

## 'Geeniä mä metsästä...' – miten löytää ja hyödyntää viljojen taudinkestävyysgeenejä?

Outi Manninen, Maria Erkkilä, Teija Tenhola-Roininen, Jaakko Tanskanen, Marjo Serenius\*, Alan Schulman ja Marja Jalli

MTT Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, 31600 Jokioinen, [outi.m.manninen@mtt.fi](mailto:outi.m.manninen@mtt.fi)

\*nykyinen osoite: K-maatalouden koetila, Kaupan maataloussäätö, Hahkialantie 57, 14700 Hauho

### Tiivistelmä

Taudinkestävien lajikkeiden käyttö on kansantaloudellisesti edullisin tapa torjua kasvitautien aiheuttamia sato- ja laatutappioita. Lisäksi ympäristönäkökohdat puoltavat siirtymistä kasvitautien torjunnassa torjunta-aineiden käytöstä enenevästi taudinkestävien lajikkeiden käyttöön. Viljalajikkeiden taudinkestävyysjalostuksessa etsitään jatkuvasti uusia resistenssilähteitä, joiden toivotaan poikkeavan entisistä esimerkiksi siten, että kestävyys perustuu eri geeniin tai saman geenin eri muotoon eli alleeliin. Eri geenejä voidaan pyramidisoida viljan perimään siten, että taudinaiheuttajan mahdollisuus murtaa resistenssi pienenee. Eri alleelit voivat olla spesifisiä eri tautikannoille tai niiden sivuvaikutukset viljan muihin ominaisuuksiin voivat olla erilaisia.

Uusia resistenssilähteitä etsitään kasvigeenivarakokoelmista. Haasteena on löytää sopiva resistenssilähde kymmenien tuhansien geenipankkeihin säilöttyjen kantojen joukosta. Avuksi on kehitetty niin tietoteknisiä GIS-paikannukseen perustuvia menetelmiä kuin bioteknisiä geenimerkkeihin perustuvia tekniikoita.

Kasvigenomiikka on tutkimusala, jossa selvitetään kasvin koko perimän vaikutusta eri ominaisuuksiin. Genomiikan työkaluilla voidaan avata koko perimä ja tunnistaa tiettyyn ominaisuuteen, esimerkiksi taudinkestävyyteen, vaikuttavia geenejä ja alleleita. Olemme MTT:llä paikantaneet hienokartoittamalla ohran perimään verkkolaikkukestävyuden geenin sekä vehnän perimään keltaruostekestävyyden geenin. Paikannetut geenit pyritään tunnistamaan DNA-tasolla. Työssä käytetään vertailevaa genomiikkaa, DNA-sekvenssointia ja geenitoiminnan analyyseja.

Kun resistenssigeeni on tunnistettu DNA-tasolla, sen toimintaa voidaan oppia ymmärtämään paremmin. Lisäksi voidaan tehokkaasti etsiä uusia alleleita geenipankeissa säilöttävistä maataislajikkeista ja villeistä sukulaisista. Uusia alleleita voidaan tuoda nopeasti lajikejalostuksen käyttöön DNA-merkkien ja merkkiavusteisen valinnan avulla.

### Asiasanat

Ohra, taudinkestävyys, tautiresistenssi, geenivarat, geenimerkit, DNA-sekvenssointi, assosiaatiokartoitus, geenitoiminta

## **Viljojen luontainen taudinkestävyys: taloudellinen ja ympäristöystävällinen keino taudinhallintaan**

Viljanviljelyn kannattavuutta heikentävät kasvitaudit, jotka aiheuttavat satotappioita ja sadon laadun heikentymistä. Meillä viljojen tärkeimpiä tauteja ovat lehtilaikkutaudit. Niitä voidaan torjua peittauksella ja kasvukauden aikaisin lehdistöruiskutuksin sekä viljelyteknisillä toimilla, kuten muokkauksella ja viljelykierrolla. Torjunta-aineiden käyttö peltoviljelyssä on jatkuvasti lisääntynyt. Tähän ovat vaikuttaneet lähinnä viljelyn yksipuolistuminen sekä välillisesti myös uudet viljelytekniikat, suorakylvö ja kevytmuokkaus. Torjunta-aineiden käyttö aiheuttaa viljelijälle lisäkustannuksia sekä rasittaa ympäristöä. Tarve muiden kasvinsuojelumenetelmien kehittämiseen on lisääntynyt. Näitä ovat viljelytekniset toimet, kuten viljelykierto sekä erityisesti taudinkestävät lajikkeet. Taudinkestävien lajikkeiden käyttö on kansantaloudellisesti edullisin tapa torjua kasvitautien aiheuttamia sato- ja laatutappioita. Lisäksi ympäristönäkökohdat puoltavat siirtymistä lehtilaikkutautien torjunnassa torjunta-aineiden käytöstä enenevästi taudinkestävien lajikkeiden käyttöön. Suomen Rehun useampivuotisten viljatutkimusten mukaan ohra-alasta käsitellään vuosittain kasvitautien torjunta-aineilla noin 30 %. Ohralla kasvitautien torjuntatarve aiheutuu pääosin verkko- ja rengaslaikkutaudeista ja näistä erityisesti verkkolaikku esiintyy vuosittaisina epidemioina. Suomen vuosittaiset kasvitautitorjunta-aine- ja työkuormitukset pelkästään ohralla ovat noin 5 milj. €. Torjunta-aineiden käytöstä aiheutuneet kustannukset ja ympäristökuormitus voidaan välttää viljelemällä taudinkestäviä lajikkeita. Samalla saavutetaan samat hyödyt kuin torjunta-aineita käyttämällä: korkeampi satotaso, isompi jyväkoko sekä parempi ravinteiden talteenotto.

### **Miten löytää geenivaroista sopivaa kestävyyttä?**

Viljojen geenivaroja on säilöttyä eri geenipankkeihin satoja tuhansia erilaisia kantoja. Esimerkiksi ohrasta arvioidaan olevan noin 400 000 erilaista kantaa geenipankeissa sekä jalostajien ja tutkijoiden kokoelmissa. Miten on mahdollista löytää kokoelmista lajikejalostukseen sopivia kestävyyslähdeitä? Avuksi on kehitetty niin tietoteknisiä GIS-paikannukseen perustuvia menetelmiä kuin bioteknisiä geenimerkkeihin perustuvia tekniikoita. FIGS-menetelmä (Focused Identification of Germplasm Strategy) käyttää hyväkseen geenipankkiin säilötyn viljakannan alkuperätietoja, jotka se liittää ilmastollisiin ja maaperää kuvaaviin muuttujiin. Näin on mahdollista hakea kantoja, jotka ovat peräisin olosuhteista, joissa tiettyjen tautien tiedetään viihtyvän. Tämä parantaa mahdollisuuksia löytää sopivia kestävyyslähdeitä lajikejalostukseen.

Kestävyyslähdeet seulotaan tautitestauksen avulla esiin valikoidusta geenivaramateriaalista. Tämä edellyttää toimivaa tautitestausmenetelmää sekä tautikantakokoelmaa, joka vastaa lajikkeen kohdealueella esiintyviä tautikantoja. Tautikantojen virulenssia eli taudinaiheuttamiskykyä tulee seurata huolella, sillä se voi muuttua nopeastikin.

Kaikki kestävyyslähdeet eivät sovi yhtä hyvin lajikejalostukseen. Helppointa kestävyysrishteyttäminen lajikemateriaaliin on, jos ominaisuutta säätelee vain yksi suurivaikutteinen geeni. Suurivaikutteisesta geenistäkin on kuitenkin selvittävää, onko se vallitseva vai peittyvä, vaikuttaako se epäedullisesti muihin kasvin ominaisuuksiin ja toimiiko se kunnolla myös meille sopeutuneiden lajikkeiden perimässä. Myös geenin sijaintipaikka perimässä vaikuttaa siihen, miten helppoa geeniä on hyödyntää lajikejalostuksessa.

### **Kestävyysgeenien paikantaminen kromosomeihin**

Kestävyysgeenin paikannus tapahtuu geenikartoituksen avulla. Yleensä risteytetään altis ja kestävä vanhempi keskenään ja seurataan jälkeläistössä taudinkestävyyden periytymistä. Samalla jälkeläisissä seurataan DNA-merkkien periytymistä vanhemmilta. Jos tietty DNA-merkki periytyy useimmiten yhdessä taudinkestävyyden kanssa, sijaitsee kestävyysvaikuttava geeni todennäköisesti kromosomissa lähellä ko. DNA-merkkiä. Olemme MTT:llä kartoittaneet voimakkaasti ohran verkkolaikun kestävyysvaikuttavan alueen kromosomiin 6H. Sama alue löytyi myös käytettäessä uudempaa ns. assosiaatiokartoitusmenetelmää. Assosiaatiokartoituksessa käytetään risteytysjälkeläistön sijaan laajaa geenivaramateriaalia sekä hyvin tiheästi koko perimän peittäviä DNA-merkkejä, kuten SNP-merkkejä (Single Nucleotide Polymorphism). Assosiaatiokartoituksen

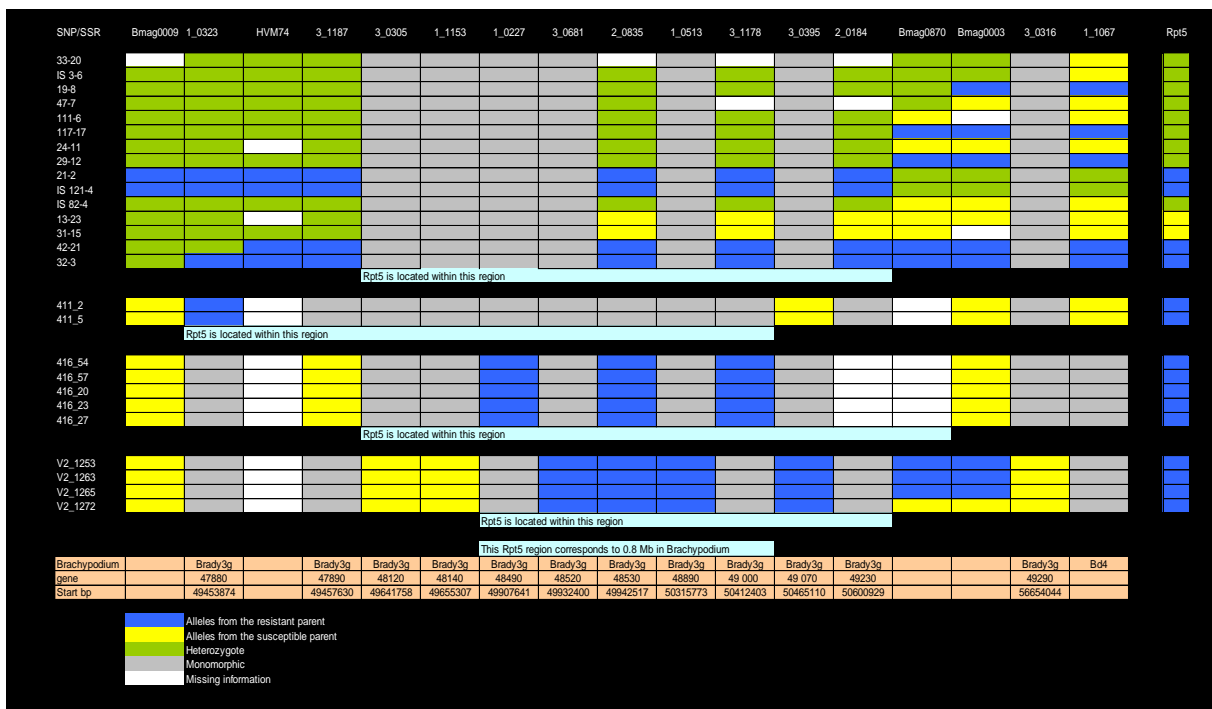
etuna on, että sen tulokset ovat laajemmin yleistettävissä kuin yksittäiseen kartoitusristeytykseen perustuvat tulokset.

## Geenin tunnistaminen

Paikannetun geenin tunnistaminen niin tarkasti, että sen koko DNA-sekvenssi tunnetaan, vaatii paljon työtä. Tavoitteemme MTT:n 'Terve ohra'- ja 'Hyötygeeni'-hankkeissa on verkkolaikkugeenin tarkka tunnistaminen. Olemme tehneet laajan, 5000 yksilön jälkeläistön ja etsineet jälkeläisistä ne yksilöt, joiden DNA-merkkitiedoista löytyy viitteitä rekombinaatiosta eli tekijäinvaihdunnasta tutkimamme resistenssigeenin läheltä. Näin pääsemme vähitellen rajaamaan aluetta, jossa vaikuttava geeni sijaitsee.

Toinen lähestymistapa on assosiaatiokartoitus: suuresta lajikemateriaalista olemme pystyneet osoittamaan ja rajaamaan tarkemmin saman 6H kromosomissa olevan alueen, jossa tiedämme verkkolaikkukestävyysgeenin sijaitsevan. Ohran perimää ei ole vielä kokonaan sekvensoitu, joten emme tiedä tarkalleen mitä genejä ja millaista DNA-sekvenssiä on rajatulla kromosomialueella. Voimme kuitenkin käyttää geenisisällön ennustamiseen lähisukuisia lajeja, kuten riisiä, hirssiä ja arolustetta (*Brachypodium*), joiden perimän kaikki geenit jo tunnetaan. Vertaileva genomiikka hyödyntää tietoa siitä, että lähisukuisilla lajeilla on geenijärjestys perimässä usein säilynyt samana evoluution kuluessa. Omassa ohratutkimuksessamme olemme selvittäneet, millaisia genejä tutkimallamme kromosomialueella on lähisukuisissa lajeissa ja mitä näiden geenien toiminnasta tiedetään. Mahdollisia genejä on kuitenkin vielä useita kymmeniä.

Alla olevassa taulukossa näkyy, miten olemme käyttäneet arolusteen koko genomia kattavaa geenitietoa ohran geneihin perustuvien DNA-merkkien järjestämiseen Taulukon rivit kuvaavat kukin yhtä ohralinjaa, jossa on havaittu rekombinaatiokohta lähellä resistenssigeeniä. Jokainen sarake edustaa yhtä ohran DNA-merkkiä, viimeisessä sarakkeessa on resistenssitestaukseen perustuva tieto resistenssigeenin alleeleista. Sininen väri on resistentiltä vanhemmalta peritty alleeli, keltainen alttiilta vanhemmalta peritty alleeli ja vihreä kuvaa heterotsygoottia, jolla on molempien vanhempien alleelit. Harmaa kuvaa sellaista DNA-merkkiä, jossa ei ole lainkaan vaihtelua vanhempien välillä. Alimmat kolme riviä kertovat vastaavan arolusteen geenin nimen ja sijainnin. Vertailevan genomiikan avulla saadaan käsitys rajatun alueen koosta ja geenisisällöstä.



Olemme myös itse tutkineet ohran geenitoimintaa sekä kestävässä että alttiissa ohrassa, kun kasvit tartutetaan verkkolaikun itiöillä. Tulosten analysointi on vielä kesken, mutta toivomme löytävämmekä merkkejä siitä, minkä geenien toiminnassa näkyy muutoksia heti infektion alkuvaiheessa. Sijaitseeko joku muuttuvista geeneistä 6H kromosomissa? Kun löydämme muutamia mahdollisia kandidaattigeenejä verkkolaikkuresistenssigeenille, voimme geeninsiirtojen avulla varmistaa vaikuttavan geenin. Verkkolaikkukestävyysgeenin DNA-sekvenssin tunnistaminen antaisi mahdollisuuden geenin eri alleelien nopeaan seulontaan laajoista geenivara-aineistoista DNA-merkkien avulla.

### **Kestävyysgeenien hyödyntäminen**

Kestävyysgeenit löytyvät usein maatiAISista tai lajin velleistä muodoista. Jalostuksessa kestävyysgeenit on saatava paikallisiin ilmasto- ja viljelyoloihin sopeutuneisiin lajikkeisiin siten, että ei-toivottuja haitallisia geenimuotoja ei kulje mukana. Tämä voi edellyttää pitkää, useita kasvisukupolvia kestäväää takaisinristeytysohjelmaa. DNA-merkkien avulla prosessia voidaan nopeuttaa huomattavasti. Taudinkestävyysgeeniin liittyvää geenimerkkiä seuraamalla pidetään huolta siitä, että jatkoon valitaan aina vain kestävät yksilöt. Toisaalta seurataan samalla sen sopeutuneen lajikkeen perimään liittyviä merkkejä, johon kestävyyttä ollaan risteyttämässä. Näin varmistetaan, että mahdollisimman suuri osa perimästä säilyy viljelyolosuhteisiin hyvin sopeutuneena.

Kestävyysgeenejä tulisi hyödyntää viisaasti, jotta taudinaiheuttaja ei kykenisi helposti murtamaan kestävyyttä. Toivottavaa olisi, että käytettäisiin eri kestävyysgeenejä eri lajikkeissa, pyramidisoitaisiin useita eri kestävyysgeenejä samaan linjaan tai hyödynnettäisiin useita pieni-vaikutteisia kestävyysgeenejä. Genomiikan työvälineet ja DNA-merkit voivat merkittävästi helpottaa niin uusien resistenssigeenien kuin niiden uusien alleelien löytymistä geenivara-aineistoista. Lisäksi DNA-työkalujen avulla kestävyysgeenien pyramidisointi tulee mahdolliseksi ja niiden siirto risteyttämällä lajikejalostusmateriaaliin nopeutuu.