

SLUTRAPPORT AVSEENDE PROJEKTET

Minskat svampangrepp och ökad skörd i raps med hjälp av bioantagonister

Sadhna Alström och Björn Andersson

Finansierat av Stiftelsen Lantbruksforskning, projektnummer: H0633180-K00

MÅLSÄTTNING

Målsättningen med det här rapporterade projektet var att ge ökad kunskap om antagonistiska mikroorganismers effekt på skadegörare i raps. Även deras tillväxtfrämjande effekt studerades. Tanken var att utvärdera möjligheterna att på sikt kunna medverka till en förbättrad skördekvantitet och kvalitet i svensk oljeväxtodling i naturligt smittade jordar genom tillförsel av dessa mikroorganismer. För att uppnå målen har fältförsök utförts i Östergötland under 2007 och 2008. Kompletterande undersökningar har utförts i kärlförsök, laboratoriet, och växthus.

Baserat på erfarenheter från våra tidigare projekt ("Antagonistiska mikroorganismer och bioprodukter", Alström och Twengström, 2006 och "Bekämpningsstrategier mot kransmögel i raps baserade på tillförsel av antagonistiska mikro-organismer", nr.0433024, Alström och Andersson, 2008) valde vi ut ett antal mikroorganismer som visat en stark hämningseffekt på kransmögel svampen (*Verticillium longisporum*) i för fortsatta försök med raps i fält. I växthus och/ eller i kärlförsök utförda utomhus gav de utvalda mikroorganismerna förbättrad uppkomst, ökad fröskörd, större tusenkornvikt och högre fetthalt.

BAKGRUND

Oljeväxter är en viktig gröda i svenskt jordbruk, bland annat beroende på intresset för oljeväxter som energigröda. En ökning av den odlade arealen är önskvärd ur många synpunkter samtidigt som detta kan medföra ökade problem med jordburna svampsjukdomar t.ex. kransmögel och groddbrand.

I Sverige är *V. longisporum* (tidigare *V. dahliae* var. *longisporum*) skadegörare främst på oljeväxter, men har även flera andra värdväxter som till exempel potatis. Exempel på andra skadesvampar i oljeväxter i Sverige är *Sclerotinia sclerotiorum* (bomullsmögel), *Plasmidiophora brassicae* (klumprotsjuka) och *Phoma lingam* (torröta). De största problemen med dessa skadegörare finns Skåne och Östergötland.

Verticillium förekommer som mycel, konidier och mikrosklerotier. Mikrosklerotierna kan överleva upp till 15 år och utgör därmed en mycket viktig smittoskälla. Gunnarsson (2001) uppskattade den kvantitativa skördeförlusten av *Verticillium* till ca 20 %. Angreppen gav även upphov till kvalitativa förluster genom minskad oljehalt och sänkt andel linolensyra i fett-syrasammansättningen. Även spillet ökade vid angrepp. Dessutom konstaterades latent förekomst av svampen tidigt på säsongen i samtliga undersökta fält.

Växtpatogena svampar tillhörande släktena *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* och *Phoma* är jord- eller utsädesburna och kan angripa raps redan på groningenstadiet. *Rhizoctonia solani* kan angripa raps redan på groningenstadiet. Tidiga angrepp leder till vissna småplantor, medan senare infektioner kan ge rottrötter. Planttillväxt hämmas, och senare kan infektionen spridas inom beståndet, mellan fält och mellan höst- och våroljeväxter. Groddbränna undgår lätt upptäckt och dess betydelse kan vara större än man hittills trott. Jordburna patogener är ofta

mycket svåra att bekämpa, fungicider har till exempel ingen eller mycket liten effekt på deras viliformer. De viktigaste motåtgärderna är en god växtföljd, och man rekommenderar inte odling av oljeväxter oftare än vart femte till sjätte år. Andra preventiva åtgärder är odling av motståndskraftiga sorter och en så tidig sådd av höstrapsen som möjligt (Atterwall, 1994).

Stallgödsel, växtmaterial och organiskt avfall såsom blod- ben- och fiskmjöl har länge använts som jordförbättringsmedel. Vid tillsats av t.ex. ben-, fisk- och sojamjöl liksom höns- gödsel kan minska angreppen av skadegörare som *V. longisporum*. Detta förklaras av en höjning av markens pH och ammoniumnivå, samt en ökning av förekomsten av antagonistiska mikroorganismer i marken (Alström och Twengström 2006, Lazarovits et al., 2000). Antagonistiska mikroorganismer hindrar tillväxt av andra mikroorganismer (Duffy et al, 2003). De effektivaste antagonisterna för biologisk bekämpning av jordbundna patogener är de som koloniserar rötternas miljö, tar sig in i växten, överlever och förökar sig. Man har försökt hitta svampar eller bakterier som effektivt missgynnar *V. longisporum* (Narisawa, 2003). I tyska studier har bakterien *Serratia plymuthica* påvisats fungera både som biologisk kontroll av *V. longisporum*, och som växtstimulerare i jordgubbar. Bakterien utsöndrar växt-hormonet indol-3-ättiksyra (IAA) och kitinaser som bryter ner kitinet i svampens cellvägg. RhizoStar, ett preparat för kommersiellt bruk har tagits fram av tyska forskare. (Berg 2003). Preparatet dock har inte gett någon lovande resultat i våra studier.

Den stora ekonomiska betydelsen av jordburna patogener och avsaknaden av effektiva kemiska medel gör att alternativa metoder behövs för att minska skördeför-luster. *V. longisporum* har dålig på att konkurrera med andra mikroorganismer. Därför kan strategier baserade på tillförsel av bioantagonister och/eller organiskt avfall vara sådana som snabbast kan komma odlingen till nytta. Andra strategier kan med fördel kombineras med biostimulering och bioantagonism.

MATERIAL OCH METODER

Mikroorganismer och deras egenskaper samt bioprodukter

Mikroorganismer i försöken tillfördes som fröbetning och/ eller jordbehandling. Tabell 1 visar olika egenskaper hos de mikroorganismer som valdes för fortsatta studier i projektet. Deras 'biokontroll-potential' rangordnades baserad på en samlad bedömning av patogenens potentiella hämningseffekt på patogener baserat på egenskaper såsom utsöndring av metaboliter. Ju högre poäng desto effektivare ansågs en organism vara. Högsta poäng som en mikro-organism på detta sätt kunde få var 12.

I en tidigare studie (Alström och Andersson 2008) beräknades 'skördepotential' (SP) för varje organism som baserades på dess effekt på uppkomst, fröskörd, torrsustanshalt, oljehalt och tusenkorntvikt jämfört med kontroll. Högsta poäng som en mikroorganism på detta sätt kunde få för sin SP var 88. I studien beräknades SP till 22 i obehandlade led jämfört med 49-76 vid behandling med olika antagonister när vårrapsen odlades i naturligt kransmögelsmittad fält-jord. 'Biokontroll-potential' och 'skördepotential' avgjorde urval av organismerna för fortsatta studier i detta projekt.

Många mikroorganismer verkar genom att direkt döda patogenen. En långtidsverkande bekämpningseffekt av mikroorganismer kan förstärkas till exempel genom att tillsätta organiskt material samtidigt med antagonisterna. Tillförsel av enbart benmjöl i jord naturligt smittad med *Verticillium* gav lägre angrepp av kransmögel och ökade fröskörden med 17 % jämfört med skörden i motsvarande led med mineralkväve. (Alström och Twengström 2006). Baserat på detta inkluderade vi benmjöl i fältförsök som en möjlig åtgärd mot *Verticillium*.

Tabell 1: Effekt av några potentiella antagonister på vårrops (SW H2812) sådd i naturligt kransmögelsmittad fältjord med avseende på uppkomsten, förekomsten av gula blad (som ett grovt mått på kransmögelangrepp), fröskörden, tusenkornvikt, vattenhalt och oljehalt. (n = 4 med 50 frö per odlingskärl) i ett utomhus kärlförsök.

Mikro-organismer	% uppkomna	% ökning uppkomna	Kitinasbildande	Cellulasbildare	Biocontrol potential*	Fröskörd (g)	% skördeökning	Tusenkovvikt (g)	Tot N % Av TS	Antal gula blad	Vattenhalt, %	Oljehalt, %	Skörde-potential**
DMB 12	66		+	+	6	16,6	12	3,44	3,94	9	6,55	45,5	52
AS 8	70	6	+	+	8	17,59	19	3,51	4,1	7,75	6,54	41,72	50
S 414	82	24			9	15,24		3,58	3,9	9,75	6,66	41,07	49
S 99	85	29			8	16,54		3,83	3,91	10,25	6,62	42,6	69
AS 9a	78,5	19	+	+	9	16,4	11	3,69	3,78	9	6,25	45,15	69
AS 12	83,5	26,5	+	+	9	17,54	18,7	3,79	3,97	9	6,52	43,93	76
S 64 a	76	15	-	+	11	16,83	13,9	3,5	3,86	7,75	6,55	44,86	58
S 4	83,5	26,5	-	+	8	18,12	22,6	3,26	3,84	10,5	6,36	44,04	66
S 25	86,5	30,5			10	14,04		3,5	3,95	11	6,53	42,81	52
S 143	61,5		+	+	4	16,93	14,5	3,95	3,85	8,75	6,57	42,61	55
Kontroll	66					14,78		3,24	4,04	9,5	6,72	41,44	22

^a cyanidproducenter

* visar samlad bedömning av biokontroll potential (utav högst poäng 12). Ingår in vitro hämning av två stammar av *Verticillium longisporum*.

** visar samlad bedömning av uppmätta skördepåverkande egenskaper (utav högst poäng 88)

Odling av mikroorganismer och inokulering av utsäde

I de höstrapsförsök som anlades hösten 2006 tillfördes bioantagonisterna vid sådd som fröbetning och som jordinokulum cirka en månad efter sådden. Samma tillvägagångssätt användes för inokulering i samtliga försök. I kontrollrutorna tillfördes inga mikroorganismer

Mikroorganismerna uppodlades på lämpliga odlingssubstrat och bereddes som suspension i vatten eller en svag näringslösning. Ej fungicidbetat, certifierat utsäde behandlades med mikroorganismerna tillsammans med bland annat karboxymetylcellulosa och talk. De behandlade fröna fick lufttorka och förvarades sedan i plastpåsar. Mikroorganismernas överlevnad på betade frö bekräftades innan de skickades iväg genom inkubering på lämpligt odlingsmedia. Andelen grodda betade frö jämfört med grodde obetade frön bestämdes, och inga negativa effekter av behandlingarna syntes på frögroning.

Jordinokulum bereddes som en blandning av mikroorganismer i steril sand, gammastrålad jord, aktivt kol (i ett försök) och en svag näringslösning. Jordinokulum lagrades kallt före användningen, och tillfördes i förekommande fall efter uppkomsten nära fröplantorna.

Försöksfält och fältplan

På grund av att försöken var avsedda att ligga på fält med naturlig smitta placerades samtliga försök i samråd med Hushållningssällskapet i Östergötland. Försöken lades ut som fullständigt randomiserade blockförsök med tre upprepningar. Jordegenskaper i de olika försöksfälten

framgår av Tabell 2, och samtliga behandlingar, sorter och försöksplatser som ingick i fältförsöken under projektåren 2007 – 2008 framgår av Tabell 3.

Tabell 2: Jordegenskaper i de olika försöksfält år 2007-2008

	Fosfor, kalium, magnesium och kalcium mg/100g											
	pH	P-AL	KI	K-AL	KI	Mg-AL	K/Mg	Ca-AL	K- HCl	KI	P- HCl	KI
Vadstena 2007-08	6,7	9,9	IV	11,9	III	14,3	0,8	423				
Vadstena	6,9	5,1	III	9,7	III	6,4	1,5	269	150	3	60	3
Borensberg	6,8	4,1	III	9,1	III	7,0	1,3	300	54,0	2,0	56,0	3
Borensberg 2006	6,7	13,9	IV	8,7	III	8,2	1,05	358	19175	5	0	1

	mg/kg	Mullhalt	Lerhalt	Silt	grovmå	
	Cu-HCl	%	%	%	%	Jord art
Vadstena 2007-08		5,7	20,0	36,0	38,3	mmh mo LL
Vadstena	16,9	4,4	23,5	38,5	33,6	mmh mo LL
Borensberg	6,8					mmh mo LL
Borensberg 2006	595	6	16			mmh mo LL

Tabell 3: Detaljer av samtliga behandlingar, sorter, försöksplatser som ingick i fältförsök utförda under projektåren 2007 – 2008.

År 2006 (skördeår 2007)	År 2007	År 2007 (skördeår 2008)	År 2008	År 2008 (skördeår 2009)
Höstraps Banjo	Våraps Stratos	Höstraps Status	Våraps Stratos	Höstraps
Kontroll	Kontroll	Kontroll	Kontroll	Kontroll
Mortierella sp	S 99d)	S 99	S 99	Mix A* (AS9+AS12+AS13+S99)
DMB 28b)	DMB 28	DMB 28	DMB 28	Mix B* (DMB28+LF6+S4)
AS 9d)	AS 9	AS 9	AS 9	Mix C* (AS12+ LF6+S4)
AS 12d)	AS 12	AS 12	AS 12	Mix D* (AS9+LF6+S4)
AS 13d)	AS 13	AS 13*	AS 13	Cocktail (A+B)
S 4 d)	S 4	S 4	S 4	Mix A** (AS9+AS12+AS13+S99)
LF 6c)	LF 6	LF 6	LF 6	Mix B** (DMB28+LF6+S4)
AS 8	LF6+AS9	LF 6+AS 9	LF 6+AS9	Mix C** (AS12+ LF6+S4)
-	LF6+S99	LF6+S99	LF6+S99	Mix D** (AS9+LF6+S4)
DMB 12a)	Benmjöl	Benmjöl	-	Cocktail (A+B) **
Enskild isolat	Enskild isolat+ 2 arter o bioprodukt	Enskild isolat+ 2 arter o bioprodukt	Enskild isolat + 2 arter	Artblandningar och antal appliceringar
Bobergs Västergård	Kölbäck*	Huvudstad	Enebygård	Bobergs Västergård

a) *Pseudomonas* sp, b) *Streptomyces* sp., c) *Bacillus* sp., och d) *Serratia* spp

* Försöket vårraps 2007 i Kölbäck misslyckad pga felsådd.

** Fröapplicering och jordinokulum

Försöken grundgödslades före start. Jordinokula i tillfördes i regel ca en månad efter uppkomsten. Tillsats av benmjöl ingick som en av behandlingarna i vår- och höstrapsförsök utförda år 2007. Vid behandlingstidpunkten för jordinokulum i vårrapsförsöket i Kölbäck 2007 upptäcktes att sådden var fel utförd på grund av tekniskt fel i såmaskinen och därför kasserades försöket.

Växthus/ Utomhus försök

I och med att värrapsförsöket i Kölbäck 2007 kasserades genomförde vi istället ett kärlförsök utomhus i 5 liters kärl fyllda med samma smittade jord som i fält. Samtliga kärl placerades utanför vår institution vid Ultuna. Fröna bereddes på samma sätt som för fältförsöket och såddes. I preliminära avläsningar noterades tidiga tydliga effekter i form av stimulerad ungplant tillväxt efter tillförsel av vissa antagonister.

Tyvärr fick flertalet av kärnen besök av harar och sniglar på ett tidigt stadium och plantorna i ca hälften av försöket blev uppätta. De överlevande plantorna bedömdes inte ge trovärdig data med avseende på planttillväxt och fröskörd och därför fick detta försök också kasseras. För att kompensera för detta utfördes ett till försök med samma upplägg i växthusmiljö.

Resultaten från tidigare växthusstudier på höstraps visade att *R. solani* kan reducera uppkomsten med ca 20 % (Alström och Andersson 2008). Studierna med avseende på förekomst av *R. solani* och dess betydelse i försämrade uppkomst i smittade fältjordar utfördes som krukförsök i växthus. Uppkomst och antal fröplantor med groddbrand registrerades. Svampar från plantor med groddbrandssymtom isolerades för identifiering av växtpatogener. Dessutom genomfördes inokuleringsförsök i växthus i fyra höstraps sorter (Winner, Banjo, Status och Oase) och fyra värraps sorter (SW Stratos, Heros, Lionsess och Hotho) för att kartlägga sortskillnader när det gäller känslighet för *R. solani*.

Laboratoriestudier

I syfte att undersöka mikroorganismernas bredverkan genomfördes *in vitro* tester med ytterligare tre stammar av *Verticillium* och ett isolat av *R. solani*. Hämmningseffekten avlästes genom att samodla dem med antagonisterna på lämpliga odlingsmedia. Effekter utvärderades med avseende på hämning av myceltillväxt och sklerotiebildning.

Fyra bakterier, S4, AS9, AS12 och AS 13 undersöktes för utsöndring av IAA och ACC-deaminas. Bakterier som producerar indolättiksyra (IAA) och 1-aminocyclopropan-1-karboxylat (ACC) deaminas är kända för att öka växternas tillväxt. IAA är en växthormon medan ACC deaminas sänker etylenbiosyntesen i växter. Etylen är känd som ett stresshormon. (Wang et al. 2000). Bakteriernas direkta påverkan på raps testades genom att inokulera dessa på ytsteriliserade rapsfrö men även på frö av *Arabidopsis thaliana* (*Neupane, ophubicerat*). *A. thaliana* är en klassisk modellväxt för molekylärbiologiska studier vars genom är numera känd. Studierna utfördes *in vitro* (10 frö per skål och n=2). Effekter på fröplantors tillväxt observerades efter inkubering på rumstemperatur.

Kvantifiering av *Verticillium* i jord

Både PCR och qPCR-baserade molekylära metoder användes för att kvantifiera *Verticillium*-smitta dels i en steril fältjord inokulerad med renkultur av patogena *Verticillium* och dels i tre fältjordar från Skåne med känd *Verticillium*-smitta. DNA extraherades, PCR och qPCR utfördes enligt metoder framtagna på vår institution. Primers specifika för *Verticillium* så väl som primers universella för svampar testades. Resultaten jämfördes med positiv kontrollprov.

RESULTAT

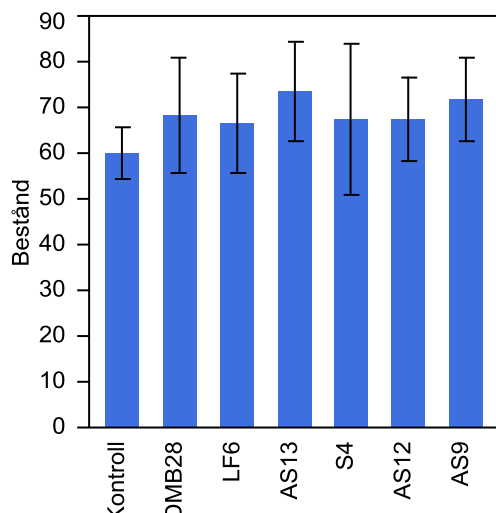
Under de år försöken har genomförts har det varit problem med uppförökning av vissa mikroorganismer (e.g. DMB 28, LF 6). En svårighet med fröbetningen har varit problem med att få tillräcklig med mikroorganismer att fästa på rapsfröna. Dessutom var det av

vädermässiga skäl svårt att få fröna i jorden i tid. Överlevnad strax före sådden utvärderades inte.

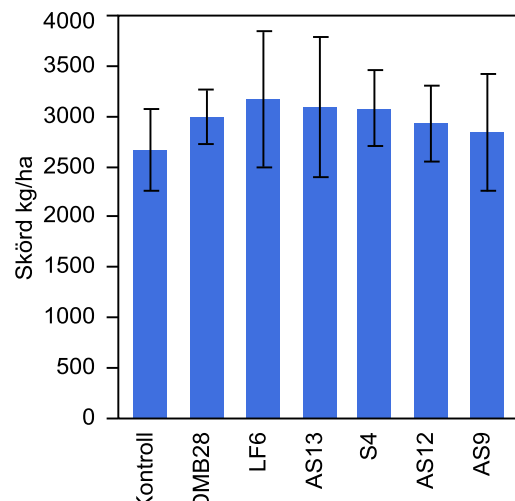
Under 2007 gjorde de stora bristerna i sådden av fältförsöket med vårraps att försöket kasserades. I kärnförsöket utomhus vid Ultuna, även det med vårraps, blev problem med vilt- och snigelskador så omfattande att försöket helt slopades. I växthusförsöket med samma upplägg upptäcktes klumprotsjuka i samtliga led, och varken groddbränna eller vissnesjuka kunde graderas. Samtliga fältförsök utfördes på naturlig smittade fält i samråd med Hushållningssällskapet i Östergötland. Då kvantifiering av *Verticillium* inte fungerade var det inte möjligt att utvärdera om och hur mycket smitta som verkligen fanns i försöksfälten före varje försöksstart. När det gäller sjukdomsgraderingar besöktes fälten 4-5 veckor efter sådd, dels för spridning av jordinokulum, eventuell provtagning och dels för avläsning av behandlingars effekter på uppkomst och beståndsutveckling. Förutom jord- och årsmånsvariationer samt sortskillnader i mottaglighet kan skälen ovan vara några av förklaringar till varför resultaten varierar mellan åren. En viktig information från växthusförsöket var därmed att även klumprotsjuka fanns i testade jorden där *R. solani* och kransmögel avsågs förekomma.

Fältförsök

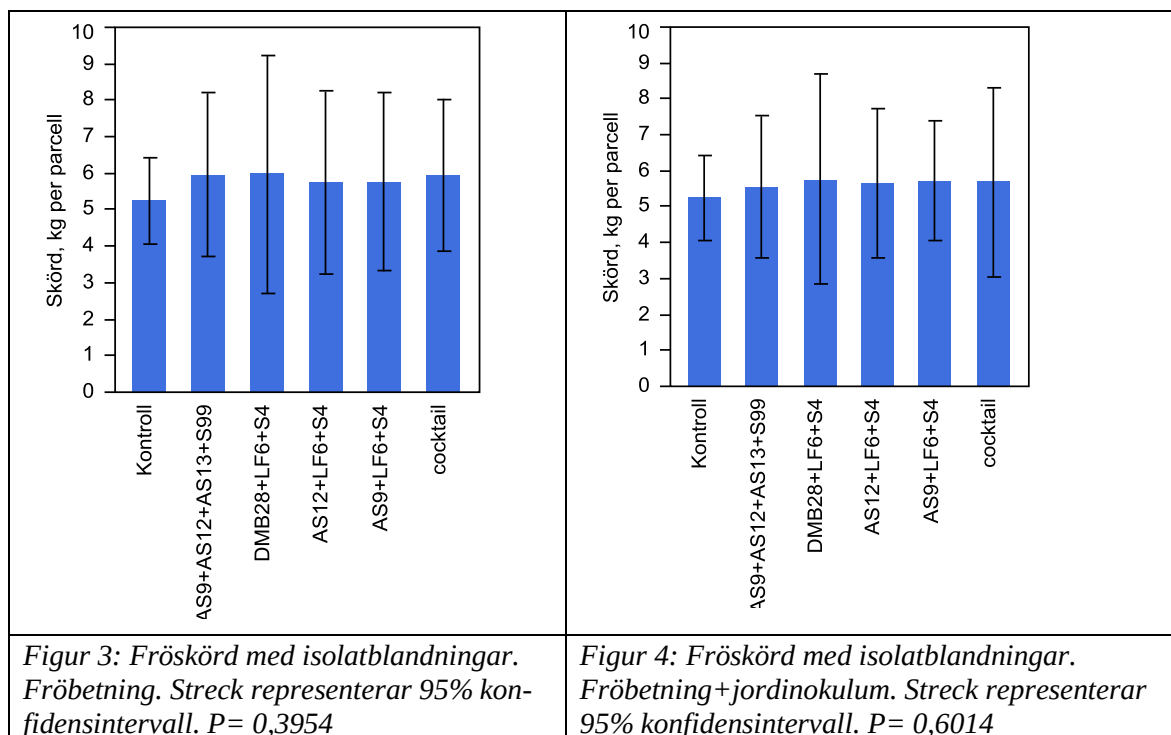
I fältförsöken räknades antal uppkomna plantor radvis i tre block 4-5 veckor efter sådd. Vid detta tillfälle syntes inga sjukdomssymtom i försöken. I höstrapsförsöket med skördeår 2007 noterades att tillförsel av vissa bioantagonister (AS12) förbättrade uppkomsten (upp till 34 %). En tendens till högre fröskörd uppmättes också detta försök, (tabell 4). Liknande mönster fanns avseende fröskörd i höstoljeväxter (mellan 14 % - 32 %) i försöket med skördeår 2008. Generellt sett fanns inte några statistiskt säkra skillnader mellan behandlingarna i höstrapsförsöken 2008 eller 2009, däremot fanns ett starkt block effekt ($P = 0,0079$).



Figur 1. Effekt av bioantagonisters i tre höst-rapsförsök med skördeår 2008-2009 på beståndsutveckling i höstraps. Streck representerar 95 % konfidensintervall. ($p = 0,47$).



Figur 2. Effekt av bioantagonisters i tre höstrapsförsök med skördeår 2008-2009 på netto fröskörd av höstraps. Streck representerar 95 % konfidensintervall. ($p = 0,61$).



Sammanfattningsvis fanns i alla höstrapsförsök dock en tendens till högre antal uppkomna plantor och bättre bestånd i behandlade parceller jämfört med dem i kontroll ledet. Samma mönster fanns med avseende på nettofröskörd i försöken. (Figurer 1-2 och Tabell 4). En tendens till mindre spill noterades också i några behandlingar. Resultat med enbart benmjöl i det enda fältförsöket (skördeår 2008) gav en tendens till ökad fröskörd (20 %, ej statistiskt säkert) och lägre spill jämfört med motsvarande resultat från kontroll led. (data ej visat).

Tabell 4: Sammanfattning av behandlingarnas effekter på relativ nettoskörd i raps.

Isolat	Vårrops utomhus 2005, Ref.	Höstraps, skördeår 2007	Höstraps skördeår 2008	Höstraps skördeår 2009
Kontroll	100	100	100	100
AS9	111	99	119*	nt
AS12	118,7	107	114	nt
AS13	124***	118	128*	nt
S4	122,6	114	115	nt
LF6	124***	107	132	nt
DMB28	nt	117	118	nt
S99	nt	nt	96	nt
LF 6+S 99	nt	nt	112*	nt
LF6+AS 9	nt	nt	119	nt
<i>Mortierella sp</i>	nt	107	nt	nt
AS 8	nt	128	nt	nt
DMB 12a)	nt	102	nt	nt
Mix A (AS9+AS12 +AS13+S99)	nt	nt	nt	115
Mix B (DMB28 + LF6+S4)	nt	nt	nt	115
Mix C (AS12+ LF6+S4)	nt	nt	nt	111,5
Mix D (AS9+ LF6+S4)	nt	nt	nt	111,5
Mix A+B	nt	nt	nt	115
Benmjöl**	nt	nt	120	nt
Kommentar			Blockeffekt	Blockeffekt

Resultaten visar på de testade bakteriernas gynnsamma effekter men antyder också att effekter av enskilda bakterieisolat var bättre än de bakterieblandningarna (Tabell 4, Fig 3-4) som testades i två av tre höstrapsförsök. Dessutom verkade en applicering (fröbetning) vara lika bra som två appliceringar (fröbetning+jordinokulum). Resultat med enbart benmjöl i det enda fältförsöket (skördeår 2008) gav en tendens till ökad fröskörd (20%) och lägre spill jämfört med motsvarande resultat från kontroll led. (data ej visat). Inga tendenser till gynnsamma effekter noterades i fältförsöket med vårraps.

Kärlförsök

En tendens till högre skottvikt och lägre antal plantor med *Rhizoctonia*-angrepp noterades i kärlförsöket. Signifikant lägre antal vårrapsplantor var angripna med *R. solani* i led behandlade med S4, LF 6 (1%) jämfört med 8% i kontroll krukor. (data ej visat). Samtliga testade åtta sorter visade sig vara mottagliga för *R. solani* men mottagligheten varierade mellan sorterna (Figur 5). Förekomst av *R. solani* bekräftades från plantor med groddbrand.

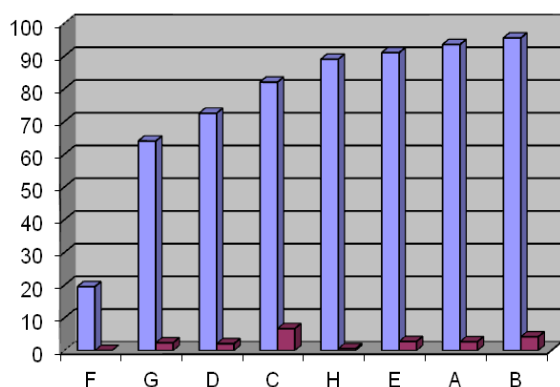


Fig 5. Procent uppkomna plantor (blå staplar) och % antal plantor med groddbrand (lila staplar) i åtta rapssorter.

Vårraps: A-SW Stratos, B-Heros, C-Lionsess, D – Winner.

Höstraps: E- Banjo, F - Status, G- Oase, H - Hotho

Laboratoriestudier

Vid saminokuleringen *in vitro* visade några bakterier en bred verkan av antagonism. Isolaten AS9, AS12, AS13 hämmade samtliga fyra patogener starkare ($P < 0,0001$) än DMB 12 och S4. Hämmningseffekten av LF6 var svårt att bedöma eftersom bakterien växte dålig på den testagar som användes i studien. De fyra isolaten (AS9, AS12, AS13 och S4) som testades för utsöndring av växtstimulerande ämnen visade sig samtliga bilda både ACC deaminas och IAA. Isolaten AS 9 och S4 gav också en signifikant ökning av tillväxten hos raps och *Arabidopsis thaliana in vitro* (Neupane et al, opublicerat)

Kvantifiering av *Verticillium dahliae* i jord

Samtliga försök att kvantifiera *Verticillium* med PCR eller QPCR i alla testade jordar misslyckades. Vi har inte kunna identifierat bakomliggande orsaker ännu, men troligen var det problem med låg specificitet hos primrarna.

DISKUSSION

Många antagonistiska svampar och bakterier har i åtskilliga studier visat sig minska patogenangrepp och öka skörden i jordbruks- och trädgårdsväxter. Flera studier har gjorts med antagonistiska mikroorganismer med syfte att komma fram till en lösning på problematiken kring bekämpning av jordburna patogener som *V. longisporum* och *R. solani*. Antagonisterna verkar genom att direkt hämma patogenen och/eller genom att stimulera ökning av den mikrobiella aktiviteten i rotzonen. De kan också ha en indirekt effekt genom att inducera värdväxtens egna försvarsmekanismer. Tillförsel av organiska, kvävehaltiga medel till jorden har också prövats, och har visat sig ha effekt. Även här har effekterna förklarats med direkt/indirekt hämning av patogenen. Vi har i projektet undersökt vilken effekt mikroorganismer från olika miljöer har på skadesvampar på raps i laboratorie-, kärl- och fältförsök. Vi har också undersökt effekter av ett urval av dessa mikroorganismer på uppkomst, fröskörd och oljehalt. Tillsats av benmjöl testades ett år.

Våra tidigare resultat i kombination med de resultat som rapporteras här från skördeåren 2007-2009 visar att inokulering av höstraps med mikroorganismer kan medverka till en ökad fröskörd, särskild i naturligt smittade fältjordar. Effekten av dessa mikroorganismer beror på deras förmåga att bryta ner patogeners cellväggar och konkurrera om näring och utrymme. Fältjordar i försöken visade bära på smittan av *R. solani* och klumprotsjuke-svampen förutom *Verticillium*. Våra resultat i projektet visar på ökat behov av en omfattande kartläggning av jordburna patogener i naturligt smittade jordar och deras betydelse för skördeförlusten. Mikroorganismerna har samtidigt växtstimulerande potential vilket har sin förklaring delvis i deras förmåga att bilda växtstimulerande hormoner och metaboliter. Inga synbara negativa effekter kunde noteras av behandlingarna på rapsuppkomst eller på tillväxt i våra undersökningar. I genomsnitt uppmättes ökad höstrapsskörden upp till 32 %, och sammantaget fann vi att nettoskörden ökade med drygt 15 % i försöken. En ökning av skörd i snitt med 15 % betyder en extra skörd på 400 kg och med 32% på 900kg /ha. För närvarande fortsätter vi undersökningarna av tre bakterieisolat som isolerats från raps: AS9, AS12, AS13 och ett isolat från åkerfräken, S4, inom ett doktorand projekt (doktorand Saraswoti Neupane). Det verkar även finnas potential i t.ex. benmjöl, en möjlig åtgärd mot jordburen smitta i fält och höja skörden som är fortfarande outnyttjad.

Biologiska försök, och speciellt fältförsök har ofta stora problem med ofta stor variation i mätvärdena. Detta innebär att det är svårt att få signifikant säkra skillnader mellan behandlingarna. I vårt fall kan denna variation ha flera orsaker. Svårigheten att få tillräckligt med mikroorganismer att fästa sig på rapsfrönas glansiga ytor och skillnader i jordmån- och årsmån är bara några av dessa faktorer. Försöken visar dock en återkommande tendens till högre plantuppkomst och fröskörd efter behandlingarna med vissa mikroorganismer, och pekar mot att biologiska behandlingar kan lindra den negativa effekten av jordburna patogener på höstraps i ett tidigt stadium samt ger möjlighet att underlätta rapstillväxt i naturligt smittade fält.

Våra resultat är lovande för fortsatta undersökningar främst med fokus på 1) att vidare undersöka de patogenpopulationer som förekommer i *Verticillium*-smittade jordar, 2) att förbättra formulering och applicering av mikroorganismer på rapsfrö, 3) utvärdera effekter av mikroorganismer, 3) att ytterligare utvärdera behandlingseffekter av organiska 4) utvärdera effekter även i vårraps främst i syfte att skydda grödan mot bl a groddbrand i tidigt skede genom att inducera resistens för att lyckas med att minska variationen och får mer bestående effekt.

REFERENSER

- Attervall S. 1994. Kransmögel. Faktablad om växtskydd-jordbruk. 72 J. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala
- Alström Sadhna. 2006 "Vissnesjuka i svensk potatisodling – förekomst och betydelse" Slutrapport. SydSvensk Potatis forskning.
- Alström och Andersson 2008a. Växtpatogeners påverkan på uppkomst och etablering en produktionsbegränsande faktor i svensk oljeväxtodling ? SLF slutrapport.
- Alström S och Twengström E. 2006. Antagonistiska mikro-organismer och bioprodukter. En tvärvetenskaplig anstas till att reducera skördeförluster hos oljeväxter orsakade av Kransmögel. Slutrapport till SLF.
- Alström S och Andersson B. 2008. Bekämpningsstrategier mot kransmögel i raps baserade på tillförsel av antagonistiska mikro-organsimer. Slutrapport till SLF.
- Gunnarsson A (2002) Kransmögel (*Verticillium longisporum*) i höstraps- angrepps- och symptomutveckling samt inverkan på kvantitet och kvalitet. Examensarbete 51. SLU. Uppsala
- Berg G., Kurze J, Frankowski A, och R. Dahl. 2003. RhizoStar: a novel biocontrol product based on chitinolytic, *Serratia plymuthica* strain C48. Universitöt Rostock. Tyskland.
- Lazarovits G., Tenuta M and Conn K L. 2000. Organic amendments as a disease control strategy for soilborne diseases of high-value agricultural crops . Australasian Plant Pathology . 30: 2, 111-117.
- Duffy. B., Schouten A and J M. Raaijmakers. 2003. PATHOGEN SELF-DEFENSE: Mechanisms to Counteract Microbial Antagonism. Annu. Rev. Phytopathol. 2003. 41:501–38
- Narisawa K, Currah R S och Hashiba T. 2003. The root endophytic fungus *Phialocephala fortini* suppresses *Verticillium* yellows in Chinese cabbage. Plant Biotechnology Inst. Ibaraki Agriculture Centre, Japan.
- Wang, C., E. Knill, B.R. Glick, and D. Defago. 2000. Effect of transferring 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase gene into *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its *gacA* derivative CHA96 on their growth-promoting and disease-suppressive capacities. Can. J. Microbiol. 46: 898-907.

RESULTATFÖRMEDLING

- Alström S, Neupane S, Högberg N, Finlay, R and Andersson B. 2011. Use of bacteria indigenous to oilseed rape for enhanced crop yield. From field to genomics. Proc. Of 13th International GCIRC Rapeseed Congress. Prague, Czech Republic, June 5-9, 2011.
- Neupane S, Högberg N, Alström S., Andersson, B. and Finlay R. 2010. *Serratia* spp. – their role in antagonism against oilseed rape pathogens and in plant growth promotion. JGI Users meeting march 21-25, 2011, Wallnut creek, USA.
- Jonsson H. 2010. Bakterier bästa medicinen. Svensk frötidning. 6, sid 12
- Neupane S. , Högberg N., Alström S., Andersson B. and Finlay R. Functional characterization of four *Serratia* isolates in relation to their biocontrol efficacy against *Rhizoctonia solani*. IOBC workshop on biological control of fungal and bacterial plant pathogens, Graz, Austria, June 2010
- Neupane Saraswoti, Andersson B, Dahlberg C, Twengström E, and Alström, S. 2009. Soil borne pathogens involved in reduced emergence of oilseed rape in soils naturally infested with *Verticillium* spp. IOBC workshop on Multitrophic Interactions in soil, Uppsala, June 2009
- Alström S., Finlay R F., Paul L, Yahya A and B. Andersson. Microbial boosters to improve plant yield and performance in sustainable horticulture. All Africa Horticultural Congress 31 july – 3sept. 2009, Nairobi.
- Alström S. 2008. Exploring Micro-organisms for Sustainable Agriculture - Examples from Biological Control of Plant Diseases. Presentation för Madagaskar ministeriet inför besök till SLU.
- Neupane S.; B. Andersson and S. Alström. Effect of pathogens in pre- and post- emergence of oilseed rape. Nova course in Plant Pathology (2008). ABRMS Denmark.

Broschyrer: Alternativ bekämpning i oljeväxter utdelas på Fältdagar i Borgeby, juni 2009 och Potatisodlarmöten i Kristianstad 2009.

Återkommande diskussioner med Albin Gunnarsson, Svensk Raps.