

# ***KASVINSUOJELULEHTI***

1/2021

54. vuosikerta



# KASVINSUOJELULEHTI

## SISÄLTÖ

**Tuomikirvoja kannattaa taas tarkkailla.....4**

*Erja Huusela*

**Ennakoiva kasvinsuojelu: Hedelmäpuunsyöpää tarkkaillaan ja poistetaan jatkuvasti.....7**

*Tuuli Haikonen & Päivi Parikka*

**Multiplex-RT-PCR apuna kasvivirusten laaja-alaisessa tunnistamisessa.....13**

*Jaana Jukkala*

**Uusilla peittäusvalmisteilla hyvä suoja siemenlevinteisiä kasvitautteja vastaan.....17**

*Kalle Ohralahti*



*Kannen kuva: Palkokasveilla esiintyi keväällä 2020 runsaasti hernekärsäkkäiden tekemiä vioituksia. Kuva: Nelli Piekkari*

1/2021

54. vuosikerta

Ilmestyy neljä kertaa vuodessa.  
ISSN 0355-0400

### Julkaisija

Kasvinsuojeluseura ry.

### Puheenjohtaja

Anne Rahkonen  
Puhelin +358 295326268  
anne.rahkonen@luke.fi

### Varapuheenjohtaja

Vilma Kuosmanen  
Puhelin 044 413 3503  
vilma.kuosmanen@mtk.fi

### Sihteeri

Juha Tuomola  
juha.tuomola@evira.fi

### Toimitus

Vastaava toimittaja  
Nelli Piekkari  
Puhelin 0400 791 235  
kasvinsuojelulehti@gmail.com  
Paperiposti Kasvinsuojeluseuran toimistolle, osoite alla.

### Osoitteenmuutokset ja jäsenyysasiat

Toimistonhoitaja  
Johanna Karhamo  
Puhelin 040 774 7590  
kasvinsuojeluseura@gmail.com  
Kasvinsuojeluseura ry  
Rekitie 4 D 17  
00950 Helsinki

# Uudet sähköiset palvelut rohkeasti käyttöön

Arvoisa lukija, tervetuloa ensimmäisen sähköisen Kasvinsuojelulehden pariin. Haikein mielin sanoimme vuoden lopussa hyvästit paperiselle Kasvinsuojelulehdelle, jonka julkaisu ehti jatkua 53 vuotta. Ensimmäinen harppaus sähköisen julkaisemisen suuntaan tapahtui jo reilu kymmenen vuotta sitten, kun paperisen lehden lisäksi julkaisu alkoi löytyä jäsenistölle myös seuran verkkosivuilta pdf-versiona.

Lehdessä on ilmestynyt vuosikymmenten aikana valtavasti tutkimustuloksia, uutisia ajankohtaisista aiheista, matka- ja seminaarikertomuksia sekä kannanottoja. Sähköisen lehden myötä artikkeleita on jatkossa mahdollista löytää eri hakukoneiden kautta. Näin hyödylliset kirjoitukset löytyvät myös julkaisemisen jälkeen, eikä tärkeää tietoa unohdu arkistojen kätköihin. Olisi upeaa, jos joskus löytyisi resursseja myös vanhojen lehtien digitoimiseen.

Toiveena on, että Kasvinsuojelulehden sähköinen julkaisu mahdollistaa tulevaisuudessa kirjoitusten entistä paremman näkyvyyden ja tiedon välittämisen alan ihmisten kesken. Verkossa olevia artikkeleita voidaan jakaa esimerkiksi sosiaalisessa mediassa ja niihin on helppo viitata muissa verkkojulkaisuissa.

Toivottavasti tästä mahdollisuudesta on jäsenistöllemme paljon hyötyä ja iloa. Nostakaa kiinnostavia uutisia ja aiheita keskusteluun ja hyödyntäkää rohkeasti sähköisen lehden tuomia uusia ominaisuuksia!

Sähköiset palvelut ovat tulleet kuluneen vuoden aikana väistämättä osaksi myös Kasvinsuojeluseuran tapahtumia. Etäyhteydellä järjestetyt tapahtumat ovat saaneet jäsenistömme keskuudessa suuren suosion. Vuoden aikana on ehditty toteuttaa etänä vuosikokous, Syyspuinti sekä Kasvinsuojelupäivä, joista viimeisin keräsi yli 300 kuuntelijaa. Etäyhteyksien avulla on tavoitettu paljon vanhoja jäseniä, jotka ovat käyneet aiemminkin tapahtumissa. Mukaan on lisäksi löytänyt joukko uusia kävijöitä, mikä on erittäin tervetullutta.

Toivottavasti pian päästäisiin tapaamaan taas myös kasvotusten, sillä etäyhteydet eivät kokonaan korvaa hyviä keskusteluja ja ajatusten vaihtoa. Siihen asti hyödynnetään kuitenkin sähköisten palveluiden tuomia mahdollisuuksia eikä unohdeta niiden tuomia hyötyjä myöskään tulevaisuudessa.

*Nelli Piekkari  
Kasvinsuojelulehden toimittaja*



# Tuomikirvoja kannattaa taas tarkkailla

*Erja Huusela, Luke Kasvinterveys*

***Uusimman tuomikirvaennusteen mukaan kotimainen tuomikirvakanta on elpynyt ja tuhoriski tulevana kesänä on paria edellisvuotta suurempi. Vaihtelua kuoriutumiskelpoisten talvimunien määrissä oli tällä kertaa erittäin paljon. Käytännössä riski voi monin paikoin olla suurempi kuin miltä keskiarvoihin perustuvan ennusteen perusteella näyttää.***

## **Talvimunien määrä ratkaisee**

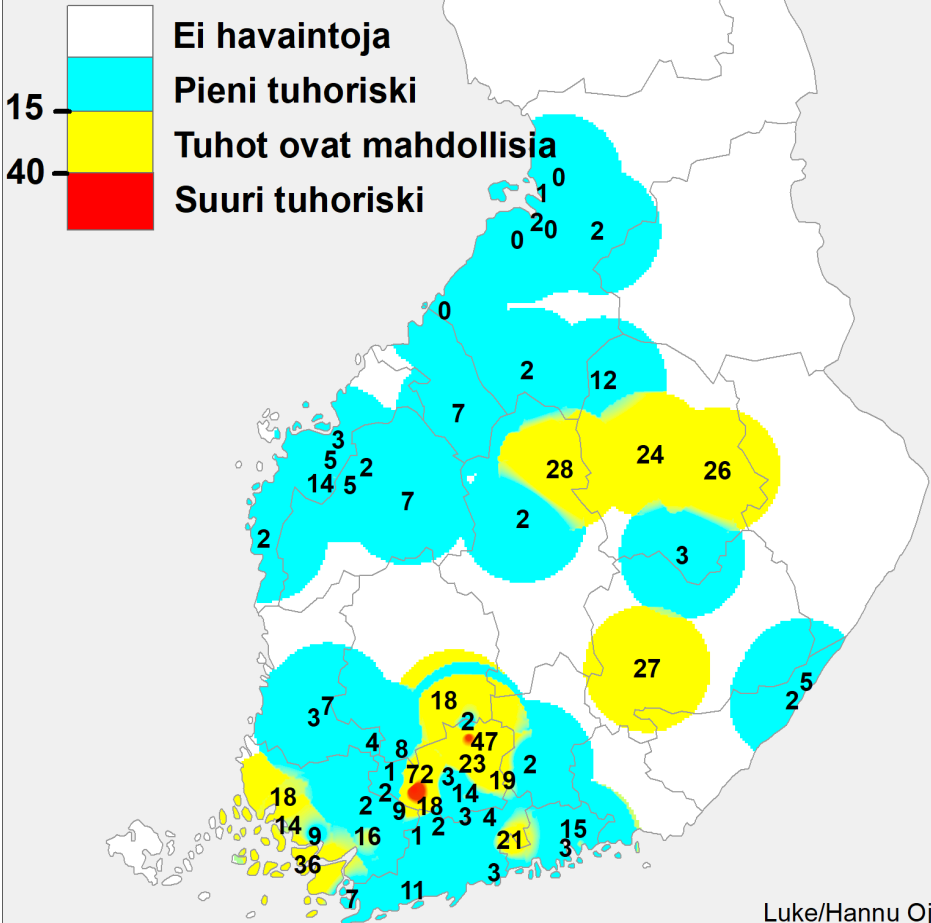
Vuosittainen tuomikirvaennuste perustuu kirvojen talvimunien laskentaan. Näytteenotto tehdään edellisvuoden marras-joulukuussa eri puolelta Suomea. Oksanäytteet otetaan 3–5 pellon läheisyydessä kasvavasta tuomesta ja tuomikirvan talvimunat lasketaan kustakin puusta vähintään 100 silmusta.

Munien talvehtiminen ja elossasäilyvyys vaihtelevat alueittain (10–45 %), mikä huomioidaan

tuloksessa. Jos kuoriutumiskelpoisten talvimunien määrä on alle 15 kpl /100 silmua, tuhoriski on pieni. Jos määrä on 15–40 kpl /100 silmua, tuhot ovat mahdollisia. Jos munia löytyy yli 40 kpl /100 silmua, tuhoriski on suuri.

Mitä enemmän näytepisteitä on, sitä kattavampi ja luotettavampi ennuste kirvatilanteesta saadaan. Vuoden 2021 ennusteeseen tuomenoksia saatiin noin 60 paikasta. Ennusteen kattavuus on hieman parempi kuin edellisvuosina.

# Ennuste tuomikirvojen aiheuttamasta tuhoriskistä vuonna 2021



## Vaihtelua runsaasti, varautua kannattaa

Talvimunalaskentojen perusteella kotimainen tuomikirvakanta on vahvistunut ja tuhoriski ensi kesänä on edellisvuosia suurempi. Keskiarvojen perusteella suuren tuomikirvariskin raja ylittyi kahdella paikakkunnalla ja tuhot ovat mahdollisia noin neljäsosassa näytepaikoista.

Eniten kuoriutumiskelpoisia kirvan talvimunia keskimäärin löytyi Tammelan Venesillalta (72), Hauholta (47), Paraisilta (37), Viitasaarelta (28), Mikkelistä (27), Juvankoskelta (26), Maaningalta (24), Janakkalasta (23) ja Sipoosta (22). Vain Kiimingistä ja Tyrnävältä otetuista näytteistä kirvoja ei löytynyt lainkaan.

Vaihtelua talvimunamäärissä oli tällä kertaa erittäin paljon, jopa samalta paikalta otettujen näytteiden välillä. Jos ennuste olisi tehty kunkin näytepaikan maksimimäärien perusteella, suuren tuomikirvariskin raja olisi ylittynyt yhdellä paikalla ja kartta olisi selvästi punaisempi.

## Lohkokohtainen tarkkailu tarpeen

Tuomikirvakanta saa täydennystä vuosittain myös kaukokulkeumana eteläisten ja kaakkoisten ilmapölytausten mukana tulevista kirvoista. Kirvamigraatioiden runsautta, saapumisajankohtaa ja laskeutumipaikkaa on hankala ennakoita. Koska kirvamäärät voivat muutenkin kasvaa erittäin nopeasti, on kirvojen lohkoittainen tarkkailu alkuvuokaudesta tarpeen. Kirvatilanne kasvustoissa voi muuttua äkkiäkin, joten havaintoja on syytä tehdä useampaan otteeseen. Torjuntaan ryhdytään tarkkailun perusteella vasta torjuntakynnyksen ylityttyä eli vasta tarpeen mukaan.

Ennustekartta ja ajankohdastietoa tuomikirvatilanteesta kasvukaudella löytyy myös Luken Maatalousinfo-palvelusta <https://maatalousinfo.luke.fi/>. Ota käyttöön myös ilmainen LukeKasKas-sovellus, niin saat kasvinterveyden ajankohtaistiedotteet kätevästi kännykään.



*Tuomikirvoja ohran tyvellä. Kuva: Erja Huusela*

# Ennakoiva kasvinsuojelu: Hedelmäpuunsyöpää tarkkaillaan ja poistetaan jatkuvasti

Tuuli Haikonen & Päivi Parikka

***Merellisen viileän ilmaston merkittävä omenantuotannon haitta on puita tappava ja heikentävä hedelmäpuunsyöpä eli lehtipuunkoro. Tauti on mainittu kotimaisessa kirjallisuudessa jo sata vuotta sitten, mutta silloin sillä on ollut merkitystä korkeintaan rannikkoalueilla. Taudin määrä on nyt lisääntynyt ilmaston ja viljelytavan muutosten myötä.***

***Rannikkoseuduilla ja saaristossa taudille herkäät lajikkeet ovat jo poistumassa ammattiviljelystä. Ennakoiva torjunta, kuten oireiden tarkkaileminen ja sairaiden puiden tai puunosien poistaminen ajoissa, ovat ainoat varmat keinot estää epidemia. Taudille herkkien lajikkeiden viljely vaatii huomattavasti tarkkailua ja taudin levintälähteiden poistotyötä. Joskus rajutkin poistopäätökset kasvinsuojelun käytäntönä vaativat ammattiosaamista omenatarhan hoitajilta.***

## Koro-oireet omenapuissa

Vanhoiden omenapuiden rungoissa voi tavata isoja avo- tai maalitaulukoroja, joissa on sisäkkäisiä kehäkuvioita. Korojen reunoilla ja tarhaan jätetyissä leikkuujätteissä muodostuu taudinaiheuttajasienen itiöitä, joiden avulla tauti leviää naapuripuihin. Pahimmillaan oireet ovat levinneet tarhan kaikkiin puihin.

Tätä hedelmäpuunsyöpää eli lehtipuunkoroa aiheuttaa kotelosieneen kuuluva mikrosieni, jonka suvullisen (kotelopulloja muodostavan) vaiheen tieteellinen nimi on

*Neonectria ditissima*, vanhalta nimeeltään *Nectria galligena*. Taudin aiheuttajasieni on nekrotrofi, eli se tappaa elävää solukkoa. Kuolio-oireita esiintyy lähinnä puun kuoren alla olevassa nila- ja jälsikerroksessa sekä johtosolukoissa. Rihmasto käyttää ravinnokseen kuollutta solukkoa. Kuoliolaikun reunoilla isäntäpuun terveen sileä paksuuskasvu umpeuttaa (kyljestää) kuoliokohtaa. Vuorottelu puun terveen kyljesty-miskasvun ja taudin kuolio-oireen välillä johtaa monivuotisten maalitaulumaisten korojen muodostumiseen.

Koron reunoilla tartunta etenee paikallisesti: kuori rakoilee ja normaalisti terveen vihreä nila on sen alla muuttunut ruskeaksi. Yleensä tällainen rosainen kuollut alue löytyy ainakin koron alareunasta. Kuolleen kuoren raoista voi löytää rykelmittäin oranssinpunaisia suvullisia itiörakenteita, kotelopulloja, tai sateiseen lämpimään aikaan myös vaaleita, suvuttoman *Cylindrocarpon*-vaiheen kuromapatjoja.

Ilman tai veden mukana tapahtuvasta itiöiden levinnästä kertovat oksien oireet. Koroisten puiden oksissa on rosaisia kuoren vauriokohtia, joita joskus ympäröivät terveen puun kyljestymispak-sunnokset. Jyrkissä oksanhangoissa esiintyy avoimia korohaavoja. Nuorissa versoissa tartunnat voivat näivettää verson ilman selkeää koronmuodostusta. Uusia runkokoroja muodostuu, kun oksakuolio leviää runkoon asti.

## **Monet lehtipuut ovat taudin isäntiä**

Lehtipuunkoro-nimitystä käytetään taudin esiintyessä yleisesti lehtipuilla. Tarhaomenapuun alttiuden vuoksi taudilla on suuri taloudellinen merkitys, minkä vuoksi omenalla ja päärynällä esiintyessään on hedelmäpuunsyöpä (sv: fruktträdskräfta) melko vakiintunut taudin nimitykseksi. Muita nimityksiä ovat olleet omenapuunsyöpä sekä versosyöpä.

Lehtipuunkoroa on havaittu lähes kaikilla lehtipuulajeilla, joten korotaudin tunnistaminen on tärkeää myös taimitarhoilla. Kenttähavaintojen perusteella mm. lehmukset, vaahterat ja hevoskastanjat voivat kärsiä ankarista oireista ja myös levittää tautia eteenpäin.

## **HEDELMÄPUUNSYÖVÄN RISKIANALYYSI**

### **Suomen olosuhteissa riskiä lisäävät:**

- Ilmastomuutos, pitkään jatkuvat sateiset syksyt, lauhat talvet
- Taimet ja lisäysmateriaalit ja molempien ulkomainen alkuperä
  - Taudinarat viljelylajikkeet, esimerkiksi Lobo
- Vähäiset kokemukset taudin tunnistamisesta ja hoidosta uusilla alueilla
- Vaikeus mitata ennakoivan kasvinsuojelun hyötyjä: tarkkailu ja poistopäätökset ovat kalliita
  - Kapeneva kasvinsuojeluaineiden valikoima
- Ilmasto (lyhyt kasvukausi, halla- ja pakkasvauriot)



## Ilmastonmuutoksesta etua muillekin korotaudinaiheuttajille

Kotelopullovaiheen eli *Neonectria ditissima* -mikrosienen suomenkielinen lajinimi on pikkunäppy. Muita *Neonectria*-suvun Suomessa havaittuja taudinaiheuttajia ovat *N. fuckeliana*, joka aiheuttaa kuusen mustakoroa (Uimari ym., Kasvinsuojelulehti 4/2016) ja pihtinäppy *N. neomacrospora*, pihtojen korotaudin aiheuttaja. Pihtojen korotaudin löytymisestä Suomessa on raportoitu Kasvinsuojelulehdessä (Uimari ym., 4/2018). Lisäksi Suomessa on laji.fi-tietokantaan merkitty havaintoja mahdollisesta verinäppystä (*N. coccinea*), jolla on pyökille erikoistunut muoto. Näille yhteistä on nekrotrofinen elintapa.

*Nectriaceae*-heimosta muis-tetaan myös yleinen punanäppy (*Nectria cinnabarina*), joka on lehtipuiden punapahkataudin aiheuttaja. Monet muutkin heimon lajeista ovat tällaisia heikkoja patogeenejä tai saprofyyttejä ja esiintyvät viileillä ilmastoalueilla. Heimossa esiintyy myös kosmopoliitteja lajeja, joista osa aiheuttaa juuristotauteja. Myös hedelmäpuunsyövän aiheuttajaa *N. ditissimaa* on havaittu perusrungon maanalaisista osista. Kosteissa maanalaisissa olosuhteissa tautioire voi koron sijaan olla laaja tasainen kuolio-laikku.

Ilmastonmuutoksen myötä pidentynyt syksy ja talven lauhat sateiset jaksot todennäköisesti suo-



*Vanhan omenapuun tyvellä maalitaulumaisen avokoron alkua. Kuva: Tuuli Haikonen*

sivat näitä puuvartisten kasvien taudinaiheuttajia. Lepotilaisen kasvin puolustus on heikko, mutta sienirihmasto jatkaa lauhalla säällä kasvuaan.

### Ennakointia ja leikkaushoitoa omenatarhan alkuvuosina

Kun oireita tarkkaillaan ja ne poistetaan ennen kuin oirekohdissa muodostuu itiöitä, pystytään taudin leviämistä rajoittamaan ja parhaassa tapauksessa estämään jatkotartunnat.

Oksien oirekohdat poistetaan terveeseen leikkauspintaan asti. Suositeltavaa on poistaa oksakuolion ja mahdollisen pistemäisen johtosolukko-oireen alapuolelta



*Tyvikoro, jossa irtoilevan kaarnan yläpuolella näkyy tummana kuolion tuore leviämisyöhyke.*

*Kuva: Tuuli Haikonen*

noin 15 cm tervettä puuta. Leikkausjäte ja poistetut puut on vietävä pois tarhasta, sillä maahan jätettynä varsinkin isommat korot voivat tuottaa itiöitä jopa kahden vuoden ajan.

Tarkkailun resursseja kannattaa kohdistaa nuoriin puihin. Tartunnat kehittyvät nuorissa puisa nopeasti vakaviksi oireiksi. Ulkomaisia satotaimia käyttävillä tiheäviljelmillä suositus on, että jos 1-3 vuoden sisällä istutuksessa havaitaan syöpäoire, koko puu poistetaan.

Tarhassa, jossa syöpää esiintyy, on paikkaistutuksia vaikea saada onnistumaan. Paikkaistutuksiin

on valittava kestäviä lajikkeita ja taudin leviämislähteet on poistettava naapuripuista. Nuoria puuta on tarkkailtava ahkerasti, jotta oirekohdat ehditään poistaa ennen kuolion leviämistä runkoon. Kemiallista kasvinuojelua kannattaa käyttää estämään uusia tartuntoja. Rungas typpilannoitus altistaa taudille, joten lannoituksessa on oltava maltillinen.

### **Oireista jatkotartuntoihin**

Oiretarkkailulle merkittävä haaste on, että tartunnan kehittymisestä näkyväksi oireeksi kuluu kuukausia, jopa vuosia. Oireiden puhkeamisen nopeus riippuu sääoloista ja lajikkeesta. Uusissa oirekohdissa itiömuodostus ei ala heti, vaan itiötuotannon alkuun vaikuttavat ainakin oirekohdan kosteusolot ja sää. Vanhat oirekohdat säilyvät vuosia ja



*Edellisen syksyn tartunta on puhjennut oireeksi lyhytversossa.*

*Kuva: Tuuli Haikonen*



*Pistemäinen kuolio-oire lyhytverson leikkuupinnoilla.  
Kuva: Tuuli Haikonen*

jatkavat itiöiden tuottoa, jos sairaita puita tai niiden osia ei poisteta. Kuolio leviää kilpaa kasvin kasvun kanssa ja näivettää puuta.

Yleensä suuret kuoliot tai korot tuottavat runsaammin itiöitä kuin pienet oireet. Varsinkin pitkään kosteina pysyvät kohdat, kuten tyvien ja oksanhankojen oireet, tuottavat itiöitä pitkään ja runsaasti.

Jos tautia ei saada poistettua, jatkotartuntoja seuraa vuosittain. Jatkotartunnat tapahtuvat haavapintojen kautta. Haavat voivat olla ympäristön aiheuttamia: leikkaushaavat, purenta- tai imentäkohdat sekä pakkasvauriot. Myös kasvin omat kasvun ja kehityksen prosessit vaativat paranemisaikaa: silmusuomujen, terälehtien, raakileiden, hedelmien tai lehtien variseminen, kasvuhalkeamat ja jyrkän oksakulman rasisuurtumat. Runsaaslukuisuudessaan lehtiarvet ovat merkittävin tartuntareitti.

## **Paikkatieto ja tarkkailun kohdennus**

Kartan tai koordinaattitiedon hyödyntäminen hedelmätarhan terveyden tarkkailussa olisi hyödyllistä. Yksittäisessä oireilevassa puussa voi olla useita tartuntoja, jotka puhkeavat oireiksi eri aikoihin. Oireet esiintyvät ryppäinä, sillä lyhyen matkan levintä naapuripuihin on yleistä. Kun tartuntapesäkkeen kerran on löytänyt, sen tarkkailu on resurssitehokasta.

Tarkkailua ja sairaiden oksien poistoa voidaan tehdä kaikkina vuodenaikoina. Talvileikkauksen yhteydessä koro-oireet on helpointa löytää ja ne onkin parasta poistaa tarhasta ensimmäisinä.

Syksyllä omenan kanta- tai lehtiarpiin tulleet tartunnat ovat talvella vielä pieniä tai piileviä. Keväällä ja kesällä on tarpeen tehdä toinen ja mahdollisesti kolmaskin kierros,

jotta uudet oirekohdat eivät ehdi tuottaa itiöitä ja aiheuttaa jatkotartuntoja syksyllä.

Kestävillä lajikkeilla oirekohdat voivat kasvukaudella umpeutua, sillä kyljestyminen sulkee sairasta solukkoa ilmattomaan tilaan ja kasvin puolustus estää sienirihmaston leviämistä. Sairaana osan poistaminen koron reunoilta stimuloi kalluksen muodostumista ja voi auttaa puuta toipumaan. Vuolemista voisi parhaiten tehdä kuivan sääjakson aikana alkukesällä, jolloin kasvu on voimakasta. Puu ei ehkä täysin toivu, mutta koron itiönmuodostus loppuu joksikin aikaa.

*Tuuli Haikonen on tutkija Puutarhateknologiat-ryhmässä ( [tuuli.haikonen@luke.fi](mailto:tuuli.haikonen@luke.fi)) ja Päivi Parikka ulkopuolinen tutkija Kasvinterveys-ryhmässä Luonnonvarakeskuksessa.*

*Hedelmäpuunsyövän hallintatietoa on koottu eri hankkeiden yhteydessä: TUTKA (MMM-Makera), Omenasyöpä (Suomen Kulttuurirahasto), CankerFight (Research Council of Norway), omenan ja mansikan esijalostushankkeet (NordGen). Pohjoismainen metsä- ja puutarha-alan tutkija- ja toimijaverkosto ”Puiden Neonectria-korotaudit” toimi SNS/NKJ:n rahoituksella vuosina 2017-2019.*

## **Suosittelua kirjallisuutta:**

Weber, R.W.S., Børve, J. 2021. Infection biology as the basis of integrated control of apple canker (*Neonectria ditissima*) in Northern Europe. *CABI Agric Biosci* 2:5. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00024-z>

Chaverri, P., Salgado, C., Hirooka, Y., Rossman, A.Y., Samuels G.J. 2011. Delimitation of *Neonectria* and *Cylindrocarpon* (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with *Cylindrocarpon*-like anamorphs. *Studies in Mycology*, 68: 57-78. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.03>.

Karlstedt, Irene. 2019. Suomessa viljeltävien omenalajikkeiden hedelmäpuunsyövän alttius vaihtelee. *Kasvinsuojelulehti* 52(1):9-13.

Uimari, Anne; Poteri, Marja; Vuorinen, Martti. 2016. Mustakoro heikentää kuusien kasvua ja puuaineksen laatua. *Kasvinsuojelulehti* 49(4):107-109.

# Multiplex-RT-PCR apuna kasvivirusten laaja-alaisessa tunnistamisessa

Jaana Jukkala

*Pro gradu -tutkielmassani ”Multiplex-RT-PCR-sovellusten kehittäminen kasvivirusdiagnostiikkaa varten ja virusten tunnistaminen siRNA-analyysillä” optimoin Ruokaviraston kasvintuhojalaboratoriolle multiplex-RT-PCR-menetelmän ennakkoon valittujen RNA-virusten laaja-alaista tunnistamista varten. Rinnakkaisena menetelmänä käytin siRNA-analyysia varmistakseni multiplex-RT-PCR:stä saatujen tulosten oikeellisuuden. Tutkimus on havainnollistava osoitus siitä, kuinka kasvivirusten tunnistusmenetelmät kehittyvät jatkuvasti.*

## Multiplex-RT-PCR ja siRNA-analyysi

Multiplex-PCR-menetelmässä käytetään samassa reaktiossa useita, eri DNA-jaksoille spesifisiä alukkeita, mikä mahdollistaa esimerkiksi useiden eri virusten tai virusryhmien tunnistamisen samalla PCR-reaktiolla. Multiplex-PCR säästää tavalliseen PCR:ään verrattuna aikaa, reagensseja ja kustannuksia, koska tällöin jokaiselle alukeparille ei tarvitse tehdä omaa reaktioseosta. Haasteena multiplex-PCR:ssä on optimoida reaktio-olosuhteet kaikille alukepareille sopiviksi.

Kasvivirusdiagnostiikassa on yleistynyt sekvensointitapa, jossa sekvensoidaan kasviin kertyneitä pieniä RNA-molekyylejä (small interfering RNA, siRNA). siRNA-syväsekvensoinnin käyttö kasvivirusten tunnistusmenetelmänä perustuu kasvien kykyyn suojautua virustar-

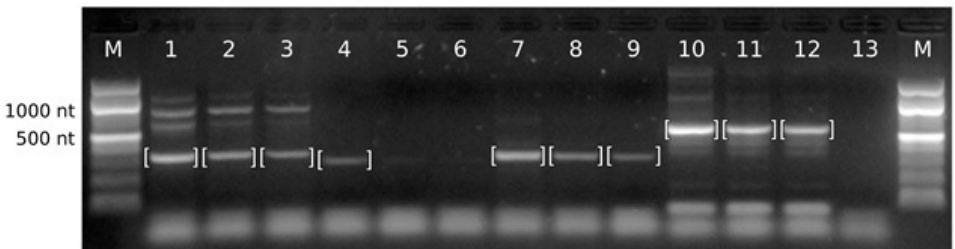
tunnoilta RNA-hiljennyksen avulla. RNA-hiljennyksessä kasvin puolustusmekanismi tunnistaa vierasperäisen kaksijuosteisen RNA:n ja hajottaa sen 21–24 nukleotidin mittaisiksi siRNA-molekyyleiksi. siRNA-syväsekvensoinnissa 21–24 nukleotidin pituiset RNA-molekyylit eristetään kasvista ja sekvensoidaan. siRNA-molekyyliden sekvenssien välillä esiintyy päällekkäisyyttä, mistä johtuen sekvensseistä voidaan koota eripituisia yhtenäisiä sekvenssejä. Vertailemalla koottuja sekvenssejä tietokannoista löytyvien virusten perimään voidaan selvittää näytteessä esiintyvät virukset ja viroidit. siRNA-menetelmän merkittävimmät edut ovat, ettei se edellytä ennako-oletusta näytteessä mahdollisesti esiintyvistä viruksista ja viroideista ja että menetelmällä on mahdollista havaita kaikki virukset ja viroidit yhdellä kertaa.

## Multiplex-RT-PCR-menetelmän optimointi

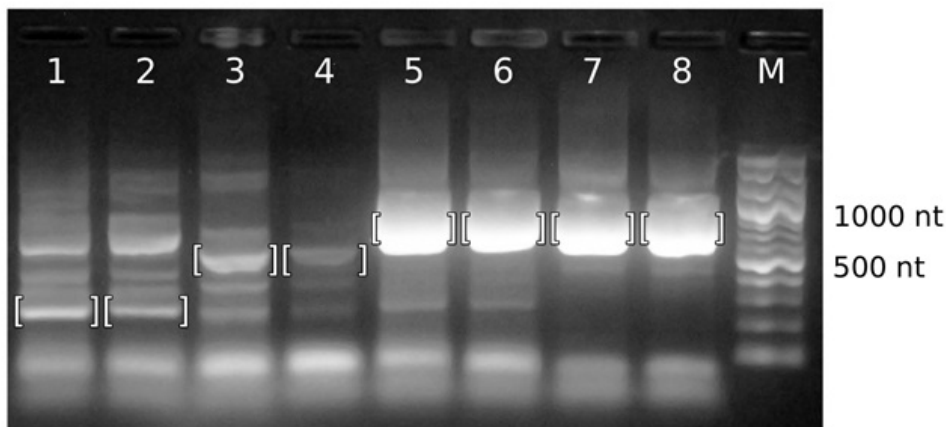
Tutkimuksessa haluttiin luoda kaksi tai useampi multiplex-RT-PCR-testi, yhdeksälle, kirjallisuudesta etsitylle, degeneroidulle alukeparille poty-, potex-, tobra- ja tospovirussukujen, tobamoviruksen alaryhmä yhden, nepoviruksen a- ja b-alaryhmien, *Bromoviridae*-virusheimon ja *Tom-busviridae*-heimoon kuuluvien carmo-, diantho- ja tombusvirussukujen samanaikaiseen tunnistamiseen. Tavoitteena oli näin luoda menetelmä, jolla voidaan havaita yhtäaikaaisesti kaikkia niitä RNA-virusia, joita kokemuksen ja kirjallisuuden perusteella on todennäköisintä löytää Ruokavirastoon tarkastettavaksi tulevasta kasviaineistosta. Kyseisiin virusheimoihin ja -sukuihin kuulu-

vat monet karanteenituhoojiksi luokitellut virukset, kuten *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) ja tomaatin ruskokurttuvirus (ToBRFV). Lisäksi näihin virusryhmiin kuuluu useita laatutuhoojia.

Multiplex-RT-PCR-menetelmän optimointi tehtiin testaamalla eri magnesiumsulfaatin pitoisuuksia ja monistamalla positiiviset viruskontrollit eri alukkeiden sitoutumisvaiheen lämpötiloissa ja arvioimalla näiden vaikutusta PCR-tuotteiden monistumiseen. Multiplex-PCR-testien herkkyys arvioitiin suorittamalla testit infektoituneen kasvin kokonais-RNA:sta tehdyillä laimennoksilla, jotka sisälsivät positiivisen kontrolliviruksen. Optimoitua multiplex-PCR-menetelmää testattiin luonnonkasveista kerättyyn,



Gelelektroforeesikuva multiplex A -testin herkkyystuloksista. PCR-reaktiot sisältävät infektoituneen kasvin kokonais-RNA:sta tehtyjä laimennoksia, jotka sisälsivät positiivisen kontrolliviruksen. Näytteiden järjestys: 1: viiniköynnöksen viuhkalehtivirus (GFLV) (1:10), 2: GFLV (1:50), 3: GFLV (1:100), 4: omenan mosaiikkivirus ApMV (1:10), 5: ApMV (1:50), 6: ApMV (1:100), 7: luumun rokkovirus PPV (1:10), 8: PPV (1:50), 9: PPV (1:100) 10: pepinon mosaiikkivirus PepMV (1:10), 11: PepMV (1:50), 12: PepMV (1:100) 13: negatiivinen vesikontrolli. Oikean kokoiset PCR-tuotteet ovat merkitty erottamaan ne epäspesifisistä tuotteista.



*Gelelektroforeesikuva multiplex B -testin herkkyystuloksista. PCR-reaktiot sisältävät infektoituneen kasvin kokonais-RNA:sta tehtyjä laimennoksia, jotka sisälsivät positiivisen kontrolliviruksen. Näytteiden järjestys: 1: tomaatin mustarengaslaikkuivirus TBRV (10 ng), 2: TBRV (1 ng), 3: tomaatin kitukasvuvirus TBSV (10 ng), 4: TBSV (1 ng), 5: tupakan rattlevirus TRV (10 ng), 6: TRV (1 ng), 7: tupakan mosaiikkivirus TMV (10 ng) ja 8: TMV (1 ng). Oikean kokoiset PCR-tuotteet ovat merkitty erottamaan ne epäspesifisistä tuotteista.*

mahdollisesti viroottiseen kasviaineistoon, sekä taimituotannon emokasvimateriaaliin. Menetelmän valikoivuutta ja tarkkuutta tarkasteltiin sekvensoimalla luonnollisesti infektoituneiden kasvinäytteiden antamat tuotteet, sekä tekemällä rinnakkaisena testinä siRNA-analyysi ja analysoimalla menetelmällä saadut sekvenssit bioinformaattisesti.

### **Multiplex-RT-PCR nykyään osana Ruokaviraston kasvintuhoojalaboratorion rutiinidiagnostiikkaa**

Tutkimuksessa pystyttiin luomaan kaksi multiplex-RT-PCR-testiä,

multiplex A ja B, jotka tunnistavat yhteensä kahdeksaan eri virusryhmään kuuluvia viruksia. Tutkimustulokset osoittivat multiplex-RT-PCR-testien kykenevän tunnistamaan kaikki positiiviset viruskontrollit kun infektoituneen kasvin kokonais-RNA:n konsentraatio oli alle 5 ng/μl, mitä Ruokaviraston kasvintuhoojalaboratoriossa pidetään riittävänä multiplex-PCR-testin herkkyuden kannalta. Kehitettyjä multiplex-PCR-testejä voidaan pitää poikkeuksellina, sillä monessakaan laboratoriossa ei ole käytettävissä yhtä laaja-alaista testiä RNA-virusten tunnistamiseen kuin mitä tutkimuksessa optimoiduilla

testeillä voidaan tunnistaa. Nykyään multiplex-RT-PCR-testiä käytetään kasvintuhoojalaboratoriossa osana rutiinidiagnostiikkaa kasvivirusien tunnistamiseen. Sen avulla on löytynyt kasveista sellaisia viruksia, joita ei muilla laboratoriossa käytössä olevilla menetelmillä olisi luultavasti pystytty havaitsemaan. Tällaisiin löydöksiin kuuluvat esimerkiksi paprikan lievä läikkävirus (PMMoV) ja hortensian rengaslaikkuvirus (HdRSV).

Rinnakkaisena testinä käytetty siRNA-syväsekvensointi tunnisti samat kasviviruset näytteistä kuin mitä multiplex-RT-PCR-testit, mikä vahvistaa luottamusta optimoituja multiplex-RT-PCR-testejä kohtaan. Multiplex-PCR säästää aikaa sekä materiaalikustannuksia verrattuna tavalliseen PCR:ään, mistä johtuen multiplex-PCR:n käyttö tarjoaa selviä etuja Ruokaviraston kasvintuhoojalaboratoriolle, jossa käsitellään suuria näytemääriä nopeassa aikataulussa. Pro-gradu -työn aineiston avulla multiplex-PCR-testit akkreditoitiin, eli validoitiin ja tarkastettiin ulkopuolisella asiantuntijalla, mikä varmistaa menetelmän soveltuvan rutiinidiagnostiikan käyttöön. Työ toi tieteellisesti uutta sekvenssitietoa mahdollisesti aiemmin tuntemattomasta potyviruslajista ja toi ensimmäisenä tiedon suikeroalpien (*Lysimachia nummularia* L.) kuuluvan osaksi tupakan rattleviruksen (TRV) isäntäkirjoa.

*Pro gradu -tutkielma on palkittu vuonna 2020 Kasvinsuojeluseuran stipendillä. Kirjoittaja on maatalous- ja metsätieteiden maisteri ja agronomi. Kirjoittaja työskentelee Verdera Oy:ssä.*

### **Lisätietoa aiheesta:**

Pro gradu -tutkielma on luettavissa osoitteessa: <http://urn.fi/URN:NBN:fi:hulib-201903051419>

Santala J., Jukkala J., Tuomola J., Valkonen J.P.T. First Report of Tobacco rattle virus Infecting *Lysimachia nummularia* in Finland. *Plant disease* 104 (2): 604–604

Ruokavirasto 2019. Paprikan lievä läikkävirus todettu Suomessa ensimmäisen kerran. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/kasvintuotanto/kasvinterveys/ajankohtaista-kasvinterveydesta/paprikan-lieva-laikkavirustodettu-suomessa-ensimmaisen-kerran/>



# Uusilla peittausvalmisteilla hyvä suoja siemenlevinteisiä kasvitauteja vastaan

Kalle Ohralahti

**Luonnonvarakeskus tutkii markkinoilla olevien kasvinsuojeluvälineiden tehoa Suomessa yleisimpiin kasvitauteihin julkisissa neuvonnallisissa kokeissa. Viime kesänä toteutettiin myös koe viljojen tyvitautien ja muiden siemenlevintäisten lehtilaik-kutautien torjumiseksi peittauksen avulla. Ohran peittausko-keessa saatiin hyviä tehoja ja sadonlisää.**

Jokioisilla toteutettiin kesällä 2020 ohran peittauskoe, jossa torjuttiin ruskeatyveä (*Fusarium* spp.) ja verkkolaikkua (*Pyrenophora teres*). Peittauskoe kylvettiin ruutukylvökoneella 27.5.2020 ja maan lämpötila oli silloin 13,5 °C. Kokeen ohralajike oli Barke ja siemenessä oli malja-testauksen perusteella paljon ruskeatyveä ja melko paljon ohran tyvi- ja lehtilaikkua sekä verkkolaikkua. Siemenen itävyys oli 73 %.



## Kokeen peittauskäsittelyt, peittausmäärät ja valmisteiden tehoaineet:

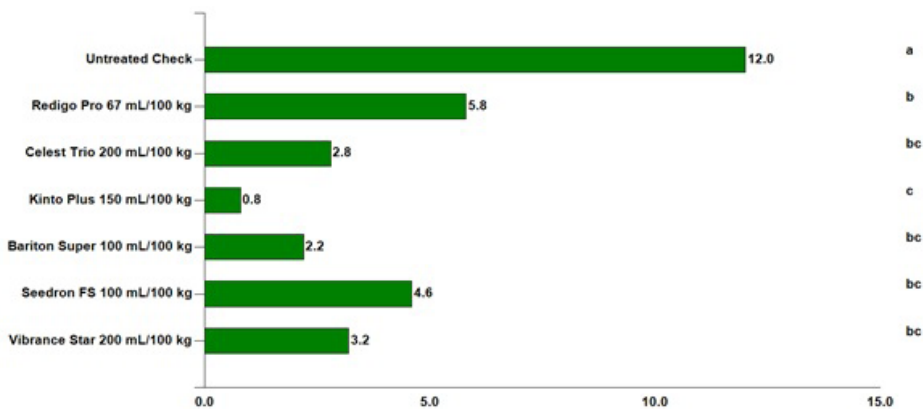
1. Käsittelemätön kontrolli
2. Redigo Pro 67 ml/100 kg (Protiokonatsoli 150 g/l ja Tebukonatsoli 20 g/l)
3. Celest Trio 200 ml/100 kg (Fludioksoniili 25 g/l, Difenokonatsoli 25 g/l ja Tebukonatsoli 10 g/l)
4. Kinto Plus 150 ml/100 kg (Fluksapyroksadi 33,3 g/l, Tritikonatsoli 33,3 g/l ja Fludioksoniili 33,3 g/l)
5. Bariton Super 100 ml/100 kg (Fludioksoniili 37,5 g/l, Protiokonatsoli 50 g/l ja Tebukonatsoli 10 g/l)
6. Seedron 100 ml/100 kg (Tebukonatsoli 10 g/l ja Fludioksoniili 50 g/l)
7. Vibrance Star 200 ml/100 kg (Sedaksaani 25 g/l, Fludioksoniili 25 g/l ja Tritikonatsoli 20 g/l)

Orastuminen oli tasaista, mutta koe kärsi hieman kuivuudesta kylvön jälkeen ja kasvit kehittyivät hitaasti. Oraat laskettiin 2-3 -lehtiasteella. Käsittelemättömässä kontrollissa oli 366 orasta /m<sup>2</sup> ja muilla käsittelyillä määrä oli samaa tasoa, mutta Kinto Plus ja Vibrance Star -käsittelyissä oraiden määrä oli 393 ja 401 kpl /m<sup>2</sup>. Ero ei ollut kuitenkaan tilastollisesti merkitsevää.

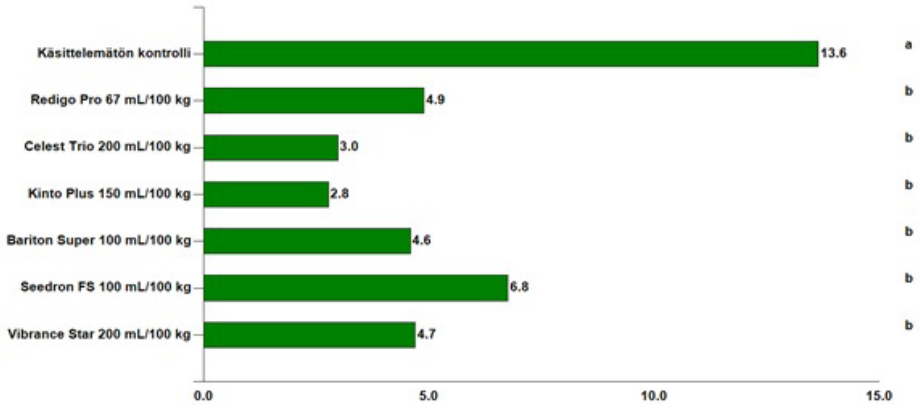
Oraiden laskun yhteydessä laskettiin myös siemenlevintäisen verkkolaikun määrä. Käsittelemättömässä kontrollissa verkkolaikkua oli oraissa noin 12 kpl/m<sup>2</sup> ja kaikki käsittelyt vähensivät merkittävästi verkkolaikun määrää. Kinto Plus käsittelyssä verkkolaikkuisia kasveja oli alle 1 /m<sup>2</sup>, muissa käsittelyissä 2-6 kpl /m<sup>2</sup>.

Tyvitaudit havainnoitiin kasveista korrenkasvun alussa, kun oireet olivat selvästi nähtävissä. Kuiva lämmin jakso oli tyvitautien kehitykselle otollinen. Kasvit kaivettiin juurineen maasta, pestiin ja jaoteltiin terveisiin kasveihin ja tyvitautien oireiden perusteella neljään eri tautiluokkaan.

Käsittelemättömässä kontrollissa tyvitautien oireet olivat vakavampia ja tyvet saattoivat olla kauttaaltaan tummia. ja kasvien kasvu jo kärsimässä. Eri käsittelyissä kasvit olivat pääosin terveitä tai oireet olivat hyvin lieviä, joten niillä ei ollut vaikutusta kasvien kasvuun. Tyviä maljattiin ja tyvitautien aiheuttaja oli yleisimmin ruskeatyvi, mutta jonkun verran oli myös tyvi- ja lehtilaikkua. Kaikki käsittelyt erosivat merkittävästi käsittelemättömästä kontrollista, mutta käsittelyjen välillä ei ollut isoja eroja.



*Verkkolaikun määrä oraissa /m<sup>2</sup>. Kirjaimet lopussa kertovat tilastollisen merkitsevyyden: eri kirjaimet poikkeavat tilastollisesti toisistaan.*



*Ruskeatyven tauti-indeksi, joka kertoo tyvitautioireiden vakavuudesta kasveissa.*

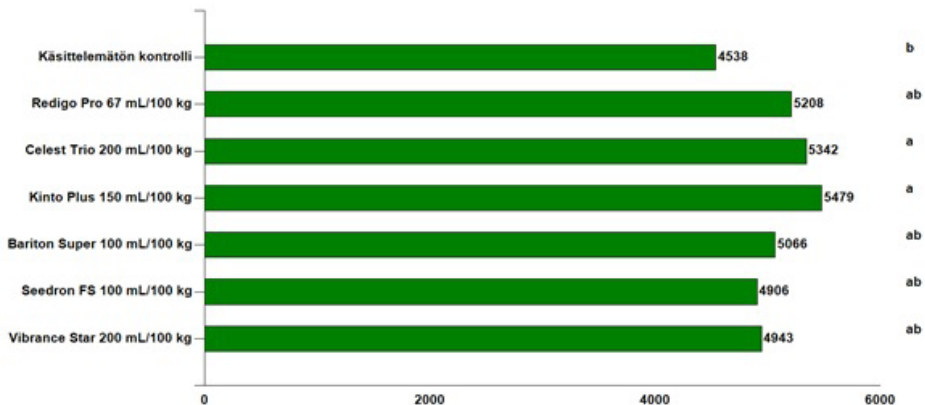
Muita fungisidikäsitteilyjä kokeessa ei tehty. Koe puitiin 12.9. ja satotaso oli kasvukauden olosuhteista huolimatta melko hyvä. Kaikki käsittelyt lisäsivät satoa 8– 21 %. Celest Trion ja Kinto Plussan 800– 940 kg/ha sadonlisät erosivat merkitsevästi käsittelemättömästä, mutta eri käsittelyjen välillä ei tässä kokeessa ollut merkitseviä eroja. Käsitteilyt nostivat hieman tuhannen jyvän painoa,

mutta erot eivät olleet merkitseviä. Selvät sadonlisät kertovat silti, että terve kylvösiemen ja siemenen peittäminen ovat tärkeä osa kasvinsuojelussa yhdistettynä muihin kasvinsuojelutoimiin. Viime kesänä esiintyi myös muuten paljon siemenlevinteisiä tauteja, kuten kauran avonokea, johon peittäyksellä oli myös hyvä teho.



*Tyvitautien oireet olivat voimakkaita käsittelemättömissä ruuduissa.*

*Kuva: Kalle Ohralahti*



*Ohran sato kg/ha. Peittauksella saatu sadonlisäys eri käsittelyillä oli 8 – 21 %.*

Neuvonnallista peittauskoetta ja myös viljojen ruiskutuskokeita jatketaan tulevana kesänä Luken ja Nylands Svenska Lantbrukssällskapin koepaikoilla. Kahden vuoden jälkeen tiedetään taas enemmän peittauksen tehosta tauteja vastaan ja vaikutuksesta satoon.

*Kalle Ohralahti, erityisasiantuntija  
Luke Kasvinterveys*