

# IONISOIVAN SÄTEILYN VAIKUTUS VARASTOKUIVIEN JA LIOTETTUJEN METSÄPUIDEN SIEMENTEN IDÄNTÄÄN JA TAIMIEN ALKUIKEHITYKSEEN

TAPIO LEHTINIEMI

## SUMMARY:

EFFECT OF IONIZING RADIATION ON THE GERMINATION OF STORAGE-DRY AND SOAKED FOREST TREE SEEDS AND ON THE INITIAL DEVELOPMENT OF SEEDLINGS

Saapunut toimitukselle 1975-12-17

Tässä tutkimuksessa selvitetään kokeellisesti, miten männyn, kuusen, rauduksen, hieksen sekä terva- ja harmaalepän varastokuivien ja vuorokauden ajan vedessä liotettujen siementen idäntä muuttuu säteilyannoksen ( $\gamma$ -säteilytys, 0—10 000 rad<sup>1</sup>) funktiona, millainen on syntyvien taimien pituuskasvu sekä mitä somaattisia mutaatioita löytyy.

Liotetut, pienehkön säteilyannoksen saaneet siemenet itivät yleensä varastokuivia paremmin; poikkeuksena oli hieskoivu. Idännässä, pituuskasvussa ja mutanttien suhteellisessa määrässä ilmenevät vauriot olivat sitä selvemmät kuin suuremman säteilyannoksen siemenet olivat saaneet. LD<sub>50</sub>-annos (idäntä, 28 vrk) oli eri puulajeilla seuraava (varastok./liotetut): mänty 1 500—2 000/2 500—3 000, kuusi 1 000—1 500/4 000—4 500, raudus 9 500—10 000/7 000—7 500, hies > 10 000/7 500—8 000 ja tervaleppä 10 000/8 500—9 000 rad.

Erilaisten, ehkä koristetarkoituksiin sopivien lehtipuumutanttien massatuotanto osoittautui helpoksi gammasäteilytystä apuna käyttäen. Sen sijaan puiden kasvun parantamisen mahdollisuus jäi jatkotutkimuksilla selvitettäväksi.

## 1. JOHDANTO

Kasveja tai niiden osia (siemeniä, siitepölyhiukkasia tms.) säteilytetään, mm. jotta saataisiin laajennetuksi perinnöllistä vaihtelua (aiheutetuksi mutaatioita) ja näin lisätyksi valinnan mahdollisuuksia jalostuksessa. Käytännöllisenä tavoitteena on yleensä joko

satoisuuden lisääminen tai koristetarkoitukseen sopivien lajikkeiden kehittäminen (esim. uudet krysanteemit).

Viljakasvien siementen gammasäteilytys uusien lajikkeita jalostettaessa on meillä Suomessakin jo jokapäiväistä ja sillä on päästy myös hyviin tuloksiin (esim. KIVI ym. 1974). Metsäpuiden siemeniä ja taimia on kokeiltu röntgen- ja gammasäteilyttä

Turun yliopistossa (10 *Betula*-lajia), mutta mitään selvää positiivista tulosta idännän paranemisen tai pituuskasvun kiihtymisen suhteen ei olla saavutettu monivuotisissa kokeissa (VAARAMA 1968). Tietävästi metsäpuiden vegetatiivista kasvua ei muuallakaan olla toistaiseksi pystytty kohottamaan ionisoivan säteilyn avulla. Tämä sopii hyvin yhteen sen vallalla olevan käsityksen kanssa, että mutaatiot ovat lähes poikkeuksetta haitallisia puiden kasvun kannalta.

Mutanteja voidaan tuottaa mutageeneilla, jotka ovat joko fysikaalisia (säteily) tai kemiallisia. Ionisoivaa säteilyä on käytetty useita lajeja: röntgen-, gamma- ja ultraviolettisäteily sekä alfa- ja beetapartikkeleita, protoneja ja neutroneja. Kullakin säteilylajilla on omat tyypilliset vaikutuksensa, jotka joudutaan säteilytettäessä ottamaan huomioon.

Gammasäteily on erittäin lyhytaaltoista ja läpikäyvä sähkögagneettista säteilyä. Näihin ominaisuuksiin perustuu sen tehokkuus ja yleinen käyttö mutanttien tuottamisessa. Säteilylähteenä on tavallisesti kobolttin radioisotooppi <sup>60</sup>Co (puoliutumisaika 5,2 v) tai cesium — <sup>137</sup>Cs (puoliutumisaika 30,0 v). Säteilytys voi olla joko akuuttista (minuuteista muutamiin tunteihin kestävä) tai kroonista (viikoista vuosiin). Useimmiten kobolttia käytetään siementen akuutissa säteilytyksessä, sekä sitä tai pitemmän puoliutumisaajan omaavaa cesiumia kokonaisten kasvien krooniseen käsittelyyn gammakentillä.

Säteily vaikuttaa kasveihin seuraavin tavoin: kromosomit katkeilevat, tapahtuu somaattinen mutaatio, kasvu estyy tai vaikeimmassa vauriossa kasvi kuolee (SPARROW ja EVANS 1961). On huomattava, että vaurion ei tarvitse läheskään aina tulla fenotyyppisesti näkyviin säteilytetyssä sukupolvessa.

Nykyisin, kun radiobotaaninen tietämys lisääntyy nopeasti, on vaikea laatia täydellistä luetteloa kaikista niistä abioottisista tai biologisista seikoista, joiden on todettu vaikuttavan kasvien tai niiden osien säteilyn kestävykseen tai kääntäen säteilyherkkyyteen.

Edellisistä on tärkein siemeniä ajatellen niiden vesipitoisuus, joka vaikuttaa säteilyvaurioiden syntyyn säteilyn tuottamien vapaiden radikaalien kautta (esim. OHBA

1961). CALDECOTT (1954, 1955) on osoittanut, että ohran siemenet, joiden vesipitoisuus on 8—16 %, kestävät parhaiten röntgensäteilyä. OHBA (1961) sai samankaltaisen tuloksen *Pinus densifloran* (Sieb. et Zucc.) gammasäteilytettyjä siemeniä idätettäessä: annoksen suuretessa itävyys huononi, mutta optimikosteus oli kullakin annostasolla aina 12—13 %.

EVANS ja SPARROW (1961) ovat laatineet seuraavan luettelon tärkeimmistä kasvisolujen säteilyherkkyyttä lisäävistä biologisista tekijöistä:

1. Suuret tumat (korkea DNA-pitoisuus)
2. Tuman ja tumajyvän kokojen välisen suhteen suuruus
3. Heterokromatiinin runsaus
4. Pitkät kromosomin haarat (suuret kromosomit)
5. Akrosentriset kromosomit (ei metasentriset)
6. Normaali sentromeeri (ei polysentriäinen tai muuten poikkeava)
7. Yksitumaiset solut (ei monitumaiset)
8. Alhainen kromosomiluku
9. Diploidisuus tai haploidisuus (ei polyploidiaa)
10. Suvullinen lisääntyminen (ei suvuton)
11. Solujakautumisen hitaus
12. Pitkä dormanssi
13. Dormanssin aikana esiintyvät meioottiset vaiheet
14. Hidas meioosi
15. Suojaavien kemiallisten aineiden alhainen pitoisuus.

EL-LAKANY on tutkimuksissaan korostanut erityisesti siementen osalta tuman ja kromosomien kookkuuden merkitystä gammasäteilyherkkyyden lisääjinä ja myös sitä, että mitä enemmän DNA:ta on solua ja kromosomia kohti laskettuna, sitä herkemmin siemenet vaurioituvat (EL-LAKANY ja SZIKLAI 1970 a).

Edellä esitetyistä syistä siemenet kestävät säteilytystä paremmin kuin koko kasvi, ja dormanssivaiheessa oleva kasvi paremmin kuin aktiiviperiodia läpikäyvä saman lajin yksilö.

Nyt käsillä oleva orientoiva tutkimus on syntynyt mielenkiinnosta säteilytystekniikkaa ja sillä mahdollisesti aikaansaattavia käytännön puuntuotantoa tai koristepuiden tai -pensaiden jalostusta hyödyttäviä tuloksia kohtaan. Kirjoittaja on tullut aihepiiriin aiempien metsäpuiden siementuhojen

<sup>1</sup> rad = radia (röntgen absorbed dose) tässä tutkimuksessa

selvittämiseen kohdistuneiden merkkiaine-tutkimustensa kautta, joissa käytettiin beeta-aktiivista fosforia ( $^{32}\text{P}$ , LEHTINIEMI 1976). Paitsi säteilytys- ja vitaliteetiltaan heikkojen taimien kasvatustekniikan selvittämistä mielenkiinnon kohteena on tässä se, miten männyn, kuusen, rauduksen, hieksen sekä terva- ja harmaalepän varastokuivien ja vuorokauden ajan vedessä liotettujen siementen idäntä muuttuu säteilyannoksen funktiona ja millaisia mutanteja saadaan syntymään.

## 2. TUTKIMUSMENETELMÄ JA AINEISTO

Kokeisiin käytettiin Metsänjalostussäätiöltä ostettuja kunkin puulajin puolisisaruksia, tässä tapauksessa yhdestä puusta kerättyjä siemeniä, jotta hajonta saataisiin pieneksi. Alkuperä- ja itävyystiedot ilmenevät taulukosta 5 s. 30. Siemenkeräyspuut ovat säätöön hyvärotuisia kantapuita.

Kukin siemeninä sekoitettiin huolellisesti ja jaettiin kahtia. Toinen puoli (A) puhdistettiin ja jaettiin liotusta sekä säteilytystä varten osiin ( $3 \times 100$  siementä). Toista puolta (B) käytettiin siementen kosteusprosenttien kontrollointiin sekä itävyyds- yms. määrittäisiin (ks. taulukko 5).

Liotus tapahtui vesijohtovedessä (24 h, 20° C) Tämän jälkeen siemeniä kuivattiin pöytälampan lämmössä niin, etteivät ne

Käsikirjoituksen ovat tarkastaneet dos., FT Veikko Koski, Helsingin yliopiston metsänhoitaja, MMT Juhani Sarasto sekä yliopiston maatalousmetsätieteellisen tiedekunnan isotooppiosaston vastaava johtaja, FK Antti Uusi-Rauva. Heidän tekemänsä korjausedotukset olen ottanut huomioon.

Tutkimusta varten Suomen Metsätieteellinen Seura on myöntänyt apurahan. Lausun kunnioittavat kiitokseni em. henkilöille sekä seuralle.

enää tarttuneet toisiinsa. A-erä vietiin muoviputkissa säteilytykseen ja B-erä kosteus- yms. määrittäisiin. Verrattaessa siementen kuivapainosta laskettuja kosteusprosentteja (taulukko 1) aiemmin esitettyihin tietoihin optimipitoisuudesta havaitaan, että varastokuivat ovat joko selvästi tai lievästi kosteudeltaan alioptimaalisia ja liotetut erittäin selvästi ylioptimaalisia. Varastokuivien hieksen siementen kosteus on kuitenkin lähellä optimia. Säteilytettävät siemenet vietiin välittömästi liotus-kuivauskäsittelyn jälkeen Helsingin yliopiston radiokemian laitokselle, missä laboratorioinsinööri TIMO AUTIO suoritti säteilytyksen 21° C:en lämpötilassa 10. 01. 1975. Gammalähteenä oli  $^{60}\text{Co}$ -isotooppi ja annosnopeus  $12 \cdot 10^3$

Taulukko 1. Varastokuivien ja liotettujen siementen kosteusprosentit ennen gammasäteilytystä.  
Table 1. Moisture content of storage-dry and soaked seeds before gamma-irradiation.

Puulaji Tree species	Kosteus, % — Moisture content, %			
	tuorepainosta — of fresh weight		kuivapainosta — of dry weight	
	varastokuivat storage-dry	liotetut soaked	varastokuivat storage-dry	liotetut soaked
<i>Pinus silvestris</i> .....	6,2	30,3	6,6	43,5
<i>Picea abies</i> .....	7,5	25,4	8,1	34,1
<i>Betula verrucosa</i> <sup>1</sup> .....	8,6	54,0	9,5	117,5
<i>B. pubescens</i> <sup>1</sup> .....	10,5	61,6	11,7	160,4
<i>Alnus incana</i> <sup>1</sup> .....	9,0	69,9	9,9	232,7
<i>A. glutinosa</i> <sup>1</sup> .....	9,6	69,7	10,6	230,2

<sup>1</sup> vajaasti puhdistettuja siemeniä; vain säteilytetyt olivat täysin puhdistettuja — not fully cleaned seeds, only the irradiated seeds were fully cleaned.

rad·h<sup>-1</sup>. Sekä varastokuivien että liotettujen gamma-annostasot olivat seuraavat: 0, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 ja 10000 rad. Koeyksikön koko jatkossa oli 100 siementä ja toistoja 3 kpl.

Siemenet kylvettiin välittömästi koeyskoihtäin turveruukkuihin, joissa substraattina oli steriloitu hiekka (raekoko 0,3–0,5 mm, pH 4,9 vesimäärityksellä). Idätys ja taimien kasvattaminen koulumiseen saakka tapahtui yliopiston metsänhoitotieteen laitoksen kasvatuskaapissa, jossa ilman lämpötila pidettiin päivällä (16 h) 25° C:ssa ja yöllä (8 h) 15° C:ssa. Päivällä käytettiin 3 300 luksin loisteputkivalaistusta. Kastelu

suoritettiin kerran viikossa tislattulla vedellä ja toisen kerran ravintoliuoksella (ns. Hoagland-liuos, jossa rauta oli EDTA-ke-laattina).

Itäneet siemenet laskettiin 10 ja 28 vrk:n kuluttua idätyksen aloittamisesta. Samalla mitattiin syntyneiden taimien keskipituus ja tehtiin muitakin havaintoja. Havupuista poiketen lehtipuiden taimissa ilmeni monenlaisia epänormaalisuuksia, jotka kirjattiin ennen toukokuussa 1975 tapahtunutta koulintaa kasvihuoneeseen. Kaikkiaan idätettiin 25 200 siementä ja jatkokasvatukseen (pituuskasvun ja mutanttien kehityksen seurantaan yms.) valittiin n. 600 taimia.

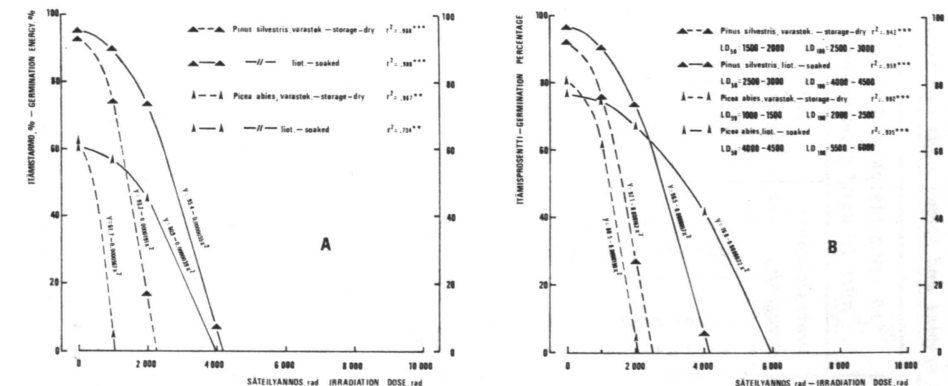
## 3. TULOKSET

### 31. Männyn ja kuusen itämistarmo ja -kyky sekä taimien alkukehitys

Taulukossa 2 ja kuvassa 1 on esitetty männyn ja kuusen varastokuivien tai liotettujen siementen idäntä ja taimien alkukehitys säteilyannoksen funktiona. Itäneiksi on katsottu siemenet, jotka ovat itäneet oikein päin niin, että niihin on kehittynyt jo vähintään 4 kertaa siemenen pituinen sirkakuuri.

Itämisprosentteja tarkasteltaessa havaitaan, että gammasäteilyllä on jo melko pieninäkin annoksina idäntää hidastava ja vähentävä vaikutus ja että liotetut ovat itäneet varastokuivia siemeniä paremmin. Säteilyannoksen suuretassa itävyys huononee.

Kuvassa 1 on nähtävissä LD<sub>50</sub>-annokset (50 % siemenistä jää itämättä nollatasoon verrattuna) ja LD<sub>100</sub>-annokset (100 % jää itämättä). LD<sub>50</sub>-arvoa käytetään usein esim. viljakasvien jalostuksessa tehokkaimman kä-



Kuva 1. Havupuiden itämistarmon (A) ja itämisprosentin (B) muuttuminen säteilyannoksen funktiona (LD<sub>0</sub>: x = 0).<sup>1</sup>

Fig. 1. Germination energy (A) and germination percentage (B) of conifers as a function of the irradiation dose (LD<sub>0</sub>: x = 0).

<sup>1</sup> Kuvien 1 ja 2 koot on valinnut sarjan toimittaja MMT Matti Kärkkäinen poiketen alkuperäiskäsikirjoituksesta.

Taulukko 2. Männyn ja kuusen idäntä ja taimien alkukehitys säteilyannoksen funktiona.  
Table 2. Germination of pine and spruce seeds and initial development of seedlings as a function of the irradiation dose.

Puulaji ja säteilyannos rad Tree species and irradiation dose rad	10 vrk:n idätyksen jälkeen after 10 days' germination				28 vrk:n idätyksen jälkeen after 28 days' germination					
	varastokuivat storage-dry seeds		liotetut soaked seeds		varastokuivat storage-dry seeds		liotetut soaked seeds			
	itämistarmo keskim., % mean germination energy, %	taimien keskipituus, mm <sup>1</sup> mean length of seedlings, mm <sup>1</sup>	itämisprosentti keskim. % mean germination percentage	taimien keskipituus, mm <sup>1</sup> mean length of seedlings, mm <sup>1</sup>	itämisprosentti keskim. % mean germination percentage	taimien keskipituus, mm <sup>1</sup> mean length of living seedlings, mm <sup>1</sup>	itämisprosentti keskim. % mean germination percentage	taimien keskipituus, mm <sup>1</sup> mean length of living seedlings, mm <sup>1</sup>		
<i>Pinus silvestris</i>	0	90	22	31	90	33	8	92	31	5
	1 000	78	20	31	89	27	8	93	35	5
	2 000	16	3	15	31	14	65	86	24 <sup>3</sup>	11
	4 000	0	—	4	(-3)	(10)	7	4	12 <sup>3</sup>	85
	6 000	0	—	—	—	—	0	0	—	3
8 000	0	—	—	—	—	0	0	—	0	
10 000	0	—	—	—	—	0	0	—	0	
<i>Picea abies</i>	0	62	8	17	79	43	13	78	45	13
	1 000	5	8	13	63	23 <sup>3</sup>	29	80	37	12
	2 000	0	—	5	4	8 <sup>3</sup>	88	70	35 <sup>3</sup>	20
	4 000	0	—	2	0	—	60	30	16 <sup>3</sup>	61
	6 000	0	—	—	—	—	—	4	7 <sup>3</sup>	90
8 000	0	—	—	—	—	—	0	—	88	
10 000	0	—	—	—	—	—	0	—	55	

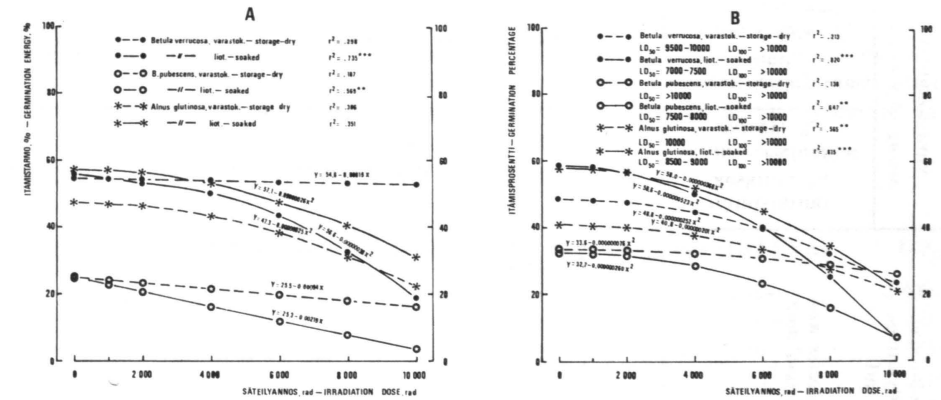
<sup>1</sup> toistokasvustojen keskikorkeus ilman neulasia — mean height of samaras needles excluded

<sup>2</sup> kappaletta = prosenttiyksikköä — numbers = percentage units

<sup>3</sup> selvää mutkavartaisuutta havaittavissa — clearly crooked hypocotyls

sittelyn osoittajana. Huomattakoon tässä, että viljakasveilla (kuten ilmeisesti metsäpuullakin) säteilytyksestä sadon lisäyksenä koituvaa hyötyä saadaan näkyviin vasta säteilytettyä myöhemmissä sukupolvissa. LD<sub>50</sub>-arvoa laskettaessa huomioidaan yleensä vain lisääntymiskykyiset yksilöt. Metsäpuuiden pitkän sukupolviajan vuoksi sama määrittäminen ei käy päinsä, vaan tällöin otetaan huomioon jonkin kohtuullisen pitkän idätysajan (tässä 28 vrk:n) kuluessa syntyneet, elossa säilyneet taimet (myös itutaimet). LD<sub>50</sub>-arvo voidaan tietysti määrittää myöhemmissäkin kehitys- ja kasvatusvaiheissa (vrt. esim. VAARAMA 1968). Vanhastaan tiedetään, että havupuiden siemenet kestävät huonosti ionisoivaa säteilyä verrattuna muiden kasvien siemeniin (mm. GUSTAFSSON ja SIMAK 1958, EL-LAKANAY ja SZIKLAI 1970 a). Nyt saatu kuva vahvistaa tätä käsitystä. Mainittakoon, että GUSTAFSSON ja SIMAK (1958) saivat 'ilmoitettujen', täysin kehittyneiden männyn siementen LD<sub>50</sub>-arvoksi 2 300 r<sup>1</sup> (≈ 2 300 rad, gammasäteily, 50 vrk:n idätys), mikä tulos sopii hyvin yhteen nyt laskettujen arvojen kanssa (*Pinus silvestris*, varastokuivien LD<sub>50</sub> = 1 500 – 2 000 ja liotettujen 2 500–3 000 rad). Kuusen osalta vertailutietoja ei ilmeisesti ole olemassa (ks. VAARAMA 1968, ss. 7–8).

<sup>1</sup> r=röntgen



Kuva 2. Lehtipuiden itämistarmon (A) ja itämisprosentin (B) muuttuminen säteilyannoksen funktiona (LD<sub>0</sub>: x = 0).

Fig. 2. Germination energy (A) and germination percentage (B) of deciduous trees as a function of the irradiation dose (LD<sub>0</sub>: x = 0).

Ehkä vielä herkemmin kuin idännässä, säteilytyksen vaikutukset tulevat näkyviin taimien pituudessa (taulukko 2). Silmävaraisesti tarkastellen myös neulasten ja sirkkajuuren pituus pieniä taimien pituuden myötä. Alkiossa ja koko siemenessä juuri oli herkin vaurioitumaan, mistä oli tuloksena juurettomia, väärin päin itäneitä siemeniä. Surkastuneisuutta ja mutkavartaisuutta lukuun ottamatta sirkkataimet olivat melko luonnollisen näköisiä: esim. klorofyllimutanteja ei syntynyt.

### 32. Lehtipuiden itämistarmo ja -kyky sekä taimien pituuskehitys

Taulukossa 3 ja kuvassa 2 näkyy lehtipuiden siementen itämistarmo ja -kyky sekä taimien pituuskehitys säteilyannoksen funktiona. Itäneiksi katsottiin nyt siemenet, joista oli kehittynyt sirkkalehdellinen taimi. Harmaalepän siementen itävyys osoittautui myyjän ilmoittamaa (taulukko 5) selvästi huonommaksi, eivätkä tulokset siltä osin olekaan käyttökelpoisia. Tulokset ovat heterogeenisempia kuin männystä ja kuusesta saadut (ks. r<sup>2</sup>) ja toistoja olisikin pitänyt olla enemmän.

Lehtipuiden siemenet kestivät selvästi paremmin gammasäteilyä kuin havupuiden siemenet. Hies oli selvästi kestävin. Tulok-



Taulukko 3. Lehtipuiden idäntä ja pituuskehitys säteilyannoksen funktiona.  
Table 3. Germination and initial length development of deciduous trees as a function of the irradiation dose.

Puulaji ja säteilyannos rad Tree species and irradiation dose rad	10 vrkn idätyksen jälkeen after 10 days' germination				28 vrkn idätyksen jälkeen after 28 days' germination					
	varastokuivat storage-dry seeds		liotetut soaked seeds		varastokuivat storage-dry seeds		liotetut soaked seeds			
	itämistarvo keskim., % mean germination energy, %	taimien keskikpituus, mm <sup>1</sup> mean length of seedlings, mm <sup>1</sup>	itämistarvo keskim., % mean germination energy, %	taimien keskikpituus, mm <sup>1</sup> mean length of seedlings, mm <sup>1</sup>	itämistarvo keskim., % mean germination energy, %	taimien keskikpituus, mm <sup>1</sup> mean length of living seedlings, mm <sup>1</sup>	itämistarvo keskim., % mean germination energy, %	taimien keskikpituus, mm <sup>1</sup> mean length of living seedlings, mm <sup>1</sup>		
	kaikki taimet all seedlings	elävät taimet living seedlings	kaikki taimet all seedlings	elävät taimet living seedlings	kaikki taimet all seedlings	elävät taimet living seedlings	kaikki taimet all seedlings	elävät taimet living seedlings		
<i>Betula verrucosa</i>	0	7	63	11	56	43	8	63	58	11
	1 000	10	43	7	60	51	10	56	53	8
	2 000	9	54	8	58	46	12	54	53	10
	4 000	6	62	7	52	48	9	62	59	8
	6 000	5	46	5	54	47	7	46	46	6
8 000	6	24	4	4	60	29	6	31	21	
10 000	6	22	3	3	52	23	6	30	6	
<i>B. pubescens</i>	0	4	26	5	35	35	10	30	30	15
	1 000	4	27	4	29	29	15	32	31	15
	2 000	3	22	3	36	33	20	28	28	10
	4 000	2	20	5	37	37	12	30	30	12
	6 000	2	5	4	4	31	30	15	29	28
8 000	3	6	6	2	32	28	10	28	24	
10 000	2	8	8	1	30	30	8	10	7	
<i>Alnus incana</i>	0	7	4	11	4	2	7	4	2	9
	1 000	9	3	7	4	3	12	3	1	5
	2 000	7	6	4	4	2	1	6	7	3
	4 000	3	3	3	3	3	3	7	5	4
	6 000	1	1	1	1	1	1	3	2	1
8 000	0	—	0	—	(3)	0	—	0	0	
10 000	0	—	(3)	(2)	(3)	(3)	(5)	1	1	
<i>A. glutiosa</i>	0	11	57	11	41	41	22	59	53	22
	1 000	17	54	8	44	44	27	62	56	27
	2 000	14	58	10	41	36	20	65	60	25
	4 000	12	54	5	5	42	38	18	58	28
	6 000	3	45	1	1	40	33	15	56	46
8 000	3	47	4	1	37	28	8	47	33	
10 000	2	28	28	1	31	21	5	31	21	

1 toistokasvustojen keskikorkuus ilman lehtiä — mean height of samples leaves excluded

set ovat muuten saman suuntaisia kuin männyn ja kuusen siemenilläkin saadut. Kuitenkin liotetut hieksen siemenet ovat itäneet varastokuivia huonommin. Aikaisemmin maassamme koivuilla suoritetuissa kokeissa sekä raudus että hies kestivät suurinpiirtein yhtä hyvin gammasäteilytystä (LD<sub>50</sub> n. 15 000 r, VAARAMA 1968). Liotus lisäsi tuolloinkin pähkylöiden säteilyherkkyyttä. Kuitenkin kestokyvyn yleistaso oli ehkä jonkin verran korkeampi kuin nyt suoritetuissa kokeissa.

Säteilytyksen aiheuttama, syntyvien taimien vitaliteettia alentava vaikutus tuli erityisen hyvin näkyviin lehtipuilla. Taimia oli suorastaan vaikea saada pidetyksi hengissä edes kasvukammiossa ja osa oli kuollut jo toiseen inventointiin mennessä. Samanlaisia kokemuksia saivat Turun yliopiston tutkijat aiemmin (VAARAMA 1968). Tämä antaa viitteen siitä, miksi luonnossa tavattavat poikkeavuudet ovat niin harvinaisia: mutantit karsiutunevat pois jo itämisvaiheessa tai viimeistään muun kasvillisuuden taholta tulevassa kilpailussa.

### 33. Lehtipuiden mutantit

Lehtipuiden ja erityisesti hieksen (muuntee runsaasti luonnossakin) taimissa oli

havaittavissa monenlaisia fenotyyppejä poikkeavuuksia, jotka on esitetty taulukossa 4. Säteilyannoksen lisääntyessä myös epänormaalien yksilöiden osuus kasvoi ja vauriot kävivät pahemmiksi. Poikkeaviksi katsottavien yksilöiden arvostelu oli jossakin määrin subjektiivista, koska kysymyksessä oli jatkuva sarja normaalista äärimuotoon ja koska säteilyttämättömistäkin siemenistä syntyi tietysti ulkoasultaan vaihtelevia yksilöitä. Niinpä lehtien tylppäkärkisyyttä, vaikka se oli yleinen muutos kaikilla lehtipuilla, ei erotettu ollenkaan. Samoin tervalepät jätettiin luokittelematta lehtien hammasuuden poikkeavuuden osalta.

Vaikka sirkkalehdet ja pari ensimmäistä pysyvää lehteä saattoivat olla hyvinkin erikoisen näköisiä, seuraavat olivat melko normaaleja. Niinpä kuudes lehti oli useimmiten jo täysin normaali ulkoasultaan. Säteilyn aiheuttama kasvun jälkeensä jääneisyys osoittautui sen sijaan myöhemmissä tarkastuksissa pysyväksi. VAARAMAN (1968) tutkijaryhmä teki aiemmin samanlaisia havaintoja koivuista. KIVI (1962) on selostanut säteilyvaurioitten karsiutumista siemeninä käsitellyistä kasveista. Terveiden ja vähiten vaurioituneiden solukoiden (sopiva kosketus säteilytettäessä) korvatussa vaurioituneet taimiin alkaa muodostua normaaleja lehtiä.

## 4. TARKASTELUA

Kuten tämän kirjoituksen alussa mainittiin, alhainen kromosomiluku on eräs säteilyherkkyyttä lisäävä tekijä. Näin ollen on mielenkiintoista vertailla lopuksi, voidaanko — kuten nopea silmäys antaa aiheen epäillä — tällä selittää kotimaisten puulajien sie-

menten säteilyherkkyyttä. Asia selviää seuraavasta asetelmasta, johon on otettu mukaan vain varastokuivat, kosteudeltaan liotettuja yhtenäisemmät siemenet (vrt. taulukko 1):

PUULAJI	ALKION KROMOSOMILUKU (2n)	LD <sub>50</sub> , rad (IDÄNTÄ)	LD <sub>100</sub> , rad
<i>Pinus silvestris</i> .....	24	1 500—2 000	2 500—3 000
<i>Picea abies</i> .....	24	1 000—1 500	2 000—2 500
<i>Betula verrucosa</i> .....	28	9 500—10 000	>10 000
<i>Alnus glutinosa</i> .....	28	10 000	>10 000
<i>Betula pubescens</i> .....	56	>10 000	>10 000

Kromosomiluku näyttää siis todellakin kelpaavan säteilyherkkyyden selittäjäksi. Tämän mukaan havupuiden haploidisen

endospermin pitäisi vaurioitua erityisen herkästi lehtipuiden triploidiseen siemenvalku-

Taulukko 4. Elävien lehtipuuntaimien poikkeavuudet.<sup>1</sup>Table 4. Abnormalities and normality of living hardwood seedlings emerged from irradiated seeds.<sup>1</sup>

Puulaji ja säteilyannos rad <i>Tree species and irradiation dose rad</i>	Varastokuivat siemenet — <i>Storage-dry seeds</i>												
	lehtien koko <i>size of leaves</i>		lehtien väri <i>colour of leaves</i>		lehtien muoto <i>shape of leaves</i>					lehtiruoti <i>petiole</i>		kasvutapa pensastava <i>bushy</i>	normaaleja taimia <i>normal seedlings</i>
	surkastunut <i>dwarfed</i>	epänorm. suuri <i>enlargened</i>	lehtivihreättömiä laikkuja <i>chlorophyll spotwise lacking</i>	punertava <sup>2</sup> <i>reddish<sup>2</sup></i>	epäsymmetrinen <i>asymmetric</i>	bifurkaatio <i>bifurcated</i>	kurtullehtinen <i>rugose</i>	1. ja 2. pysyvä lehti ei hampaita <i>first and second permanent leave edentate</i>	lievästi liuska-lehtinen <i>slightly lobated</i>	lyhentynyt <i>shortened</i>	pidennynt <i>elongated</i>		
<i>Betula verrucosa</i> 0				21									124
1 000	59			5									93
2 000	40		3	43									95
4 000	21		2	17	1								119
6 000			4	7	52								89
8 000			4	9	52								31
10 000	2		6	8	59								8
<i>B. pubescens</i> 0				12	1								96
1 000	12			9									74
2 000	15			11									85
4 000	18		1	7	56								74
6 000	51		1	43	1								7
8 000	58		1	27									0
10 000	49	1	2	15	71		3		8		1		0
<i>Alnus incana</i> 0	3												3
1 000					1								9
2 000	4												0
4 000	2												5
6 000													2
8 000													1
10 000													1
<i>A. glutinosa</i> 0	1								1		1		123
1 000					1								130
2 000			1		5	1							101
4 000	72		17		15		1				1		21
6 000	38												29
8 000													0
10 000													0

<sup>1</sup> yhteensä 3 × 100 siementä; inventointi 28...50 vrk säteilytyksen jälkeen — *a total of 3 × 100 seeds; inventory 28...50 days after irradiation*

<sup>2</sup> antosyaniinin runsas muodostuminen koivuilla on yhteydessä riittävään valon saantiin, mutta eräissä tapauksissa säteilytys lisäsi sitä aivan ilmeisesti — *abundant antocyanin formation in birch is connected with sufficient light supply, although in some cases irradiation clearly increased it*

Puulaji ja säteilyannos rad <i>Tree species and irradiation dose rad</i>	Liotetut siemenet — <i>Soaked seeds</i>												
	lehtien koko <i>size of leaves</i>		lehtien väri <i>colour of leaves</i>		lehtien muoto <i>shape of leaves</i>					lehtiruoti <i>petiole</i>		kasvutapa pensastava <i>bushy</i>	normaaleja taimia <i>normal seedlings</i>
	surkastunut <i>dwarfed</i>	epänorm. suuri <i>enlargened</i>	lehtivihreättömiä laikkuja <i>chlorophyll spotwise lacking</i>	punertava <sup>2</sup> <i>reddish<sup>2</sup></i>	epäsymmetrinen <i>asymmetric</i>	bifurkaatio <i>bifurcated</i>	kurtullehtinen <i>rugose</i>	1. ja 2. pysyvä lehti ei hampaita <i>first and second permanent leave edentate</i>	lievästi liuska-lehtinen <i>slightly lobated</i>	lyhentynyt <i>shortened</i>	pidennynt <i>elongated</i>		
													173
108				14									51
100			6	3	50								50
101			2	19	139	1							0
14			2	13	127								2
10				11	5								29
													11
29													61
5			1	13	1								87
17	1		2	18	34				1	4			10
26				15	44	1				3			29
75					26					6	1		0
68					15					2			0
7			1	1						4	1		0
													5
3													4
12					2								5
													2
													3
													0
													2
													0
													160
													163
													179
79			17		63		1						11
48			2		24					5			49
													0
													0

Taulukko 5. Tietoja siementen alkuperästä ja itävyydestä.

Table 5. Information of the origin and germination capacity of seeds.

Puulaji <i>Tree species</i>	Siemen­erän tunnus <i>Symbol of seed lot</i>	Proveni­enssi <i>Provenance</i>	Tuhat­jyv­äp­aino g <i>1 000 cron weight g</i>	Itäviä siemeniä kpl/g <i>Germinable seed no/g</i>
<i>Pinus silvestris</i> .....	71—E2547	Vilppula	4,3 <sup>1</sup>	—
<i>Picea abies</i> .....	68—E8	Miehikkälä	5,8 <sup>2</sup>	—
<i>Betula verrucosa</i> .....	72—E4569	Sääksmäki	—	2 520
<i>B. pubescens</i> .....	72—Ko1293	Punkaharju (xLoppi) <sup>3</sup>	—	380
<i>Alnus incana</i> .....	73—E648	Sääminki	—	40
<i>A. glutinosa</i> .....	74—E3252	Hartola	—	120

<sup>1</sup> ja <sup>2</sup> itävyys röntgenkuvan mukaan 98,5 ja 92,5 % — *germination capacity according to X-ray analysis 98,5 and 92,5 %* (SIMAK & GUSTAFSSON 1953, MÜLLER-OLSEN et al. 1956).

<sup>3</sup> siitepöly Lopelta — *pollen from Loppi*.

luku on pieni, kromosomin tuhoutumisen aiheuttama geneettisen informaation menetys on suhteellisesti suurempi kuin, jos kromosomiluku on korkea. Muista tekijöistä kannattaneen tässä panna merkille ainakin havupuiden alkiodien kromosomien suhteellinen kookkuus lehtipuihin nähden.

Nyt suoritettujen ja aiemmin maassamme tehtyjen (VAARAMA 1968) kokeilujen perusteella voidaan sanoa, että erilaisten ulkoasultaan poikkeavien lehtipuumutanttien teko koristetarkoituksiin massatuotantona gammasäteilytyksestä lähtien on erittäin

helppoa. Sen sijaan jää vaille vastausta, voidaanko metsäpuiden kasvua parantaa fysikaalisilla mutageeneilla. Lehtipuiden lyhyehkön sukupolviajan vuoksi on ainakin teoriassa mahdollista saada niiden osalta jonkinlainen vastaus tähän kysymykseen.

Sikäli kuin alan perustutkimusta jatketaan, olisi riittävän laajoja aineistoja käyttäen selvitettävä, miten eri puulajien siementen proveniensi ja kosteus tarkalleen vaikuttavat säteilyherkkyyteen (ks. GUSTAFSSON ja SIMAK 1958 ja OHBA 1961 sekä EL-LAKANAY ja SZIKLAI 1970 a, b).

## KIRJALLISUUS

- CALDECOTT, R. S. 1954. Inverse relationship between the water content of seeds and sensitivity to X-rays. *Science* 120: 809—810.
- » — 1955. Effects of ionizing radiation on seeds of barley. *Rad. Res.* 2: 339—350.
- EL-LAKANAY, M. H. & SZIKLAI, O. 1970 a. Variation in nuclear characteristics in selected western conifers and its relation to radiosensitivity. *Rad. Bot.* 10: 421—427.
- » — 1970 b. Effects of gamma-irradiation on some western conifers. *Rad. Bot.* 10: 411—420.
- EVANS, H. J. & SPARROW, A. H. 1961. Nuclear factors affecting radiosensitivity. II. Dependence on nuclear and chromosome structure and organization. *Brookhaven Symp. Biol.* 14: 101—127.
- GUSTAFSSON, Å. & SIMAK, M. 1958. Effect of X- and  $\gamma$ -rays on conifer seed. *Medd. fr. St. skogsf. inst.* 48(5): 1—24.
- KIVI, E. I. 1962. Säteilyvaurioiden karsiutumisen siemeninä käsitellyissä kasveissa. *Luonnon Tutkija* 66 (5): 157—159.
- » — REKUNEN, M. & VARIS, E. 1974. Use of induced mutations in solving problems

of northern crop production. *Proc. Meet. Bari, 2—10 Oct. 1972 (FAO/IAEA)*: 187—194.

- LEHTINIEMI, T. 1976. Männyn ja kuusen siementen tuhoutuminen metsämaassa. Merkkiainemenetelmän soveltaminen tuholaislajiston tutkimiseen. Helsingin yliopiston metsänhoitotieteen laitos. Tiedonantoja N:o 12. 105 p.
- MÜLLER-OLSEN, C., SIMAK, M. & GUSTAFSSON, Å. 1956. Germination analyses by the X-ray method: *Picea abies* (L.). *Karst. Medd. fr. St. skogsf. inst.* 46 (1). 12 p.
- OHBA, K. 1961. Radiation sensitivity of pine seeds

of different water content. *Hederitas* 47: 284—294.

- SIMAK, M. & GUSTAFSSON, Å. 1953. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. *Hederitas* 39: 458—468.
- SPARROW, A. H. & EVANS, H. J. 1961. Nuclear factors affecting radiosensitivity. I. The influence of nuclear size and structure, chromosome complement, and DNA content. *Brookhaven Symp. Biol.* 14: 76—100.
- VAARAMA, A. 1968. Induced mutations and polyploidy in birch, *Betula* spp. Final report (Part II). 81 p.

## SUMMARY:

### EFFECT OF IONIZING RADIATION ON THE GERMINATION OF STORAGE-DRY AND SOAKED FOREST TREE SEEDS AND ON THE INITIAL DEVELOPMENT OF SEEDLINGS

This tentative study was carried out in order to assess experimentally the changes taking place in seed germination of certain tree species as a function of gamma-irradiation, the height growth of the seedlings produced and the types of phenotypic mutants possibly found in the generation that had received radiation. The tree species studied were Scots pine (*Pinus silvestris* L.), Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), weeping birch (*Betula verrucosa* Ehrh.), white birch (*B. pubescens* Ehrh.), black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and grey alder (*A. incana* (L.) Moench).

A part of the seeds were storage-dry, whereas another part had been soaked in water for 24 hours (Table 1). Information on the origin of the seeds, etc., is presented in Table 5. The levels of gamma-irradiation used were 0, 1 000, 2 000, 4 000, 6 000, 8 000 and 10 000 rad. The experimental unit consisted of a lot of 100 seeds, and there were three replications. The gamma source was <sup>60</sup>Co, and the dose rate was 12 000 rad·h<sup>-1</sup>. Irradiation temperature was 21° C.

Germination and seedling growth took place under mercury-vapor lamps (about 3 300 lux) in a growing chamber at a temperature of 25° C in daytime (16 h) and of 15° C in nighttime (8 h). The substrate used was sterilized sand.

Tables 2 and 3 and Figs. 1 and 2 show the principal results obtained for germination energy (10 days) and germination percentage (28 days). At small irradiation doses the soaked seeds

germinated better than the storage-dry seeds. With an increase in the dose the situation became different so that germination of storage-dry seeds was superior to that of soaked seeds. In the case of white birch, however, germination of storage-dry seeds was always better than that of soaked seeds. The LD<sub>50</sub> doses (germination 28 days) were as follows (storage-dry/soaked seeds): pine, 1 500—2 000/2 500—3 000; spruce, 1 000—1 500/4 000—4 500; weeping birch, 9 500—10 000/7 000—7 500; white birch, >10 000/7 500—8 000 and black alder, 10 000/8 500—9 000 rad. Consequently, coniferous seeds were extremely susceptible to irradiation, which could also be expected on the basis of previous knowledge (e.g. Gustafsson & Simak 1958, El-Lakanay & Sziklai 1970 a). The number of chromosomes in the embryonic cells and the size of the chromosomes explain the differences in resistance to irradiation between the tree species studied (e.g. Evans & Sparrow 1961).

In the case of the deciduous trees a number of different phenotypic mutants were recorded (Table 4). Their proportion, just as that of other damages too, increased with an increase in the irradiation dose.

An increase in growth due to irradiation was recorded in none of the seedlings studied. Thus, the possible advances to be received through gamma-irradiation must be found out through later studies.