

Perunaruton epidemiologian ja ruttopopulaation muutokset 1990-luvulla

Asko Hannukkala, Terhi Rantanen ja Ari Lehtinen

Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Kasvinsuojelu, 31600 Jokioinen, asko.hannukkala@mtt.fi

Johdanto

Maailmanlaajuisesti eräs tuhoisimmista perunan taudeista, perunarutto (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary), levisi Eurooppaan 1800-luvun puolivälissä. 1980-luvulle asti taudinaiheuttajasta esiintyi Meksikoa lukuun ottamatta vain toista parittelutyyppiä A1. Parittelukumppanin A2 puuttuessa taudinaiheuttaja ei pystynyt lisääntymään suvullisesti ja koko Euroopan ruttopopulaatio koostui yhdestä kloonista (Goodwin et al., 1994). Raju muutos tapahtui 1980-luvun alussa, jolloin ruton toinen parittelutyyppi A2 levisi Eurooppaan ja näiden jälkeläisinä syntynyt uusi suvullisesti lisääntyvä populaatio syrjäytti nopeasti vanhan suvuttomasti lisääntyvän populaation. (Fry et al., 1993).

Suvullisen lisääntymisen tuloksena populaation perinnöllinen muuntelukyky lisääntyi ja uudet ruttokannat voivat entistä nopeammin sopeutua viljely-ympäristön muutoksiin (Brurberg et al., 1999). Hedelmöityksen tuloksena kehittyvät munaitiöt voivat säilyä maassa useita vuosia ja ne lisäävät perunaruton leviämisenbiologiaan uuden elementin, jonka seurauksia vasta selvitetään (Andersson et al., 1998; Drenth et al., 1995; Hermansen et al., 2000; Turkensteen et al., 2000). Tässä raportissa selvitetään suomalaisessa ruttopopulaatiossa vuosina 1990-2000 tapahtuneita muutoksia ja arvioidaan muutosten vaikutusta perunaruton ruton torjuntastrategioihin.

Aineisto ja menetelmät

Suomen perunapelloilla esiintyvän ruttopopulaation ominaisuuksien muuttumista on seurattu vuodesta 1990 alkaen tutkimalla eri puolilta Suomea kerättyjen ruttokantojen ominaisuuksia. Samalla on selvitetty ruttoepidemioiden alkamisajankohdan ja epidemioiden etenemisnopeuden muutoksia MTT:n tutkimusasemilla ja Jokioisissa sijainneissa havaintoruuduissa. Tuloksia on verrattu Seppäsen (1971) julkaisemaan aineistoon epidemioiden kulusta vuosina 1931-61. Ruton leviämiskykyä maasta perunan lehtiin selvitettiin kevättalvella 2001 pyydyskasvimenetelmällä (Drenth et al., 1995).

Vuosina 1990-2000 kerättiin keskeisiltä perunantuotantoalueilta yli 3000 ruttokantaa (Taulukko 1). Pääsääntöisesti tutkitut ruttokannat kerättiin perunan lehdyköistä, joissa oli yksi selvä ruttolaikku. Osa kannoista testattiin biologisilla testeillä ja osa eristettiin puhdasviljelmiksi ruisagar ravintoalustalle tarkempia tutkimuksia varten.

Tutkimuksen alkuvuosina päätavoitteena oli selvittää ruttokantojen kestävyuden muutoksia metalakyyli- ja sittemmin lisäksi propamokarbiHCl-valmisteita vastaan. Testit toteutettiin perunan lehdistä leikatuilla kiekkoilla, jotka pantiin kellumaan väkevyyksiltään erilaisiin torjunta-aineliuoksiin ja saastutettiin tutkittavista isolaateista tehdyillä itiösuspensioilla (Gisi, 1992). Käytetyt väkevyydet olivat metalakyyliä 0, 0.1, 1, 10 ja 100 ppm ja propamocarbillä vastaavasti 0, 10, 100 ja 1000 ppm.

Taulukko 1. Vuosina 1990-2000 populaatiotutkimuksessa eri ominaisuuksiltaan tutkittujen ruttokantojen määrät

Vuodet	Torjunta-aineresistenssi		Parittelu- muoto	Virulenssi rotu	Haplo- tyyppi
	metalakyyli	propamokarbi			
1990-92	1064	20	46	191	9
1993-96	825	437	606	460	29
1997-2000	1319	1314	1276	331	126

Ruttokantojen parittelutyyppi määritettiin risteyttämällä tutkittava isolaatti tunnetun A1- ja A2-testikannan kanssa. Munaitiöiden muodostuminen tutkittiin mikroskoopilla ja sen perusteella, kumman testikannan kanssa munaitiöitä muodostui, pääteltiin testattavan kannan parittelutyyppi (Spielman et al., 1991) Parittelutyyppi määritettiin noin 1900:lle ruttoisolaatille (Taulukko 1).

Hieman alle 1000:n ruttokannan virulenssirotu määritettiin perunakloonisarjan avulla, jonka kukin klooni sisälsi yhden yhdestätoista tunnetusta major-resistenssigeenistä (R-geeni). R-geenin 9 sisältävää kloonia ei ollut käytettävissä (Kankila et al., 1995). Geneettisen muuntelun tarkempaan tutkimiseen on viime vuosina käytetty molekyylibiologisia menetelmiä, kuten RG57- DNA-sormenjälkeä (Brurberg et al., 1999) ja mitokondrion DNA:n ominaisuuksiin perustuvaa haplotyyppitystä (Griffith and Shaw, 1998). Pohjoismaisena yhteistyönä suvullisesti lisääntyvien populaatioiden monimuotoisuutta ollaan lisäksi selvittämässä AFLP- menetelmällä (Lee et al., 1997)

Tulokset ja tulosten tarkastelu

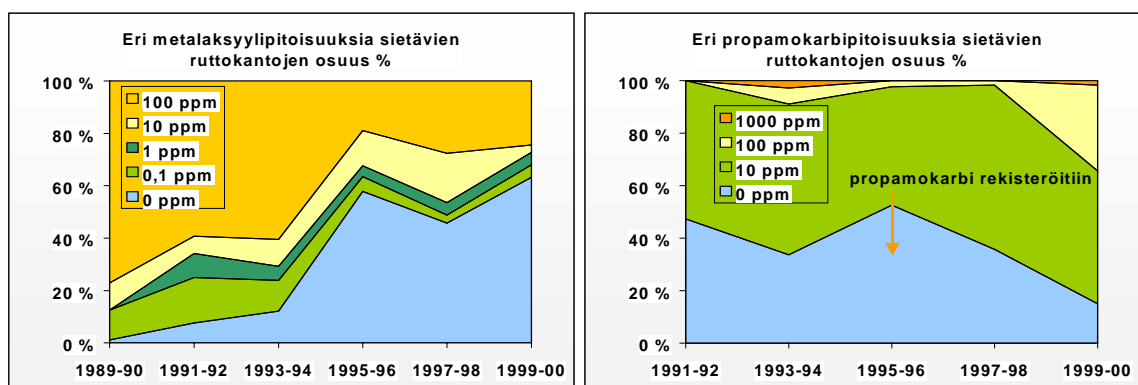
Ruton keskimääräinen alkaminen Suomessa on 1990-luvun kuluessa aikaistunut noin kuukaudella. Vuosina 1931-61 tehdyssä selvityksessä ruttoa ei havaittu millään havaintopaikalla ennen elokuun alkua (Seppänen 1971). Viime vuosina rutto on alkanut levitä yleisesti heinäkuun alussa ja varhaisperunalta ruttoa on löydetty jo kesäkuun alussa. Epidemiologisissa malleissa taudin tuhoisuutta kuvaavien muuttujien, kuten AUDPC ja 'apparent infection rate' -arvot, ovat samalla kasvaneet.

Ruton ensioireet ilmenevät nykyisin usein maahan koskettavissa alalehdissä mosaiikkimaisena kirjavuutena tavallisten kuoliolaikkujen sijasta. Tällaisista kasvustoista kerätyissä ruttopopulaatioissa A1/A2 parittelumuotojen suhde on 50/50 ja isolaattien välinen perinnöllinen diversiteetti on erittäin suuri, mikä on tyypillistä suvullisesti lisääntyvälle populaatiolle.



Kuva 1. Maasta tarttuvan rutan aiheuttamaa mosaiikkimaista kirjavuutta perunan alalehdissä (oikealla) ja tyypillinen ilmaveintäisen rutan aiheuttama kuoliolaikka ylälehdessä (vasemmalla)

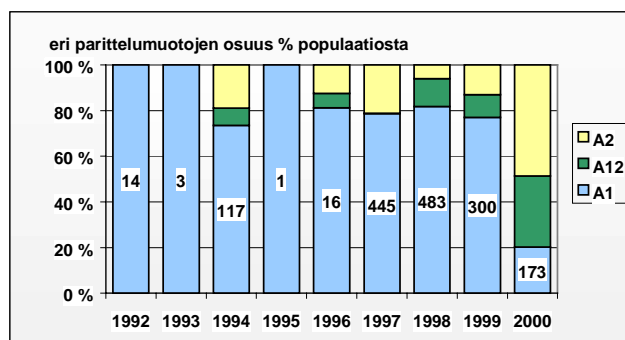
Epäilyt maatartunnasta ja suvullisesta lisääntymisestä Suomessa osoittautuivat oikeiksi, kun kevättalvella 2001 rutto onnistuttiin hollantilaisen tutkimusryhmän (Drenth et al., 1995) kehittämällä pyydyskasvimenetelmällä tartuttamaan maasta suoraan perunan lehtiin. Rutto iskeytyi perunaan syksyllä sadonkorjuun jälkeen kerätyistä ja keväällä roudan sulamisen jälkeen otetuista maanäytteistä. Alustavien kokemusten mukaan munaitioita itää veden kyllästävässä maassa vähitellen ainakin 2 kk aikajakson kuluessa, joten munaitioilla saastunut maa voi toimia tartuntalähteenä pitkään. Yhteispohjoismaisten tutkimusten mukaan munaitiot säilyvät maassa useita vuosia, mutta tutkimus on vielä kesken (Andersson et al., 1998).



Kuva 2. Ruttokantojen metalakssyylin ja propamokarbin sietokyvyn muutokset Suomessa vuosina 1990-2000.

Suomessa metalakssyyli-nimistä torjunta-ainetta kestävät ruttokannat yleistyivät nopeasti aineen liiallisen laajamittaisen käytön seurauksena. Tehoaineen käytön vähetessä kestävät kannat ovat

vähentyneet suurimmassa osassa maata. Metalakssyyliä kestävää ruttoa esiintyy yleisesti kaikkialla, missä metalakssyyliä on käytetty rutontorjuntaan ja ensimmäiset havainnot kestävydestä tehtiin Hollannissa kaksi vuotta valmisteen rekisteröinnin jälkeen 1980-luvulla (Gisi, 1992). Nykyisin metalakssyylinkestävyys ei ole rutton torjunnan kannalta merkittävä ongelma, koska viljelijöiden käytettävissä on useita torjuntavalmisteita jotka tehoavat erinomaisesti metalakssyyliä kestäviin ruttokantoihin. Vastaavasti propamocarbi-hydrokloridin tultua markkinoille 1995 ruttokantojen sietokyky tätä ainetta vastaan näyttää lisääntyneen.



Kuva 3. Rutton A1 ja A2 paritellumuotojen suhteellinen osuus populaatiossa vuosina 1992-2000. A12 kannat tuottivat munaitiöitä molempien testikantojen kanssa. Tolpassa on esitetty kunakin vuonna tutkittujen isolaattien lukumäärä.

A2 paritellumuoto löytyi Suomesta ensimmäisen kerran vuonna 1992 kerätystä ruttokannasta. Vuosina 1994-99 A2-muodon keskimääräinen osuus oli noin 20 %, mutta Etelä- ja Itä-Suomessa osuus oli selvästi suurempi. Vuoden 2000 populaatiossa A2-muodon osuus lisääntyi dramaattisesti. Muualla Euroopassa molempia paritellumuotoja esiintyy yleisesti, mutta niiden osuudet vaihtelevat erittäin paljon vuodesta ja maasta toiseen (Fry et al. 1993).

Taulukko 2. Yleisimmät suomessa esiintyneet virulenssirotut ja niiden yleisyys ruttopopulaatiossa

Virulenssirotu	Kpl isolaatteja	% populaatiosta
R1,3,4,7,10,11	254	45
R1,3,4,7,11	88	15
R1,3,4,7,8,10,11	56	10
R1,3,4,11	13	2

Suomesta on löydetty kaikki yksittäiset virulenssitekijät ja niiden erilaisia kombinaatioita on populaatiossa erittäin runsaasti. Kuitenkin kolme yleisintä rotua kattaa 70 % populaatiosta. Suomessa yleisin rotu on yleisimpien joukossa muuallakin Euroopassa tehdyissä virulenssikartoituksissa (Hermansen et al. 2000). Suomessa ja Pohjois-Euroopassa yksittäisten ruttosisolaattien sisältämien virulenssitekijöiden määrä on lisääntynyt 1990-luvun alkuvuosien 4-5:stä nykyiseen 6-7:ään.

Rutton neljästä tunnetusta haplotyypistä Suomesta on löydetty vain kaksi: Ia ja Iia. Ennen vuotta 1980 Euroopassa esiintyi ainoastaan haplotyyppiä Ib, joka on sittemmin korvautunut muilla haplotyypeillä (Griffith ja Shaw, 1998). Suomestakaan ei ole löydetty Ib haplotyyppiä, mikä osoittaa että Suomessa esiintyvä edustaa 'uutta' populaatiota.

Johtopäätökset

Suvullinen lisääntyminen on mahdollistanut geno- ja fenotyypeiltään aivan uudenlaisten ruttokantojen syntymisen luonnonvalinnan materiaaliksi. Suvullisen lisääntymisen seurauksena pelloilla on joka vuosi uusi ja arvaamaton populaatio. Mitokondrion DNA:han perustuvan haplotyyppityksen mukaan suomalaiset ruttokannat kuuluvat 'uuteen' suvullisesti lisääntyvään populaatioon. Rutontorjunnan onnistuminen edellyttää entistä tarkempaa kasvustojen tarkkailua heti perunan taimettumisesta alkaen, jotta aikaisin ilmaantuvat ruttopesäkkeet voitaisiin tuhota ajoissa. Munaitiöiden syntymisen estämiseksi kasvustot tulisi pitää täysin puhtaina lehtirutosta. Entistä muuntelukykyisempi populaatio lisää riskiä torjunta-aineita kestävien ruttokantojen valikoitumiseen ja nykytilanteessa on ensiarvoisen tärkeää vuorotella torjuntaohjelmissa vaikutustavaltaan eri tyyppisiä rutontorjunta-ainetta

Kirjallisuus

- Andersson, B., Sandstrom, M. & Stromberg, A.** 1998. Indications of soil borne inoculum of *Phytophthora infestans*. *Potato Research* 41:305-310.
- Brurberg, M. B., Hannukkala, A. & Hermansen, A.** 1999. Genetic variability of *Phytophthora infestans* in Norway and Finland as revealed by mating type and fingerprint probe RG57. *Mycological Research* 103:1609-1615.
- Drenth, A., Janssen, E. M. & Govers, F.** 1995. Formation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. *Plant Pathology* 44:86-94.
- Fry, W. E., Goodwin, S. B., Dyer, A. T., Matuszak, J. M., Drenth, A., Tooley, P. W., Sujkowski, L. S., Koh, Y. J., Cohen, B. A., Spielman, L. J., Deahl, K. L., Inglis, D. A. & Sandlan, K. P.** 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* 77:653-661.
- Gisi, U.** 1992. FRAC methods for monitoring the sensitivity of fungal pathogens to phenylamide fungicides developed by the Phenylamide Fungicide Resistance Action Committee (PA-FRAC) of GIFAP. *Bulletin OEPP* 22:297-322.
- Goodwin, S. B., Cohen, B. A., Deahl, K. L. & Fry, W. E.** 1994. Migration from northern Mexico as the probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada. *Phytopathology* 84:553-558.
- Griffith, G. W. & Shaw, D. S.** 1998. Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. *Applied and environmental microbiology (USA)* 64:4007-4014.
- Hermansen, A., Hannukkala, A., Naerstad, R. H. & Brurberg, M. B.** 2000. Variation in populations of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway: mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype. *Plant Pathology* 49:11-22.
- Kankila, J. J., Hannukkala, A. O., Rokka, V. M. & Pietilä, L. T.** 1995. Screening *Phytophthora infestans* populations and breeding for resistance in Finland, p. 261-267. *In*: L. J. Dowley, E. Bannon, L. R. Cooke, T. Keane, and E. O'Sullivan (eds.), *Phytophthora infestans* 150. Boole Press Ltd., Dublin.
- Lee, T., Witte, T., Drenth, A., Alfonso, C., Govers, F., L. T. van der, & De, W.** 1997. AFLP linkage map of the oomycete *Phytophthora infestans*. *Fungal Genetics and Biology* 21:278-291.
- Seppänen, E.** 1971. Influence of weather conditions and late blight on the yields of potatoes in Finland, 1931-62. *Annales Agriculturae Fenniae* 10:69-109.
- Spielman, L. J., Drenth, A., Davidse, C., Sujkowski, L. J., Gu, W., Tooley, P. W. & Fry, E. E.** 1991. A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*? *Plant Pathology* 40:422-430.
- Turkensteen, L. J., Flier, W. G., Wannigen, R. & Mulder, A.** 2000. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 49:688-696.