

Perunan tyvimädän esiintyminen ja hallinta siemenperunan tuotannossa

Asko Hannukkala¹⁾, Ari Lehtinen¹⁾, Terhi Rantanen⁴⁾, Elina Virtanen²⁾ ja Anne Rahkonen³⁾

¹⁾MTT, Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Kasvintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen
asko.hannukkala@mtt.fi, ari.lehtinen@mtt.fi

²⁾MTT, Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Alueellinen tutkimus, Pohjois-Pohjanmaan tutkimusasema, Tutkimusasemantie 15, 92400 Ruukki, elina.virtanen@mtt.fi

³⁾Perunantutkimuslaitos, Ruosuontie 156 16900 Lammi, anne.rahkonen@petla.fi

⁴⁾Terhi Rantanen, TR Biotech Consulting, Kikerötie 6 A 10, 96440 Rovaniemi

Johdanto

Piilevän tyvi- ja märkämädän hallitsematon puhkeaminen näkyviksi oireiksi yksittäisissä siemenereissä on yhä siemenperunantuotannon keskeisimpiä kasvinsuojeluongelmia. Suomessa tautia aiheuttavat *Erwinia carotovora*-bakteerin alalajit *carotovora* (Ecc) ja *atroseptica* (Eca). Eca aiheuttaa kasvukaudella perunan tyvien mätänemisen kiiltävänmustaksi pahanhajuisiksi bakteerilimaksi. Tartunnan saaneet kasvit kellastuvat ja kuihtuvat. Molemmat alalajit voivat mädättää mukuloita pellolla ja varastossa (Pérombelon & Kelman 1987, Helias ym. 2000).

Bakteerit kulkeutuvat oireettomina siemenmukuloissa seuraavaan kasvukauteen. Oireiden puhkeaminen riippuu täysin bakteerien määrästä ja lisääntymisnopeudesta. Kosteus-, lämpötila- ja happiolosuhteet sekä solukon rakenne säätelevät bakteerien lisääntymistä. Siksi sama siemenere voi bakteerien lisääntymiselle otollisissa olosuhteissa tuottaa erittäin tyvimätäisen kasvuston, mutta bakteereille epäsuotuisissa olosuhteissa taudin oireita ei esiinny lainkaan kasvustossa (Vuurde & Vries 1994, Pérombelon 2002).

Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää PCR-tekniikoihin perustuvia *E. carotovora*-bakteerien osoittamismenetelmiä, selvittää niiden avulla bakteerien ilmaantumista siemenperunan tuotantoketjuun ja tutkia viljelytekniisiä taudin hallintakeinoja.

Aineisto ja menetelmät

Vuosina 2001-03 toteutetussa Maa- ja metsätalousministeriön rahoittamassa hankkeessa kehitettiin PCR-menetelmiä piilevän tyvi- ja märkämädän tartunnan sekä Eca-alalajin määrän osoittamiseksi siemenperunoissa. Samalla selvitettiin käyttökelpoisia tilastollisia otantamenetelmiä, joilla siemenperunassa sallitut alhaiset esiintymisfrekvenssit voitaisiin osoittaa riittävän luotettavasti kohtuullisilla näyttemäärillä.

Kehitettyjen PCR-menetelmien avulla seurattiin miten bakteerit lisääntyvät siemenperunan tuotanto-ketjussa mikrolisäystaimista toisen vuoden avomaanlisäykseen. Tutkimusaineisto kerättiin Suomen siemenperunakeskus Oy:n tuotannosta. Alueen jokivesistä kartoitettiin, onko niissä Eca- tai Ecc-alalajeja. Pohjois-Pohjanmaan tutkimusaseman toteuttamissa viljelmä- ja kenttäkokeissa tutkittiin viljely-tekniisiä keinoja tyvi- ja märkämädän leviämisen ja ilmenemisen vähentämiseksi tuotannossa.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Piilevän tyvi- ja märkämädän osoittamismenetelmien kehittäminen

Tutkimuksessa kehitettiin useita PCR-tekniikkaan perustuvia menetelmiä piilevän tyvi- ja märkämädän osoittamiseen versoista ja mukuloista. Näistä neljä soveltuu parhaiten erilaisten tutkimushypoteesien testaamiseen. Karkeimmalla bioPCR-menetelmällä voidaan osoittaa *E. carotovora*-bakteerien esiintyminen kasvinäytteessä. Menetelmä ei erota bakteerin alalajeja toisistaan. Eca-spesifisellä bioPCR-menetelmällä voidaan todeta tyvimätää aiheuttavan alalajin esiintyminen näytteessä. Real-time-PCR-menetelmällä voidaan osoittaa lisäksi Eca-alalajin määrä näytteessä. Lisäksi real-time-PCR-tekniikalla voidaan todeta Eca- ja Ecc-alalajien esiintyminen yhdellä PCR-ajolla. Menetelmiä kehitetään edelleen siemenperunan sertifiointia varten, jotta ne soveltuisivat myös suurien aineistojen tutkimiseen.

Tyvimätä siemenperunan tuotantoketjussa

Siemenperunan tuotannon mikrolisäysaineistot todettiin täysin puhtaaksi *E. carotovora*-bakteereista. Kasvihuoneessa ja ensimmäistä vuotta avomaalla tuotetusta sadosta ei löydetty Eca-bakteeria, mutta Ecc-alalajia esiintyi satomukuloissa. Toisen avomaalisäysvuoden aineistosta ei myöskään löydetty piilevää tyvimätää. Toisen vuoden aineistosta pelto-oloissa oli tyvimädän oireita alle 0,0001%:ssa

kasveista, piilotartuntoja oli keskimäärin 0,6%:ssa satomukuloista. Piilevä *E. carotovora*-tartunta osoitettiin 2,8%:ssa satomukuloista. Hygienian taso tuotantoketjussa on hyvä tyvimädän hallitsemiseksi. Eca-bakteerin todellinen merkitys tuotannossa tulisi selvittää pikaisesti.

Vuonna 2002 muutamista silmävaraisesti tyvimädän vioittamiksi arvioiduista perunan versoista ei PCR-menetelmillä pystytty osoittamaan Eca-alalajia, vaan niissä oli yksinomaan Ecc-bakteeria. Myös muutamissa kasveissa, joita pidettiin selvästi perunaseitin vioittamina, PCR-analyysi paljasti Eca-bakteerin. Lisäksi varsien yläosissa mädättäjänä oli Ecc-alalaji (Kuva 1).



Kuva 1. Oireiden perusteella tyvimätäiseksi (vasemmalla) arvioiduista kasveista löytyi toisinaan vain Ecc-alalajia ja perunaseitin vioittamaksi (keskellä) arvioiduista kasveista löytyi Eca-alalajia. Kesällä 2002 Ecc-bakteeri vioitti joskus varsien yläosia (oikealla). Kuvat Asko Hannukkala.

Viljelytekniset keinot tyvimädän hallitsemiseksi

Viljelytekniesten tyvimädän hallintakeinojen tärkeimmät tutkimuskohteet ovat olleet Ca-lannoituksen ja varsistonhävitys- ja kastelumenetelmien vaikutus tyvimädän puhkeamiseen. Lannoituksella aikaansaatua mukuloiden Ca-pitoisuuden lisäys vähensi sadon mätänemisherkkyyttä. Varsistonhävitysmenetelmien vaikutusta tyvi- ja märkämätään ei voitu osoittaa, koska kokeissa oli liian vähän tautia hypoteesien testaamiseksi. Tutkituista vesinäytteistä ei löydetty Eca-alalajia. Vuonna 2002 Ecc-bakteeria oli suurimmassa osassa vesinäytteistä. Kuivana kesänä 2003 vain 3 näytettä oli Ecc:n saastuttamia.

Johtopäätökset

Eca- ja Ecc-bakteerien keskinäisen merkityksen tarkka selvittäminen on edellytys tehokkaiden tyvi- ja märkämädän hallintakeinojen laatimiseksi tulevaisuuden perunantuotantoon. Siemenperunan sertifiointinissa resurssit tulisi kohdentaa piilevän bakteeritartunnan selvittämiseen mukulasadosta kasvustohavaintojen sijasta. PCR-tekniikkoihin perustuvia menetelmiä tulee kehittää edelleen niin, että soveltuvat siemenperunan massatestauksiin.

Kirjallisuus

- Harju, P. & Kankila, J.** 1993. *Erwinia carotovora* contamination of Finnish seed potatoes and the prevalence of bacterial subspecies and serogroups. *Agricultural Science in Finland* 2:345-352.
- Helias, V., Andrivon, D., & Jouan, B.** 2000. Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* under field conditions and their effects on the yield of individual potato plants. *Plant Pathology* 49:23-32.
- Pérombelon, M. C. M.** 2002. Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51:1-12.
- Pérombelon, M. C. M. & Kelman, A.** 1987. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot Erwinias: proposal for revision of terminology. *Plant Disease* 71:283-285.
- Vuurde, J. W. L. van & Vries, M. De.** 1994. Population dynamics of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on the surface of intact and wounded seed potatoes during storage. *Journal of Applied Bacteriology* 76:568-575.