

# Kevätvehnän lehtilaikkutautien-kestävyyttä voidaan valita tehokkaasti jo jalostusohjelman varhaisissa vaiheissa taudinaiheuttajasiementen nekrotrofisiin efekto-reihin perustuvilla menetelmillä

Annika Johansson

***Menetelmät, joilla kasvitau-  
deille alttiit yksilöt pystytään  
tunnistamaan ja karsimaan  
jalostuspopulaatiosta tarkasti  
jo jalostusohjelman aikaisissa  
vaiheissa, nopeuttavat tau-  
dinkestävien lajikkeiden saat-  
tamista markkinoille. Mais-  
terintutkielmassa selvitettiin  
erilaisten menetelmien käyt-  
tökelpoisuutta lehtilaikkun-  
kestävän keväthevnmateriaalin  
valitsemiseksi.***

Vehnän viljely Suomessa eroaa pohjoisen sijaintimme vuoksi merkittävällä tavalla muista Pohjois-Euroopan sekä Baltian vehnänviljelyalueista. Suomen karut talvet ovat pitäneet huolen siitä, että täällä poikkeuksellisesti lähes 90 % vehnän viljelyalasta on keväthevnnällä, syysvehnän osuuden ollessa vain noin 10 %. Esimerkiksi heti naapurimaasamme Ruotsissa vastaavat luvut ovat päinvastaiset. Suomen ruokaturvan ja

huoltovarmuuden takaamiseksi on ensiarvoisen tärkeää ylläpitää ja kehittää kotimaista keväthevnnän jalostustyötä, jotta pohjoisen pitkiin päiviin ja lyhyeen kasvukauteen soveltuvia lajikkeita on saatavilla myös tulevaisuudessa, maailman mullistuksista huolimatta.

Paikalliseen sopeutuneisuuteen kuuluu oleellisesti myös perinnöllinen kestävyys satotasoja verottavia kasvitauhteja vastaan. Geneettinen resistenssi edistää viljelyn kannattavuutta vähentämällä kasvinsuojeluun tarvittavia panoksia. Suomessa keväthevnnän merkittävimmät taudinaiheuttajat ovat *Pyrenophora tritici-repentis* -sienen aiheuttama pistelaikku (Kuva 1) ja *Parastagonospora nodorum* -sienen aiheuttama ruskolaikku (Kuva 2). Molemmat sienet alentavat satoa vähentämällä kasvin vihreää, yhteyttämiskykyistä lehtialaa. Lisäksi kumpikin tauti voi aiheuttaa jyväkoon pienenemistä sekä laatuvirheitä siemeniin. Tautien kiusaamat kasvit ovat myös alttiimpia muille ympäristön aiheuttamille stressitekijöille, kuten kuivuudelle.



Kuva 1 *Pyrenophora tritici-repentis*-sienen aiheuttama pistelaikkutartunta vehnäkasvustossa.

Kasvitauteja aiheuttavat sienet jaetaan elintapansa mukaan karkeasti kolmeen luokkaan: biotrofisiin, nekrotrofisiin ja hemibiotrofisiin sieniin. Biotrofiset sienet tarvitsevat lisääntyäkseen elävää kasvisolukkoa, josta ne ottavat ravinteita, kun taas nekrotrofiset sienet tappavat kasvisolukkoa itse ja ruokailevat kuolleella biomassalla. Hemibiotrofit taas aloittavat elinkiertonsa kasvissa biotrofeina, kunnes lopulta vaihtavat nekrotrofiseen elämäntapaan tappaen valtaamansa kasvisolukon. *P. tritici-repentis* ja *P. nodorum* ovat molemmat nekrotrofisia sieniä. Ne myös talvehtivat ja lisääntyvät pellolle sadonkorjuun jälkeen jääneessä kuolleessa kasvimateriaalissa. Kevennetty muokkaus ja intensiivinen vehnänviljely lisäävät huomattavasti tautiriskiä.

Taudinaiheuttajasienillä on yleensä käytössään pieniä sienisolun ulkopuolelle eritettäviä molekyyliä, efektoreita, joiden avulla ne häiritsevät kasvin puolustusjärjestelmää ja edistävät etenemistään kasvisolukossa. Biotrofiset sienet käyttävät efektoreita välttyäkseen kasvin puolustusjärjestelmän tunnistukselta sekä esimerkiksi manipuloidakseen kasvin hormoni-toimintaa tarpeisiinsa sopivaksi. Pitkän evolutiivisen kilpajuoksun myötä kasvit ovat kuitenkin kehittäneet keinoja tunnistaa sieniefektoreita, pystyen näin kohdistamaan harkittuja puolustusmekanismeja kutakin taudinaiheuttajaa vastaan.

Klassisen ”gene-for-gene” -mallin (Flor 1956) mukaan biotrofitien efektorien tunnistuksesta seuraava taudinkestävyys on kasvissa usein yhden, vallitsevasti periytyvän resistenssigeenin (R-geeni) takana. Jos tämä R-geeni puuttuu, taudinaiheuttaja jää tunnistamatta ja seurauksena on taudin etenemiselle altis kasviyksilö. Yksi tehokkaista puolustusmekanismeista kasvin tunnistaes-



Kuva 2. Ruskolaikku (*Parastagonospora nodorum*)

sa biotrofisen taudinaiheuttajan on ohjelmoitu solukuolema. Tällöin kasvi itse ”tappaa” omat infektoituneet solunsa, muodostaen näin esteen elävää kasvisolukkoa tarvitsevan sienien etenemiselle.

Aiemmin ajateltiin, että nekrotrofiset sienet erittävät lähinnä kasvisolujen hajottamiseen tarkoitettuja entsyymejä, mutta viime vuosikymmenten aikana on huomattu myös nekrotrofien omaavan pitkälle erikoistuneita efektorimolekyyleja. Näitä kutsutaan nekrotrofisiksi efektoireiksi, joita pistelaikulta on tähän mennessä tunnistettu kolme ja ruskolaikulta kymmenkunta.

Piste- ja ruskolaikun nekrotrofisten efektorien ja kasvin välinen vuorovaikutus on käänteistä verrattuna aiemmin kuvattuun ”gene-for-gene”-malliin. Nekrotrofisen efektorin tunnistaminen kasvissa johtaakin nimittäin kasvin taudinalttiuteen, ja tämä alttius on vallitsevasti periytyvän geenin ohjaamaa. Nekrotrofiset efektorit aiheuttavat alttiusgeeniä kantavissa kasviyksilöissä ohjelmoitua solukuolemaa muistuttavan reaktion, mikä tarkoittaa käytännössä valmiiksi katettua pöytää kuollutta solukkoa ravinnokseen käyttävälle sienelle.

Kaikki tunnetut vehnän alttiusgeenit ovat rakenteeltaan R-geenien kaltaisia, ja vallitseva hypoteesi onkin, että nekrotrofiset taudinaiheuttaj sienet ovat onnistuneet kaappaamaan kasvin biotrofeja vastaan kehittämiä puolustusmekanismeja omiin tarpeisiinsa. Käytännössä nekrotrofiset sienet siis huijaavat efektoriensa avulla kasvin tappamaan omat solunsa, sienien saadessa näin esteettömän kulun isännässään.

Vehnälinjojen herkkyys nekrot-

rofisille efektoireille tekee niistä alttiita voimakkaalle piste- ja ruskolaikkutar-tunnalle. Kasvinjalostajalle tämä on toisaalta myös hyvä uutinen, sillä kar-simalla alttiusgeenejä kantavat yksilöt pois jalostuspopulaatiosta, voidaan tau-dinkestävyyttä parantaa. Alttiusgeene-jä kantavat linjat on kuitenkin kyettävä tunnistamaan, mielellään mahdollisim-man varhaisessa vaiheessa jalostusohjel-maa.

## **Etsinnässä menetelmiä vehnän taudinkestävyuden valitsemiseksi**

Vuonna 2020 Boreal Kasvinjalostus Oy:n ja Luonnonvarakeskuksen kanssa yhteistyössä toteutetussa maisterintutkielmassa validoitiin erilaisia menetelmiä piste- ja ruskolaikunkestävyyden valitsemiseksi kevätvehnän jalostusohjelmassa. Samalla saatiin myös ensimmäinen katsaus kolmen nekrotrofisen efektorin, ToxA:n, SnTox1:n ja SnTox3:n merkityksestä lehtilaikkutautien taustalla Suomessa.

ToxA on piste- ja ruskolaikulle yhteinen efektori ja nykykäsityksen mukaan siirtynyt horisontaalisen geeninsiirron kautta ruskolaikulta pistelaikulle. SnTox1 ja SnTox3 on löydetty tähän mennessä vain ruskolaikulta.

Tutkimuksessa käytettiin vuosina 2012–2019 virallisilta lajikekokeilta sekä Borealin omalta, luonnollisen tar-tunnan alaiselta ruutukokeelta vuonna 2018 tehtyjä tautihavaintoja kuvaamaan kevätvehnälinjojen taudinkestävyyttä pelto-olosuhteissa. Lisäksi 63 kevätvehnälinjan pensomisvaiheen taudinkestävyyttä testattiin kasvihuoneessa tehdyillä



*Kuva 3. Nekrotrofisten efektorien infiltrointia kasvihuonekokeessa. Infiltoinnissa veteen liuotettu efektoriproteiini painetaan neulattoman ruiskun avulla lehtisolukon sisään. Infiltoituneen kohdan rajat merkitään tussilla ja oireet tarkistetaan viiden päivän kuluessa käsittelyä.*

tartutuskokeilla. Näiden 63 vehnägenotyypin herkkyys nekrotrofisille efektoireille testattiin infiltroimalla puhdistettuja efektoireita nuorten kasvien lehtiin (Kuvat 3 ja 4).

Yhteensä 150 kevätvehnälinjaa genotyypitettiin kuudella kirjallisuudesta löytyneellä KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) -merkillä. Nämä KASP-merkit perustuvat kukin alttiuseeneihin linkittyviin pieniin DNA-sekvenssin muutoksiin vehnän genomissa. Lopuksi KASP-genotyyppien sekä efektoriherkkyysien yhteys lehtilaikunalttiuteen pellolla ja kasvihuonekokeessa testattiin tilastollisesti.

Nekrotrofisilla efektoireilla tehdyt käsittelyt paljastivat, että testatuista vehnälinjoista 39 % oli herkkää ToxA:lle, 22 % SnTox1:lle ja jopa 61 %

SnTox3:lle. KASP-merkit ToxA- ja SnTox3-herkkyyksille ennustivat hyvin testaamalla todettuja efektoriherkkyksiä. SnTox1-herkkyyslinkittävistä KASP-merkistä tuli tutkimuksessa vehnäaineistossa esille vain yksi alleeli. Tämä tarkoittaa, että sekä SnTox1:lle herkät, että kestävät yksilöt kantoivat samaa KASP-alleelia, jolloin tätä merkkiä ei voinut käyttää herkkien ja kestävien vehnien erottamiseksi toisistaan.

KASP-merkit ja infiltroimalla todettu ToxA-herkkyys ennustivat hyvin pistelaikunalttiutta pensomisvaiheessa sekä virallisissa lajikekokeissa. ToxA-herkkyys selitti jopa 56 % fenotyyppisestä vaihtelusta virallisiin lajikekokeisiin osallistuneiden vehnälinjojen taudinkestävyydessä. Borealin omalta ruutukokeelta saadussa taudinkestä-



*Kuva 4. ToxA-efektorille herkkä vehnäyksilö. Viiden päivän kuluttua käsittelestä se osa lehdestä, johon veteen liuotettu proteiini on levinnyt, on kuollut kokonaan.*

vyysdatassa efektoriherkkyydellä tai sen puoleen KASP-merkeillääkään ei ollut tilastollista yhteyttä pistelaikkualttiuteen. Virallisten lajikekokeiden ja Borealin ruutukokeen havaintojen välinen ero johtunee todennäköisimmin siitä, että Borealin kokeessa lehtilaikkutartunta oli luonnollisesti levinnyt ja esiintyi koeruu-  
duilla laikuittain. Laadukkainta dataa taudinkestävyuden jalostusta ajatellen saadaankin todennäköisesti keinotekoisesti tartutetuista taudinkestävyysko-  
keista, joissa tartunnan lähde ja tasa-  
puolisuus kasviyksilöiden välillä voidaan optimoida.

Kevätvehnälinjat, jotka olivat herkkiä joko ToxA:lle, SnTox3:lle tai molemmille, olivat merkittävästi alttiimpia ruskolaikkutartunnalle pensomisvai-  
heessa kuin linjat, joilta efektoriherkkyys puuttui. ToxA- ja SnTox3-herkkyys selit-

tivät kolmasosan fenotyypillisestä vaihte-  
lusta vehnälinjojen taudinkestävyudessa. ToxA-herkkyuden KASP-merkki ennusti myös ruskolaikkualttiutta pensomisvai-  
heessa. Vaikka muut KASP-merkit eivät yksinään olleet tilastollisesti merkitse-  
viä, voitiin eri herkkyysalleelien kasautu-  
misen ja ruskolaikkualttiuden kasvami-  
sen välillä nähdä selkeä yhteys. ToxA- ja SnTox3-herkkyyksien KASP-merkit en-  
nustivat ruskolaikkualttiutta myös viral-  
lisissa lajikekokeissa.

## **KASP-merkkejä voidaan jo hyödyntää jalostustyössä**

Pistelaikun- ja ruskolaikunkestävyys ovat kumpikin monitekijäisiä ominai-  
suuksia, ja lisää tutkimusta tarvitaan, jotta mekanismit näiden tautien tausta-  
talla saadaan paremmin selville. ToxA- ja SnTox3-alttiisuusgeenien poistaminen kevätvehnän jalostuspopulaatiosta joko efektoritestauksen tai KASP-merkkien avulla ovat kuitenkin potentiaalisia kei-  
noja parantaa kevätvehnälinjojen piste- ja ruskolaikunkestävyyttä myös kotimai-  
sessa jalostusaineistossa.

KASP-merkkien etuna on, että niitä voidaan käyttää valinnassa jo heti jalostusohjelman alussa, sillä DNA:han perustuvat analyysit vaativat hyvin vä-  
hän siementä. KASP-merkkien käyttä-  
minen on lisäksi edullista, jolloin linjoja voidaan testata huomattavasti suurempi määrä kerralla kuin esimerkiksi pel-  
tokokeissa. Tutkimuksessa validoituja KASP-merkkejä onkin jo otettu käyttöön kevätvehnän jalostustyössä entistä tau-  
dinkestävämpien kevätvehnälaajikkeiden saattamiseksi markkinoille.

Tutkimus vehnän lehtilaikku-

tautien parissa jatkuu väitöskirjatyön muodossa syventyen tarkemmin pistelaikkupopulaation monimuotoisuuteen sekä pistelaikunkestävyyden geneettisen taustan selvittämiseen pohjoismaisessa kevätevehnämateriaalissa.

*Maisterintutkielma Validation of selection tools for leaf blotch resistance in Finnish spring wheat (Triticum aestivum L.) breeding program, jonka pohjalta artikkeli on kirjoitettu, löytyy kokonaisuudessaan Helsingin yliopiston Heldasta: helda.helsinki.fi. Työlle myönnettiin vuonna 2022 Kasvinsuojeluseuran stipendi.*

*MMM, agronomi, väitöskirjatutkija  
Annika Johansson  
annika.m.johansson@helsinki.fi, ext.  
annika.johansson@luke.fi*

## **Kirjallisuus**

Flor H.H. 1956 . “Gene-for-gene” -malli. The complementary systems in flax and flax rust. Adv. Genet. 8:29–54.