls, both ends cut (alone on medium)</i>	Kallus — <i>Callus</i> :	n = 11	n = 18	n = 14
	Paremmiin kasvava pää <i>End with better growth</i>	1,00	0,83	0,36
	Heikommin kasvava pää <i>End with poorer growth</i>	0,27	0,17	0,14

<sup>1)</sup> Kalluksen luokitus: 0 — ei kasvua, 1 — katkaisukohta turvonnut, 2 — selvää kallusta (kuten kuvassa 1), 3 — voimakasta kallusmuodostusta.

<sup>1)</sup> Classification of callus growth: 0 — no growth, 1 — swelling of cut ends, 2 — clear callus formation (as in Fig. 1), 3 — vigorous callus formation.

Kinetiinin vaikutus hypokotyylien kallusmuodostukseen oli selvin yksin alustalla kasvaneissa sirkkalehdettömissä hypokotyyleissä, joskin muodostuneen kalluksen määrä oli suurempi sirkkalehdellisten hypokotyylien kanssa samalla alustalla kasvaneissa sirkkalehdettömissä hypokotyyleissä ja paljon suurempi sirkkalehdellisissä hypokotyyleissä. Kinetiinin määrän vaikutus oli erisuuntainen yksin alustalla kasvaneissa sirkkalehdettömissä ja toisaalta sirkkalehdellisissä hypokotyyleissä. Kuten taulukosta 1 ilmenee, edellisistä olivat eniten kasvaneet pienimmässä kinetiinikonsentraatiossa olleet kun taas sirkkalehdellisistä hypokotyyleistä eniten kallusta oli keskimäisessä (1 mg/l) ja toiseksi eniten suurimmassa (10 mg/l) kinetiinikonsentraatiossa. Kahdessa koetaimessa todettiin myös neulasesta, mahdollisesti vioittuneesta kohdasta, kasvamaan lähtenyt kallusta.

Noin 20 % sirkkalehdellisistä hypokotyyleistä oli kasvatusalustalla muodostanut adventiivijuuria leikkauspinnasta kasvaneesta kalluksesta. Juuria ei todettu sirkkalehdettömissä hypokotyyleissä, joiden kasvu ja kallusmuodostus, kuten edellä on ilmennyt, muutenkin jäi melko vähäiseksi. Sirkkalehdettömät hypokotyyli, varsinkin kasvaessaan alustalla yksin, osittain lopettivat kasvunsa ja jopa kuolivat; tätä seikkaa oli kvantitatiivisesti vaikea lähemmin tutkia. Sirkkalehdellisissä juuria muodostaneissa hypokotyyleissä todettiin aina yksi selvä pääjuuri ja tässä vaihteleva määrä sivujuuria (vrt. kuva 1). Kinetiinipitoisuus ei vaikuttanut ainakaan pääjuurien lukumäärään, sen sijaan pääjuuren pituus oli pienimmässä kinetiinipitoisuudessa keskimäärin



Kuva 1. Katkaistu sirkkataimi, johon on syntynyt kallussolukkoa hypokotyylin leikkauspintaan ja tästä edelleen juuri.

Fig. 1. A basally cut pine seedling with callus and root formation at the cut surface of the hypocotyl.

kaksinkertainen muihin käsittelyihin verrattuna. Tämän tuloksen tilastollinen vahvistaminen ei ollut mahdollista aineiston pienyyden vuoksi.

Sirkkalehtien elinvoimaisuus oli suurin keskimäisen kinetiinikonsentraation sisältäneillä alustoilla ja toiseksi suurin pienimmässä konsentraatiossa. Sirkkasilmusta yleensä kaikissa tapauksissa muodostuneiden varhaislehtien (protofyllien) elinvoimaisuudessa ei havaittu eroja. Varhaislehtien hankaan kehittyi noin puolessa tapauksista yksi tai useampi kääpiöverso. Myös näiden elinvoimaisuus (määrä ja koko) luokiteltiin, mutta eroja eri kinetiinikonsentraatioiden välillä ei havaittu.

Kuten aineiston ja menetelmän kuvauksen yhteydessä on todettu, ennen varsinaista koetta aloitettiin katkaistujen sirkkataimien siirrostus viljelyalustoille pienellä osalla aineistoa 16 vuorokautta kestäneen idätyksen ja alkukasvatuksen jälkeen. Näitä sirkkalehdellisiä hypokotyyliä viljeltiin alustoilla 103 vuorokautta, kun taas varsinaisessa kokeessa viljelyaika oli 55 vuorokautta. Silmiinpistävintä esikokeeseen sisältyneessä materiaalissa oli kääpiöversojen täydellinen puuttuminen, vaikka viljelyaika oli huomattavasti pitempi. Kallusta ja juuria esikokeen hypokotyyliin muodostui samalla tavoin kuin varsinaisen kokeen materiaaliin.

#### 4. TULOSTEN TARKASTELUA

Yhteenvetona voidaan todeta, että männyn (*Pinus silvestris*) hypokotyyliä voitiin kasvattaa koostumukseltaan tunnetulla ravintoalustalla. Hypokotyyliin muodostui katkaisun ja 55 vuorokautta kestäneen ravintoalustalla viljelyn jälkeen kallussolukkoa ja viidesosassa sirkkataimista tästä edelleen adventiivijuuria. Milloin sirkkajuuren lisäksi poistettiin sirkkalehdet ja -silmu, adventiivijuuria ei syntynyt ja myös kallusmuodostus oli vähäistä. Kun sirkkalehdetön ja -juureton hypokotyyli sijoitettiin samalle kasvualustalle sirkkalehdellisen mutta juurettoman hypokotyylin kanssa, mainitun molemmista päistä katkaistun hypokotyylin kallusmuodostus edistyi pitemmälle kuin yksin alustalle sijoitetussa hypokotyyliissä.

Nämä tulokset viittaavat siihen, että jokin sirkkalehtien tuottama, kasvatusalustasta puuttunut aine edisti kallusmuodostusta ja juurien syntymistä. Kinetiinimäärän lisäys vähensi alustalla yksin kasvavien sirkkalehdettömien hypokotyylien kalluksen määrää kun taas kinetiinin vaikutus oli näihin verrattuna pienempi tai lievästi päinvastainen sirkkalehdellisissä hypokotyyleissä ja hyvin vähäinen myös niissä sirkkalehdettömissä hypokotyyleissä, jotka kasvoivat samalla alustalla sirkkalehdellisten kanssa. Mahdollinen selitys näille havainnoille on se, että sirkkalehdet tuottivat ainetta, joka kumosi kinetiinin kalluksen kasvua inhiboivan vaikutuksen ja jonka kanssa vaikuttaessaan kinetiini ehkä päinvastoin edisti kalluksen muodostumista.



Verrattuna *Nicotianan* (LINSMAIER ja SKOOG 1965) ja eräiden kohtalaisen helposti juurtuvien mäntylajien (HONG & HYUN 1970) solukkoviljelyyn nyt kokeiltu *Pinus sylvestris* -lajin hypokotyylien kasvatusta ja juurten indusointia on huomattavasti vaikeampaa ja ilmeisesti tietyn kasvuaineiden yhdistelmän vaativaa. Myös männyn kalluksen elossapitäminen koostumukseltaan tunnetulla alustalla on vaikeaa, minkä osoitti käsilläolevassa työssä sirkkalehdettömien hypokotyylien suhteellisen huono kasvu. Tämän suuntaan tulos on saatu aikaisemmin eräiden muiden havupuiden ja myös mäntylajien osalta (GEISSBÜHLER ja SKOOG 1957). Jatkotutkimuksissa on siten keskityttävä aluksi männyn kalluksen elinvoimaa ylläpitävien kasvuaineiden etsimiseen ja vasta tämän jälkeen on mahdollista tutkia solukon erilaistumista, esimerkiksi juurien muodostumista. Kasvua edistäviä mutta koostumukseltaan määrittelemättömiä aineita (mallas- ja siemenuutteita, kookosmaitoa) käyttämällä voidaan männynkin solukkoviljelmät ilmeisesti helpoimmin aloittaa (vrt. GEISSBÜHLER ja SKOOG 1957).

Sirkkataimen solukoiden geneettinen potentiaali muuttuu nopeasti taimen alkukehityksen aikana. Tästä oli osoituksena käsilläolevassa työssä kääpiöversojen syntyminen vain myöhemmin katkaistuihin (64 vrk kasvatettuihin) ja kasvatusalustoille siirrettyihin sirkkataimiin. Täten myös aikatekijä on ilmeisesti otettava huomioon jatkotutkimuksissa.

#### KIRJALLISUUS

- GEISSBÜHLER, H. & SKOOG, F. 1957. Comments on the application of plant tissue cultivation to propagation of forest trees. *Tappi* 40: 257–262.
- HARVEY, A. E. & GRASHAM, J. L. 1969. Procedures and media for obtaining tissue cultures of 12 conifer species. *Canad. J. Bot.* 47: 547–549.
- HONG, S. O. & HYUN, S. K. 1970. Anatomical investigation on root formation in hypocotyl cuttings of pines. *Res. Rep. Inst. For. Genet. Suwon, Korea* 8: 15–22.
- LINSMAIER, E. M. & SKOOG, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18: 100–127.
- MIKOLA, P. 1948. On the physiology and ecology of *Cenococcum graniforme* especially as a mycorrhizal fungus of birch. *Comm. Inst. For. Fenn.* 36(3): 1–104.
- NIENSTAEDT, H., CECIL, F. C., MERGEN, F., WANG, C. & ZAK, B. 1958. Vegetative propagation in forest genetics research and practice. *J. For.* 56: 826–839.
- SIMOLA, L. 1973. Changes in the activity of several enzymes during root differentiation in cultured cells of *Atropa belladonna*. *Z. Pflanzenphysiol.* 68: 373–378.
- STEINHART, C. ANDERSON, L. & SKOOG, F. 1962. Growth promoting effect of cyclitols on spruce tissue cultures. *Plant Physiol.* 37: 60–66.
- — —, STANDIFER, L. C. JR. & SKOOG, F. 1961. Nutrient requirements for in-vitro growth of spruce tissue. *Amer. J. Bot.* 48: 465–472.
- STEWART, F. C. 1968. *Growth and Organization in Plants*. Addison-Wesley, Reading.
- RYYNÄNEN, M. 1973. Vajaasti tuleentuneiden männyn alkioiden luokittelu ja kasvatusta. *Met-säntutkimusl. Kolarin tutkimuskeskuksen tied.* 2: 1–20.

- WINTON, L. 1972. Annotated bibliography of somatic conifer callus cultures. *Inst. Paper Chem. Genet. Physiol. Notes (Appleton)* 16: 1–19.
- YLI-VAKKURI, P. 1973. Männyn neulasista puita. Summary: Trees from needle fascicles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Metsä ja puu* (9): 12–13.

#### SUMMARY:

#### EFFECT OF KINETIN ON THE FORMATION OF CALLUS AND ROOTS IN HYPOCOTYLS OF SCOTS PINE: PRELIMINARY EXPERIMENTS

The material for this study was derived from aseptically grown Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings of South Finnish origin. After 64 days the seedlings were cut at the middle of the hypocotyl and above the root. Upper as well as lower halves of the hypocotyls were transferred into vials which contained the growth medium. One group of vials included one upper half of a seedling (with cotyledons and plumule), another group the lower half of the hypocotyle only, and a third group included both halves together.

The medium consisted of the Revised Medium (RM-1964) of LINSMAIER & SKOOG (1965) which included mineral nutrients, sucrose, thiamine-HCl, myo-inositol and indoleacetic acid (IAA concentration 2 mg/l). Three concentrations of kinetin were used: 0.1, 1, and 10 mg/l. The seedlings were grown prior to cutting and the hypocotyls were cultured under conditions which included a 16-hour day with an irradiance of about 10 Wm<sup>-2</sup>, day temperature 25°, and night temperature 15°.

The lower ends of the basally excised seedlings generally formed callus tissue within 55 days of culture on the agar medium. About 20 % of the seedlings also formed adventitious roots from this callus. No roots were formed and the callus formation occurred to a lesser extent in hypocotyls excised at both ends. In the latter hypocotyls, however, callus growth was promoted by the presence of a basally excised seedling where cotyledons as well as the plumule were included in the same vial.

Increasing amounts of kinetin slightly enhanced callus growth of basally excised seedlings but seemed to inhibit callus growth in hypocotyls excised at both ends and placed on growth medium alone. However, the total amount of callus, on an average, was greatest in hypocotyls which included intact cotyledons and the plumule.

Needle fascicles were formed in about half of the basally cut seedlings. No fascicles were found, however, in seedlings excised prior to the material of the main experiment, after 16 days of germination, although they were cultured under the same conditions as described above for a considerably longer period, 103 days, and their plumules developed into vigorous juvenile needles.

KÄRKKÄINEN, MATTI

O.D.C. 526.52

1974. A note on the volume based on the mean of butt and top diameters of pine bolts. — SILVA FENNICA Vol. 8, No. 2, 6 p. Helsinki.

In this paper the use of butt and top diameters of pulpwood bolts for volume determination is analyzed. The study is based on the taper data of pine stems. According to the results, the use of the mean of butt and top diameters in the volume determination under Finnish conditions causes a positive error in small stems. In other words, the estimated volume of the bolts is too large. If the stems are so big that the butt portions of the stems can be used as saw logs, the remaining top bolts, used as pulpwood, are estimated to be smaller than they are in reality. Accordingly, there is a negative error.

Author's address: Department of Logging and Utilization of Forest Products, University of Helsinki, Unioninkatu 40 B, SF-00170 Helsinki 17, Finland.

HARSTELA, PERTTI

O.D.C. 667

1974. The influence of the change of cost level on some mechanization prognosis. — SILVA FENNICA Vol. 8, No. 2, 4 p. Helsinki.

In this study a formula has been developed to describe the influence of the change of cost level on such a mechanization prognosis, where is assumed that wages and machine costs bear compound interest. In the study there are some numerical examples.

Author's address: Department of Forest Technology, The Finnish Forest Research Institute, Suonenjoki Experiment Station, SF-77800 Iisvesi, Finland.

POHJONEN, VELI

O.D.C. 232. 43:561. 1 + 562.1

1974. Effect of spacing on the first year yield and height increment of some species undergoing short rotation culture. — SILVA FENNICA Vol. 8, No. 2, 13 p. Helsinki.

The effect of spacing on the first year yield and height increment of *Alnus incana*, *Populus tremula* x *tremuloides*, *Salix* 'Aquatika Gigantea' and *Salix phyticifolia* was studied at the Arctic Circle Agricultural Experimental Station in northern Finland. S. 'Aquatika Gigantea' gave yields which were twice as high as those of the other remaining species. The highest yields were of the order of 60 tons per hectare (fresh yield including foliage). The height increment in S. 'Aquatika Gigantea' was about 100 cm. in the others about 30—50 cm. S. 'Aquatika Gigantea' had a maximal height increment when the distance between seedlings was 25 cm.

Author's address: Department of Plant Husbandry, University of Helsinki, Viikki, SF-00710 Helsinki 71, Finland.

WESTMAN, C. J.

O.D.C. 114. 261:237.4

1974. Effect of urea application on plantavailable nitrogen in forest soil. — SILVA FENNICA Vol. 8, No. 2, 7 p. Helsinki.

The paper describes a preliminary attempt to assess the longterm effect of urea application on the quantity of plantavailable nitrogen in forest soil. The soil samples required for the study were collected from an experimental area which had been set up for investigations into both the single and joint effect on tree growth of two levels of each of urea and phosphorus application. According to the results obtained the plantavailable nitrogen of the humus layer was significantly higher in fertilized than in unfertilized plots as late as four years after application. In terms of absolute values the quantities were extremely small, only 3—4 % of the amounts applied. In the case of total nitrogen, no differences could be observed. In comparison with these results it was interesting to notice that urea application seemed to increase the C/N ratio.

Author's address: Department of Silviculture, University of Helsinki, Unioninkatu 40 B, SF-00170 Helsinki 17, Finland.

LUUKKANEN, OLAVI

O.D.C. 161. 4: 232. 328: 174.7

1974. Effect of kinetin on the formation of callus and roots in hypocotyls of Scots pine: preliminary experiments. — SILVA FENNICA Vol. 8, 1974, No. 2, 9 p. Helsinki.

After 64 days of aseptic culture, seedlings of *Pinus sibirica* were cut at the middle of the hypocotyl and above the root. The upper and lower halves of the hypocotyls were transferred onto agar medium RM-1964 of LINSMAIER & SKOOG (1964) including 2 mg/l IAA and 0.1, 1, or 10 mg/l kinetin, one or both halves being put in each vial. Callus growth and root formation was observed after 55 days.

The lower ends of basally cut seedlings generally formed callus tissue and 20 % of them also formed roots from this callus. No roots and less callus growth was observed in the lower hypocotyle halves excised at both ends. In the latter hypocotyls callus growth was promoted by the presence in the same vial of a basally excised seedling, including cotyledons and plumule. Increasing amounts of kinetin slightly enhanced callus formation of basally excised seedlings but seemed to inhibit callus growth in hypocotyls excised at both ends and placed alone on the growth medium. The total amount of callus was greatest in hypocotyls which included intact cotyledons and plumule.

Author's address: Department of Silviculture, University of Helsinki, Unioninkatu 40 B, SF-00170 Helsinki 17, Finland.

## KIRJOITUSTEN LAATIMISOHJEET

Silva Fennica-sarjassa julkaistaan suomen- ja ruotsinkielisiä lyhyitä metsätieteellisiä tutkimuksia ja kirjoituksia. Julkaistavaksi tarkoitettu käsikirjoitus on jätettävä Seuran sihteerille painatuskelpoisessa asussa. Seuran hallitus ratkaisee asiantuntijoita kuultuaan, hyväksytäänkö kirjoitus painettavaksi.

Kirjoitusten laadinnassa noudatetaan Silva Fennican numerossa Vol. 4, 1970, N:o 3 painettuja kansainvälisiä ohjeita. Symbolien ja kaavojen merkinnöissä noudatetaan suomalaisten standardien ohjeita.

Kirjoituksen alkuun tulee julkaisun kielellä lyhyt yhdistelmä tutkimuksen tuloksista. Samoin laaditaan tutkimuksen yhteyteen lyhyt englanninkielinen tiivistelmä, jonka lisäksi kunkin Silvan numeron loppuun painetaan irti leikattavan kortin muotoon kustakin tutkimuksesta englanninkielinen esittely. Sisällysluetteloa ei käytetä. Mahdolliset kiitokset esitetään lyhyesti johdannon lopussa ja merkitään painettavaksi petiillä.

Kuvien ja piirrosten viivapaksuudet ja tekstikoko on valittava siten, että ne sallivat painatuksen vaatiman pienennyksen. Kuvien ja piirrosten painatuskokosta on syytä neuvotella etukäteen toimittajan kanssa, sillä tarpeettomia kustannuksia aiheuttavaa painatuskokoa ei sallita. Valokuvien tulee olla teknisesti moitteettomia ja kiiltävälle valkealle paperille suunnitettuja. Värikuvia ei yleensä hyväksytä painettavaksi. Kuvat ja taulukot numeroidaan kummatkin erikseen juoksevasti, ja niiden otsikoista laaditaan erillinen luettelo kirjapainoa varten.

Jos vieraskielisessä lyhennelmässä viitataan tiettyihin kuviin ja taulukoihin, on nämä varustettava vieraskielisin otsikoin ja selityksin. Muut kuvat ja taulukot voivat olla yksikielisiä.

Lähdeviitauksissa tekijännimet sijapääätteineen kirjoitetaan isoin kirjaimin mikäli tekijännimen vartalo on muuttunut. Muutoin taivutuspääte kirjoitetaan pienaakkosin. Esimerkkejä: KOSKISEN (1972) tutkimus . . . , YLI-VAKKURIN (1972) tutkimus . . . . Milloin tekijöitä on kolme tai useampia, mainitaan tekstissä vain ensimmäinen (esim. HEIKURAINEN ym. 1961). Vieraskielisessä tekstissä ym. korvataan merkinnällä et al. Jos julkaisulla on kaksi tekijää viitteessä, pannaan tekijöiden nimien väliin ja-sana painatuskielellä. Esimerkki: KELTIKANGAS ja SEPPÄLÄ (1973, s. 222) osoittivat . . .

Viitekirjallisuus luetteloidaan tekijännimien (kirjoitetaan isoin kirjaimin) mukaisessa aakkosjärjestyksessä. Jos tekijöitä on useampia, nimet erotetaan pilkulla, paitsi kaksi viimeistä, jotka erotetaan &-merkillä. Tekijän etunimistä suositellaan käytettäväksi vain alkukirjaimia. Tutkimusten nimet kirjoitetaan lyhentämättä. Julkaisusarjoista käytetään niitä lyhenteitä, jotka on painettu Silva Fennican numerossa Vol. 5, 1971, N:o 2. Täydellisempi luettelo on nähtävissä Seuran toimistossa. Kirjoituksen löytämisen helpottamiseksi mainitaan aikakauslehdistä myös sivunumerot. Suomenkielisistä tutkimuksista otetaan mukaan vieraskielisen lyhennelmän nimi. Volyymi merkitään julkaisusarjan nimen jälkeen. Jos kyseessä on aikakauslehti tai vastaava, numero merkitään volyymin jälkeen suluissa. Sivunumerot erotetaan kaksoispisteellä volyymistä tai suluissa olevasta numerosta. Jos samalla kertaa ilmestynyt volyymi sisältää useita tutkimuksia, merkinnässä sovelletaan ko. julkaisussa noudatettua tapaa. Esimerkkejä:

ILVESSALO, Y. 1952. Metsikön kasvun ja poistuman välisestä suhteesta. Summary: On the relation between growth and removal in forest stands. — Commun. Inst. For. Fenn. 40.1.

WILCOX, W. W., PONG, W. Y. & PARMETER, J. R. 1973. Effects of mistletoe and other defects on lumber quality in white fir. Wood & Fiber 4 (4): 272—277.

Seuran julkaisujen toimittaja vastaa eri kirjoitusten painoasun yhtäläisyydestä, josta syystä hänen painoasua koskevia määräyksiään on noudatettava. Tekijä vastaa kirjoituksen sisällöstä. Jos käsikirjoituksesta poiketaan, lankeavat tästä aiheutuvat lisäkustannukset kirjoittajan maksettaviksi. Lähempiä tietoja antaa Seuran julkaisujen toimittaja.



KANNATTAJAJÄSENET -- UNDERSTÖDANDE MEDLEMMAR

CENTRALSKOGSNÄMNDEN SKOGSKULTUR  
SUOMEN METSÄTEOLLISUUDEN KESKUSLIITTO  
OSUUSKUNTA METSÄLIITTO  
KESKUSOSUUSLIKE HANKKIJA  
SUNILA OSAKEYHTIÖ  
OY WILH. SCHAUMAN AB  
OY KAUKAS AB  
KEMIRA OY  
G. A. SERLACHIUS OY  
KYMIN OSAKEYHTIÖ  
KESKUSMETSÄLAUTAKUNTA TAPIO  
KOIVUKESKUS  
A. AHLSTRÖM OSAKEYHTIÖ  
TEOLLISUUDEN PUUYHDISTYS  
OY TAMPELLA AB  
JOUTSENO-PULP OSAKEYHTIÖ  
KEMI OY  
MAATALOUSTUOTTAJAIN KESKUSLIITTO  
VAKUUTUSOSAKEYHTIÖ PORJOLA  
VEITSILUOTO OSAKEYHTIÖ  
OSUUSPANKKIEN KESKUSPANKKI OY  
SUOMEN SAHANOMISTAJAYHDISTYS  
OY HACKMAN AB  
YHTYNEET PAPERITEHTAAT OSAKEYHTIÖ  
RAUMA-REPOLA OY  
OY NOKIA AB, PUUNJALOSTUS