

BNYVV på sockerbetor i Sverige – biologi och spridningsvägar

Anslagstagare Paula Persson, inst för växtproduktionsekologi, SLU, Uppsala

Ett delprojekt ur en större projektbidragsansökan med ovanstående titel blev beviljat med 130.000 kr per år i tre år. Den beviljade delstudien, det genomförda projektet, rubriceras:

Studier av *Polymyxa betae* för riskbedömning av *Rhizomania* i Sverige

Polymyxa beate är den jordburna svamp som överför det allvarliga betviruset beet necrotic yellow vein virus BNYVV som orsakar Rhizomania på sockerbetor.

Projektet genomfördes i två delar

- Analys av jordprover från fält avsedda för sockerbetsodling
- Temperaturstudie med bedämning av *Polymyxainfektion* samt hur tidigt BNYVV kan påvisas i rötter

Analys av jordprover

Material och metoder

Projektet startade med att utarbeta metodik för att studera *P. betae* och dess sporsamlingar s.k. cystosori i rötter samt en studie hur snabbt dessa utvecklas i rötterna dvs när man i ett experiment kan börja skörda plantor. En metod, som innebär att odla två veckor gamla betplantor i den jord man vill undersöka, en jord som också skall gå lätt att avlägsna från rötterna, har nu tagits fram. Metoden innebär att man i mikroskop studerar svampens kolonisering i enskilda betrötter samt ytterligare en metod som möjliggör kvantifiering av svampen i ett prov.

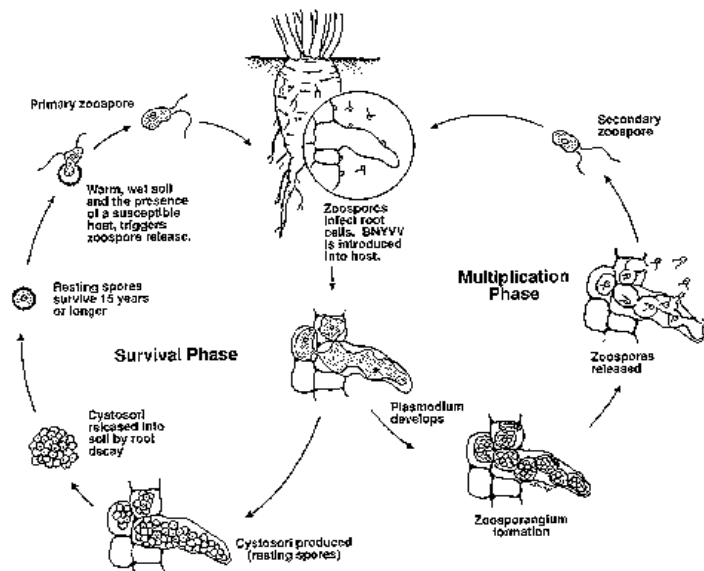
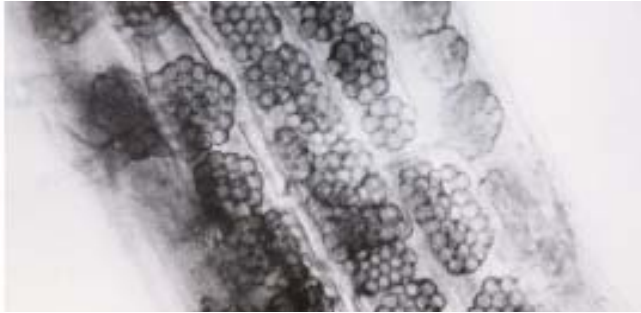


Figure 5. Life cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet. Rhizomania develops when zoospores carrying beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) introduce the virus into root cells. Once introduced, both virus replication and fungal development occur, resulting in the production of BNYVV-contaminated secondary zoospores and resting spores. The virus can persist for 15 years or longer within contaminated resting spores. When *P. betae* is not contaminated with BNYVV, infection of sugar beet by the fungus usually results in little damage. (Prepared by W.L. Sump and G.D. Franc).



Polymyxa beate i sockerbetsrötter: sporsamlingar s.k. cytosori

Studier har utförts på insamlade jordprover från 52 fält som används för sockerbetsodling samt ytterligare fyra prover från ett område med påvisad BNYVV smitta på Öland. Som positiv kontroll användes ett jordprov från Tyskland med mycket kraftig BNYVV-smitta. Två veckor gamla betplantor planterades i provjorden 1:1 blandad med små leca-kulor. Leca-kulor är ett mycket billigt och användbart växtsubstrat just för rotstudier. Fem betplantor från varje prov skördades och avlästes i mikroskop avseende *P. betae* förekomst.

Resultat och diskussion

Resultaten visade att 47 av de 56 undersökta prover innehöll *P. betae* och bevisar att svampen är mycket vanlig i jord ämnad för sockerbeter. Kvantifieringen visade att i 60 % av de undersökta prover förekom svampen rikligt. Några av prover var angripna av de patogena svamparna *Aphanomyces* sp. och *Pythium* sp.. I dessa dessa prover saknades *P. betae*. Dessa noterinear synes mycket sannolika då *Aphanomyces* är en betydligt aggressivare patogen än *P. betae* som under våra förhållanden räknas som en svag parasit.

Inom projektet har också genomförts ett 20-poängs examnstarbete.

Utvecklingen av fem *P. betae* isolat från skilda klimatområden studerades i klimatkammarförsök vid tre olika temperaturer, 8°C, 15°C och 20°C. Fem plantor från varje isolat och temperatur skördades under en sexveckorsperiod varje vecka, med start två veckor efter utplantering. En viss isolatvariation kunde noteras. Samtliga isolat visade redan efter två veckor vid de tre temperaturerna tydligt infektion i betrötterna. Ett av isolaten visade redan efter två veckor vid alla tre temperaturerna fullt utvecklade cystosori.

Agr.stud Mattias Hansson genomförde inom projektets ram ett examensarbete med titeln "Rhizomania - risker och förutsättningar i Sverige". I denna undersökning studerades *P. betae* infektioner vid olika temperaturer samt genom ELISA analys också hur tidigt Rhizomania viruset kunde detekteras i infekterade plantor. Resultaten visade också i denna undersökning att tidiga *P. betae* infektioner kunde konstateras, även vid låg marktemperatur. Viruset BNYVV kunde dock inte detekteras vid den lägsta försökstemperaturen 8°C, vilket skulle kunna indikera att risken för starka angrepp, under vårar med låg temperatur, är låg.

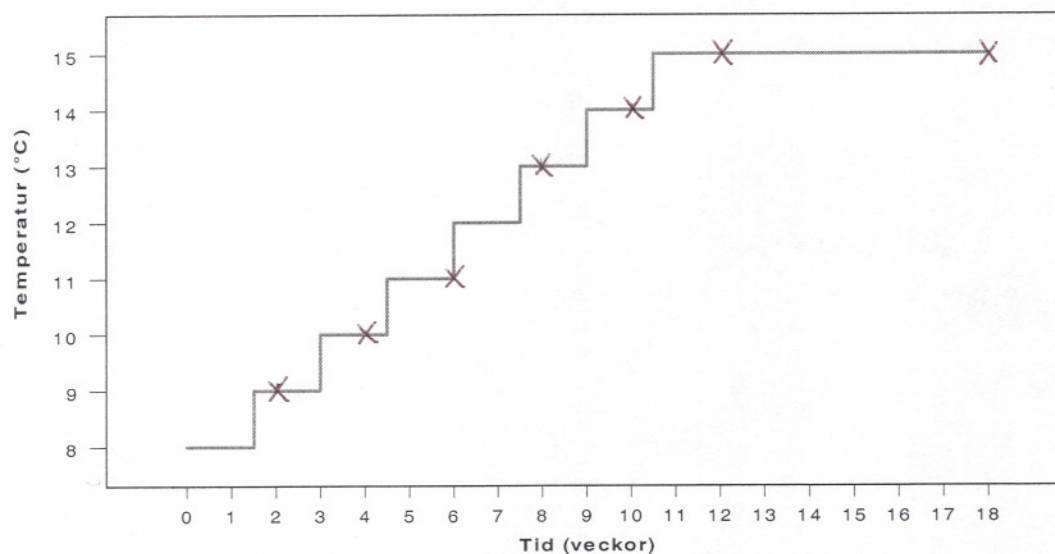
RHIZOMANIA – en temperaturstudie

Karin Hegart Helander

En temperaturstudie har genomförts för att bedöma hur stora riskerna är för betsjukdomen Rhizomania i Sveriges svala klimat. Viruset Beet Necrotic Yellow Vein Virus, BNYYV, och vektorn svampen *Polymyxa betae* har studerats i betrötter i en successivt ökande temperatur för att se när infektionen sker. Jordar med känd BNYYV-smitta från flera olika geografiska ursprung har använts i studien.

FÖRSÖKSUPPLÄGGNING

Försöket utfördes i klimatkammare där temperaturen startade vid 8°C och sedan stegvis höjdes till 15°C för att efterlikna en "kall vår" (Fig. 1).



Figur 1. Temperaturkurva. x = provtagningstillfällena.

Tio jordar med känd BNYVV-smitta (Led A-J) och två kontrolljordar (Led K-L) användes (Tab. 1).

Tabell 1. Jordar.

<u>Led</u>	<u>Ursprung</u>
A	Kristianstad
B	Kristianstad
C	Kristianstad
D	Kristianstad
E	Löderup
F	Löderup
G	Löderup
H	Smedby, Öland
I	Smedby, Öland
J	Bologna, Italien
K	Uppsala
L	blomjord+sand

Jorden blandades 1:1 med lecakulor (2-6 mm) och fylldes i 12 cm krukor med fiberduk i botten. Två veckor gamla betplantor av den mottagliga sorten Accord skolades ut i försökskrukorna, 10 betplantor/kruka. För varje led var det 7 krukor, 1 kruka för varje provtagningstillfälle. Ljusperioden var 16 tim/dygn.

Betplantor skördades för provtagning 2, 4, 6, 8, 10, 12 och 18 veckor efter utskolningen till försökskrukorna (se Fig. 1). Betrötterna tvättades fria från jord och 5 plantor användes till BNYVV-analys med ELISA och 5 plantor till Polymyxa-analys genom mikroskopering.

Jordprovstest för kontroll av BNYVV

Innan temperaturstudien gjordes en test av jordarna för att undersöka att de verkligen innehöll BNYVV. Även efter temperaturstudien undersöktes de använda jordarna för att se om/hur BNYVV-smittan förändrats.

50 g jord och 50 ml vatten slammades upp i en plastmugg. Tio betplantor, 2 veckor gamla, placerades i varje mugg. Dessa hölls vid 25°C och hög fuktighet i 2 veckor och därefter testades rötterna med ELISA.

BNYVV-analys med ELISA

Rötter från 5 plantor utgjorde 1 prov som krossades i en Pohlänen-press och saften samlades upp i rör. BNYVV-analys gjordes med TAS-ELISA (triple antibody sandwich) från Adgen, Scotland. Testen utfördes enligt tillverkarens protokoll.

Polymyxa-analys genom mikroskopering

Rötter från 5 plantor utgjorde 1 prov. Polymyxa-infektion fastställdes genom att i mikroskop leta efter svampens vilsporor. Rötterna färgades enligt: 10% KOH-lösning 60-70°C i 3 min, sköljning H₂O, 2% färg i vinäger 60-70°C i 3 min, sköljning H₂O. Sedan gjordes preparat på objektglas där det var viktigt att krossa rötterna för att få dessa tillräckligt tunna.

RESULTAT

Alla de tio jordarna med känd BNYVV-smitta visade sig i jordprovstestet innehålla BNYVV, ELISA-värdena var höga (Tab. 2).

Tabell 2. Jordprovstest för kontroll av BNYVV. Jordar före temperaturstudien.

<u>Led</u>	<u>ELISA-värden ($A_{405\text{ nm}}$, 60 min)</u>
A	2,8
B	3,3
C	3,3
D	3,3
E	3,3
F	2,0
G	2,4
H	1,8
I	2,8
J	3,3
K	0
L	0

Vid de första provtagningarna syntes ingen BNYVV. Först vid provtagningen efter 10 veckor, när temperaturen kommit upp till 14°C, blev det svaga positiva utslag för BNYVV. ELISA-värdena var runt 0,2 i några led. Efter 18 veckor, när temperaturen varit 15°C en längre tid, var det fler led som hade låga ELISA-värden runt 0,2. Då hade också ett led nått upp till 0,7 och ett annat till 2,3. (Tab. 3).

Tabell 3. BNYVV. ELISA-värden ($A_{405\text{ nm}}$, 60 min).

Led	Tid						
	2v	4v	6v	8v	10v	12v	18v
A	0	0	0	0	0	0,14	0
B	0	0	0	0	0	0	0,22
C	0	0	0	0,13	0,19	0,13	0,72
D	0	0	0,14	0,14	0,2	0,19	2,36
E	0	0	0	0,12	0,16	0	0,21
F	0	0	0	0	0	0	0,19
G	0	0	0	0	0	0	0,24
H	0	0	0	0	0	0	0,12
I	0	0	0	0	0	0	0
J	0	0	0	0	0	0	0
K	0	0	0	0	0	0	0
L	0	0	0	0	0	0	0

Vid de första provtagningarna syntes inga vilsporer av Polymyxa. Först vid provtagningen efter 6 veckor, när temperaturen kommit upp till 11°C, hittades vilsporer i några led där få rotbitar var angripna. Efter 18 veckor, när temperaturen varit 15°C en längre tid, hittades vilsporer i flera led där flera rotbitar var angripna. Samtidigt var många rötter helt friska i dessa led(Tab. 4).

Tabell 4. Polymyxa vilsporer vid mikroskopering.

Led	Tid						
	2v	4v	6v	8v	10v	12v	18v
A	-	-	-	-	-	+	-
B	-	-	+	+	-	-	++
C	-	-	+	-	-	-	+
D	-	-	+	-	+	-	+++
E	-	-	-	-	-	-	+
F	-	-	-	-	+	-	++
G	-	-	-	-	+	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-	-	-
J	-	-	-	-	-	-	++
K	-	-	-	-	-	-	-
L	-	-	-	-	-	-	-

+ = få rotbitar angripna

++ = flera rotbitar angripna

+++ = många rotbitar angripna

I jordprovstestet efter temperaturstudien hade BNYVV-smittan sjunkit eller försvunnit, fyra av jordarna gav ELISA-värden på 0,3-0,7 medan sex av jordarna gav 0 (Tab. 5).

Tabell 5. Jordprovstest för kontroll av BNYVV. Använda jordar efter temperaturstudien.

<u>Led</u>	<u>ELISA-värden ($A_{405\text{ nm}}$, 60 min)</u>
A	0
B	0,7
C	0,6
D	0,3
E	0,7
F	0
G	0
H	0
I	0
J	0
K	0
L	0

SAMMANFATTNING

När infekteras betrötterna av Polymyxa och BNYVV? När temperaturen i denna studie nått 11°C hittades vilsporer av Polymyxa och vid 14°C blev det svaga positiva utslag för BNYVV. Först när temperaturen varit 15°C en längre tid var fler led infekterade av Polymyxa och angreppen var även kraftigare. BNYVV hade då också hittats i fler led och ELISA-värdena var högre. Endast ett led hade dock höga halter av både Polymyxa och BNYVV. I några led hittades varken Polymyxa eller BNYVV. Det skulle kunna förklaras med att när temperaturen hade blivit högre var plantorna äldre och mer motståndskraftiga mot angrepp.

Kraftiga angrepp av Rhizomania kan ske under gynnsamma förhållanden, dvs hög temperatur och hög fuktighet. Resultaten från denna undersökning tyder dock på att det inte är några stora risker för Rhizomania i Sverige under en "kall vår".

I jordprovstestet efter temperaturstudien hade BNYVV-smittan sjunkit eller försvunnit. Det skulle kunna tyda på att de flesta vilsporer av Polymyxa kläckt under temperaturstudien.

Publikationer och resultatförmedling

Hansson, M. Rhizomania - risker och förutsättningar i Sverige. 1999. En undersökning av vektorn *Polymyxa betae* och Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV) vid olika temperaturer. Examenarbeten/Seminarieuppsatser 20. Institutionen för ekologi och växtproduktionslära, SLU, Uppsala

Projektet och resultaten är förmedlade i grundutbildningen i växtpatologi vid SLU i Uppsala