

EPIDEMIOLOGI AV POTATISBLADMÖGEL

Slutrapport av projekt S0649005

Sökande: Professor Jonathan Yuen
Fältpatolog Björn Andersson
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi, SLU

BAKGRUND

Den intensiva användningen av bekämpningsmedel i potatis utgör ett hot mot konsumenternas förtroende för potatis som livsmedel. Den största delen av den kemiska bekämpningen i potatis består av fungicider som används mot potatisbladmögel. Svenska odlare upplever ökande problem med att klara av denna växtsjukdom, och bekämpningen blir allt mera intensiv. Trots detta uppträder sjukdomen alltmera "aggressivt" i potatisfälten. Angreppen kommer tidigare och utvecklas snabbare än vad som tidigare var fallet.

Skadegöraren som orsakar bladmögel och brunröta på potatis (*Phytophthora infestans*) introducerades i Europa under 1800-talet, och troligen följde smittan med vid import av utsäde från Nordamerika. *Phytophthora infestans* har två så kallade parningstyper (A1 och A2) som fungerar som två kön. Teorin är att bara en parningstyp (A1) introducerades i denna första migration av patogenen, men ny import under 1970-talet av potatis från Mellanamerika förde in nya stammar av patogenen, däribland parningstyp A2 (Fry et al. 1993). I Sverige konstaterades förekomst av A2 i mitten av 1980-talet (Kadir & Umaerus 1987). När endast en parningstyp finns i populationen är *P. infestans* hänvisad till att enbart kunna sprida sig från en säsong till nästa som levande mycel i infekterade knölar. Sexuell förökning av *P. infestans* medför bildning av oosporer, en hårdig förökningskropp som kan överleva ogynnsamma förhållandena, till exempel perioder utan tillgång till en levande värdväxt. Varje oospor är en unik genotyp, som kan övervintra i jord och ge upphov till infektioner så snart förhållandena är gynnsamma och en värdväxt finns tillgänglig. Man kan på detta på detta sätt få infektioner från en mängd genotyper, jämför med ett fåtal vid infektion från en klonal population via smittade knölar.

Det är konstaterat att oosporer av *P. infestans* kan bildas i fält under svenska förhållanden (Dahlberg, 2001; Hjelm, 2003), och att dessa kan fungera som primärinokulum (Andersson et al., 1998, Widmark et al., 2007, Widmark et al., 2011). Analyser visar på en mycket stor genetisk variation i nordiska populationer av *P. infestans* (Hermansen et al., 2000, Brurberg et al., 2011, Sjöholm et al., 2013), något som pekar på ett stort inflytande av sexuell förökning och infektioner från oosporer.

Sexuell förökning av *P. infestans* innebär alltså att patogenen antingen kan övervintra som levande mycel knölar eller som oosporer i marken. Infekterade knölar kan finnas i utsäde, som överliggare eller i avrenshögar. Från dessa infekterade knölar växer svampen upp med skotten och kan sedan spridas vidare i plantan. Oosporerna infekterar antingen det växande skottet under jord, eller blad som ligger mot marken. Smittan förs sedan vidare till de närmaste plantorna genom regn eller bevattning. Från det att en "primärfläck" har bildats i fältet kan man räkna med att det tar 10-14 dagar innan tillräckligt mycket inokulum bildats för att det övriga fältet och kringliggande potatisodlingar skall kunna infekteras. Spridning över längre avstånd sker med vind. Bildningen av nya sporangier äger rum företrädesvis nattetid och behöver perioder om 10 timmar med luftfuktighet större än 90 % och temperaturer mellan

17-21 °C. De nybildade sporangierna sprids sedan nästa morgon då de frigörs när luftfuktigheten sjunker. För att dessa sporangier skall infektera nya blad krävs fyra sammanhängande timmar med fritt vatten på bladen och en temperatur på optimalt 10-12 °C. Ju längre den våta perioden är, desto fler sporangier kan infektera. Svenskt sommarväder ger ofta nära optimala temperaturer för sporangiebildning dagtid och infektion nattetid. Tillgången på vatten är dock begränsande. Speciellt sporangiebildningens krav på långa sammanhängande perioder med hög luftfuktighet och värme inträffar mera sällan.

Instrålning reducerar livslängden hos sporangier av *P. infestans*. En solig dag överlever sporangierna bara några få timmar, och detta medverkar till att kraftigt minska spridningen av patogenen. Molnigt väder medger längre överlevnad, men minskar samtidigt mängden producerade sporangier på grund av mindre daggbildning. Spridning av sporangierna kräver en snabb nedgång i luftfuktighet, något som kännetecknar en solig morgon (Mizubuti et al., 2000). Man kan alltså säga att väder som är bra för sporulering och spridning av *P. infestans* är dåligt för överlevnad och vice versa.

I detta projekt tittade vi på när på dygnet sporangier frigörs och vilka faktorer styr detta. En annan frågeställning var hur länge sporangierna överlever, och hur överlevnaden påverkas av faktorer som instrålning, luftfuktighet, och temperatur. Vi ville också studera transport av sporangier över längre avstånd och som ett resultat av detta, hur den genotypiska variationen av *P. infestans* ändras under säsongen.

METODER

Sporspridning och infektion

Under två år anlades fältförsök på Ultuna, Uppsala. En ruta (40 x 20 m) sattes med sorten Bintje i första veckan i juni. Första året inokulerades försöket med tre kända isolat av *P. infestans* genom att plantor i försöksrutans ytterrada sprutades med sporangiesuspensioner (20 ml/planta 10000 spor/ml) av de tre isolaten (6 plantor per isolat). År 2 inokulerades inte försöket. Båda åren sattes en Burkard sporfälla ut i försöken i mitten av augusti. Med hjälp av denna samlas sporer i luften in och avsatts på en klisterremsa, och sporspridningen över tiden registreras.

I försöken sattes sex växthusodlade Bintjeplantor ut vid sporfällan. För att behålla ett normalt beståndsklimat även vid ett långt gånget angrepp av bladmögel sattes en rad med den mycket bladmögelresistent sorten Sarpo Mira runt sporfällan, se figur 1. Fångstplantorna byttes ut dagligen ca klockan 16. Efter att ha stått ute i försöket ett dygn togs plantorna in i växthus. Det första försöksåret sattes tre av fångstplantorna torra i en växthuskammare, medan de andra tre sprayades med vatten och fick stå över natten i en plastpåse. Följande morgon togs plastpåsen bort och plantan sattes ut i växthuskammaren. Andra försöksåret inkuberades alla plantor torrt. Väderdata togs från Ultuna väderstation.

Genetisk variation och migration

Under det andra försöksåret samlades prover för genotypning in en gång tidigt (mitten av augusti) och en gång sent i bladmögelepidemin (slutet av augusti). Vid varje provtagning togs fem bladprover på 10 ställen i försöksrutorna. Bladen förvarades torrt för senare genotypning. I en samordnad nordisk studie samlades isolat av *P. infestans* samlades in under växtsäsongen 2008 med så kallad stratifierad provtagning med land, fält -och sjukdomshärdar som olika provtagningsnivåer. Alla insamlade prover analyserades med hjälp av så kallade mikrosatellit-markörer för att bestämma den genotypiska variationen i det provtagna materialet. Extraktion av DNA och genotypning genomfördes enligt Grönberg et al., 2012.

RESULTAT

Väder och sjukdomsutveckling

Förhållandena under det första årets försök kännetecknades av soligt och torrt väder. Det andra försöksårets väder var kallare och våtare, det vill säga mera gynnsamt för bladmögel, se tabell 1. Detta återspeglades i utvecklingen av bladmögel i de två försöken. År 2007 observerades de första angreppen på ej inokulerade plantor en dryg vecka efter inokulering, den 4 augusti. Det torra vädret under den tid då försöket pågick gjorde att det tog mer än en månad för angreppen att orsaka 100 % nedvissning.

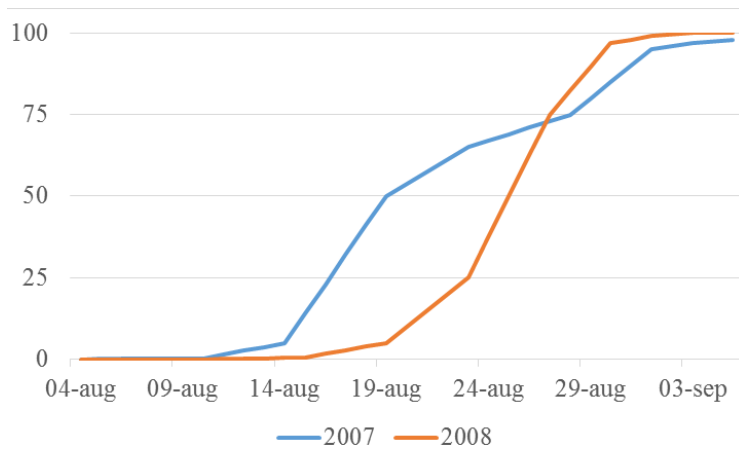


Figur 1. Försöksruta med sporfälla och fångstplantor.

Tabell 1. Uppmätta värden för luftfuktighet, regn och globalstrålning under tiden 18 aug till 26 augusti på Ultuna väderstation.

År	Luftfuktighet %, medeltal	Nederbörd mm, summa	Globalstrålning W/m2, medeltal
2007	67	0	193
2008	80	14	157

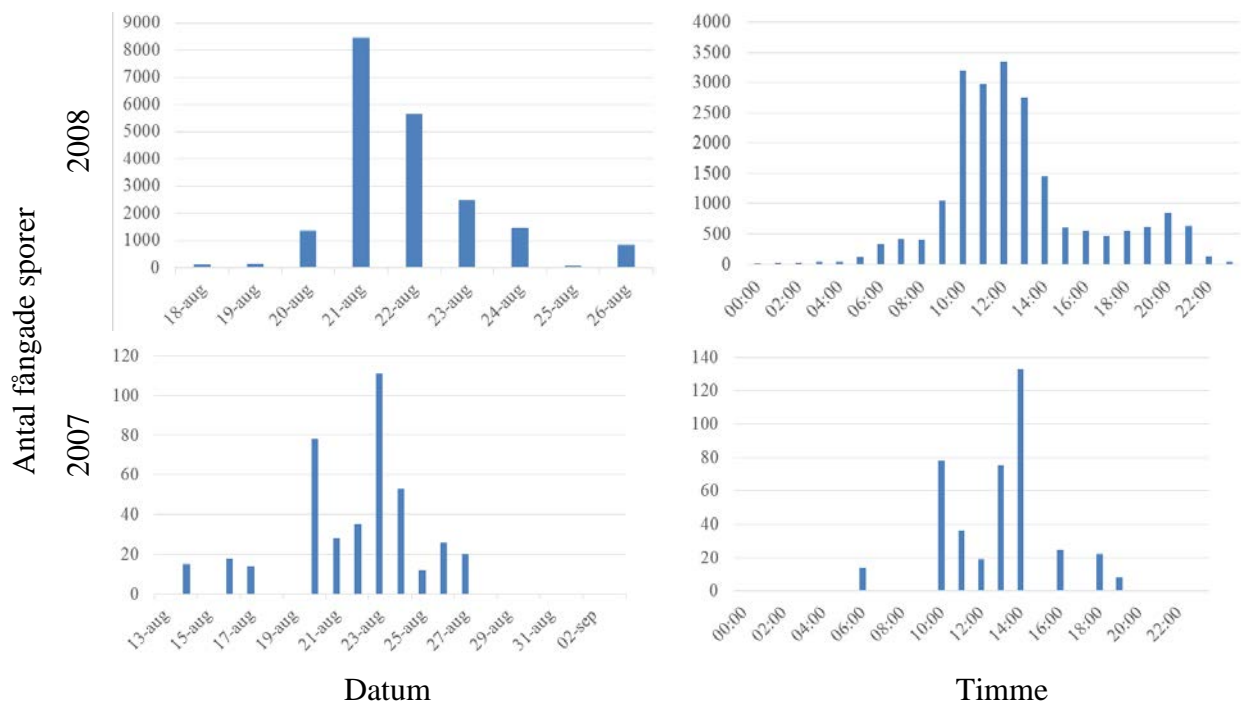
Det andra året inokulerades inte försöket. Angrepp startade något senare jämfört med året innan, första angrepp observerades den 11 augusti. Därefter gick epidemin snabbt och nådde 100 % angrepp efter tre veckor. Figur 2 visar förloppet av bladmögelangreppen i de två försöken.



Figur 2. Utveckling av potatisbladmögel (*Phytophthora infestans*) i två försök på Ultuna

Sporspridning

Sporfällorna visade mycket stor skillnad i mängden fångade sporangier mellan de två åren, se figur 3. Tidigare erfarenheter visar på att detta berodde på inställningar hos fällan och inte på faktiska skillnader i mängden sporangier i luften. Båda åren visar dock samma mönster vad det gäller fördelningen av sporspridningen över dygnet.



Figur 3. Antal fångade sporangier av *P. infestans* per dygn respektive timme.

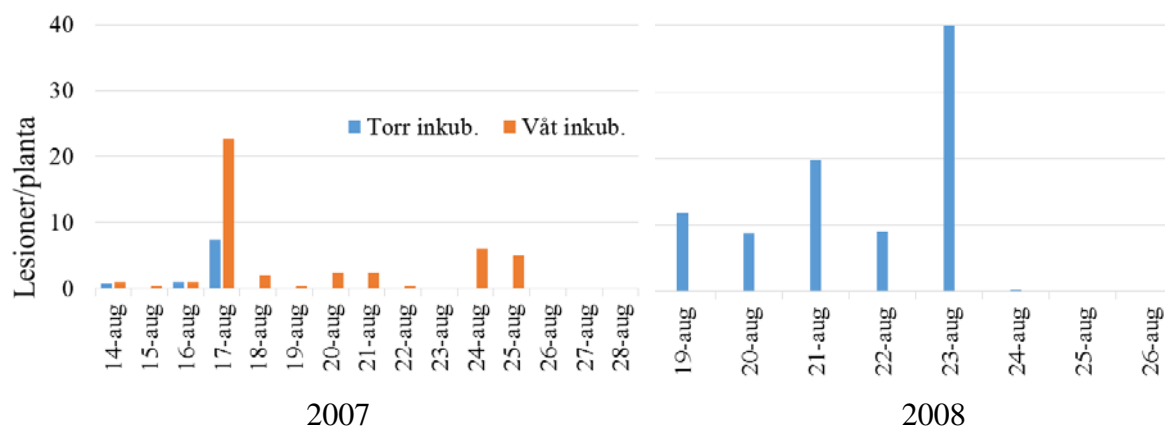
De flesta sporangierna fångades mellan klockan 10 och 14, något som stämmer med teorin om att sjunkande luftfuktighet på morgonen frigör sporangierna. Ett viktigt resultat är dock att mängder sporangier fångades under i stort sett hela dygnet, speciellt under kvällen – natten fram till midnatt.

Fångstplantor och infektion

Under 2007 kännetecknades vädret under tiden fångstplantorna stod i försöket av klart och varmt väder. Trots en intensiv instrålning visar resultaten att infektion kunde ske mellan

spridning och intagning av fångstplantorna under tre dagar av de 15 dagar (13 till 28 augusti) som fångstplantor placerades i försöket, se figur 4 ”Torr inkub.”. Våt inkubering visade att sporangier oftast överlevde på bladen under dagen och kunde infektera natten efter spridning under 11 av de 15 dagarna som försöket pågick.

Under 2008 pågick försöket under kortare tid på grund av ett snabbare sjukdomsförlopp i fält. Detta år sattes fångstplantor ut mellan den 18 och 28 augusti. Endast torr inkubering användes detta år då erfarenheterna från föregående år visat att våt inokulering gav angrepp i stort sett alla dagar. Fångstplantorna från sex av de nio dagar (18 till 26 augusti) som försöket pågick visade bladmögelsymtom efter torr inokulering.

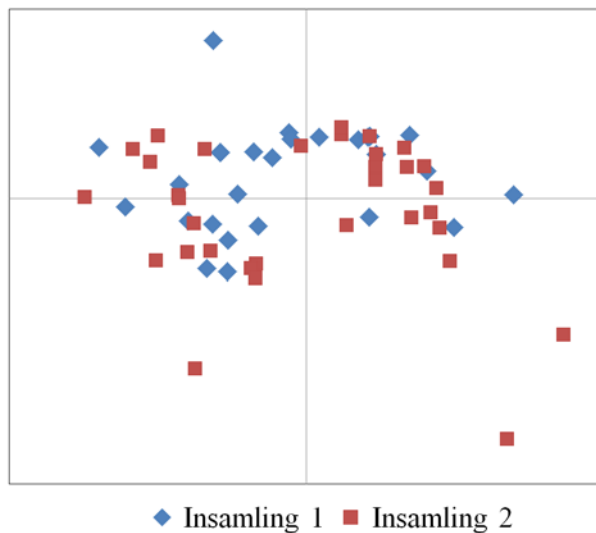


Figur 4. Medeltal av antal lesioner per planta av *P. infestans* på fångstplantorna

Korrelationen mellan väderdata och antal infekterade plantor från torrinkubering varierade från år till år. Väderdata från 2007 visar små mängder regn den 15 och 16 augusti, som kan förklara att infektion skedde i fält på torr-inkuberade plantor den 17. Instrålningen var också låg den 15 augusti (8,44 MJ/m², jämfört med ett medelvärde för augusti 2007 på 15,5 MJ/m²). Angreppsnivån (antal infektionspunkter) på de torr-inkuberade plantorna från försöket 2008 hade ingen stark koppling till väderdata. Många plantor visade infektion den 23 augusti, men det var det regnade inte alls den 22:a, men däremot regnade det 6,9 mm den 21:a augusti. Inte heller kunde någon tydlig korrelation mellan angreppsnivå och instrålning observeras, förutom möjligtvis den låga instrålningen den 21:a augusti (7,57 MJ/m²).

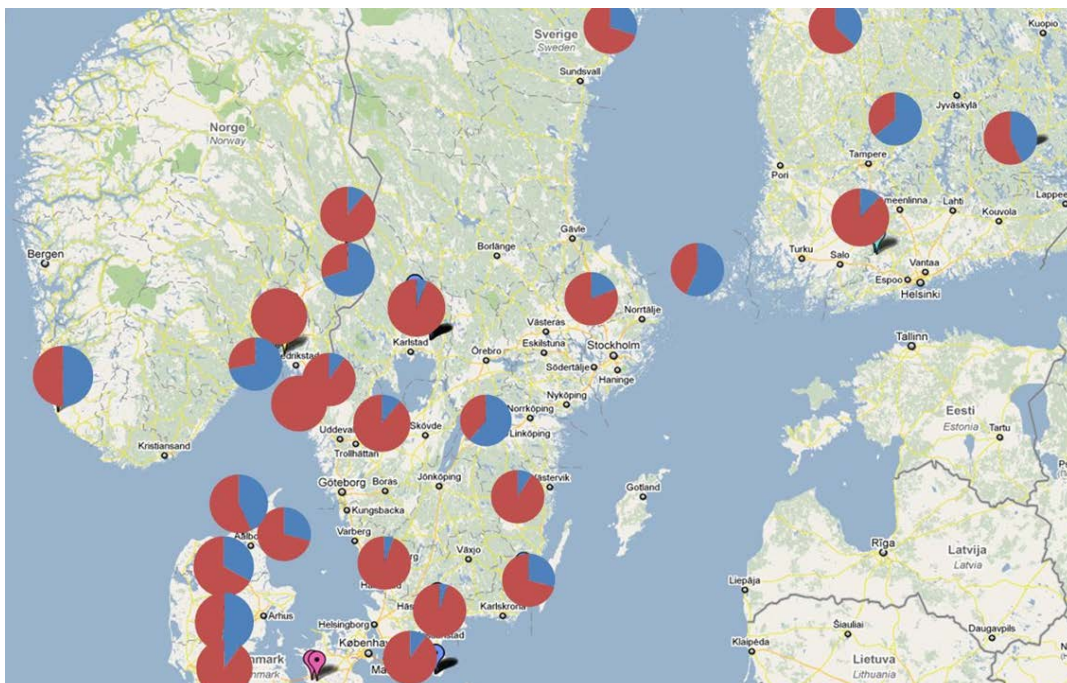
Genetisk variation och migration

Provtagningen i försöket på Ultuna, Uppsala visade en mycket stor genotypisk variation. Vid den första provtagningen hittades 23 olika genotyper i 30 analyserade prover. Vid andra provtagningen var motsvarande siffror 32 av 46. I båda provtagningarna hittades endast ca 10 % av genotyperna mer än en gång. Den klonala spridning av enstaka genotyper var dock något större vid den senare insamlingen. De upprepade provtagningarna visade att alla observerade genotyper av bladmögelpatogenen i stort sett helt byttes ut mellan de två provtagningstillfällena. Endast två genotyper påträffades vid båda provtagningarna. En analys visar dock att den genetiska skillnaden små mellan de insamlade proverna av *P. infestans* var mycket liten, och att proverna från de två insamlingarna helt överlappade varandra, se figur 5.

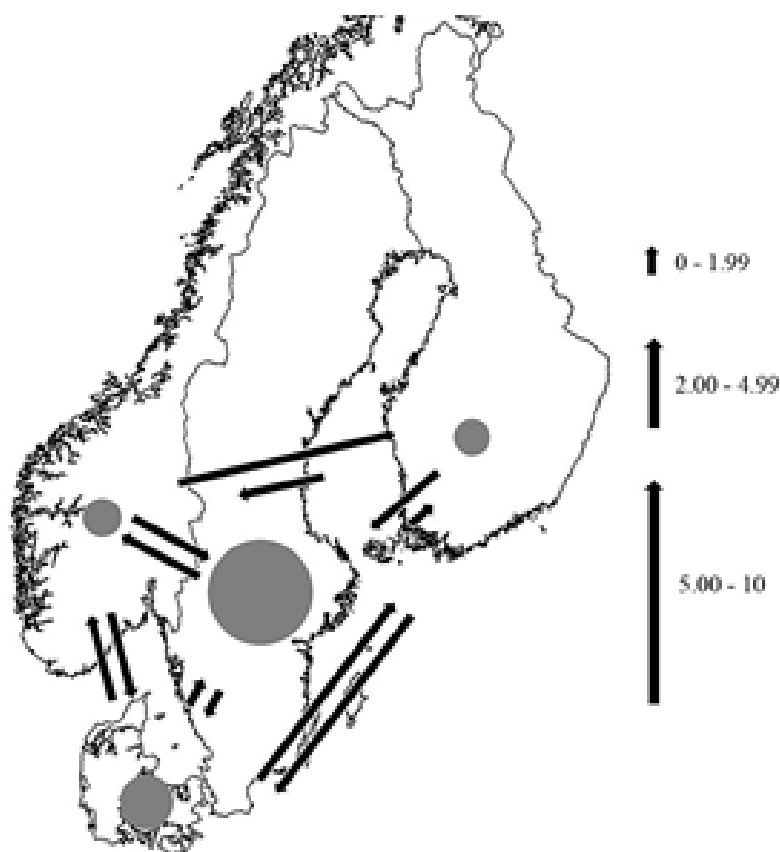


Figur 5. Plot av principalkomponentanalys (PCA) baserat på genetisk skillnad mellan isolat av *Phytophthora infestans* från två provtagningar från ett fält i Uppsala 2008.

Resultaten från den sam-nordiska insamlingen visar en mycket stor genotypisk variation av *P. infestans* även på en större geografisk skala, se figur 6. I 850 analyserade prover hittades mer än 500 unika genotyper. De flesta genotyperna hittades bara en gång, och inga genotyper påträffades i mer än ett fält. Den största delen av den genotypiska variationen observerades inom fälten, medan skillnaden mellan fälten var låg. Ytterligare analyser pekade på att sexuell reproduktion av *P. infestans* är vanligt förekommande i Norden, och att detta har en stor effekt på populationen av *P. infestans*. Detta indikerar i sin tur att oosporer har stor betydelse som smittkälla för bladmögel i de nordiska länderna.



Figur 6. Genotypisk variation hos *Phytophthora infestans* i Sverige, Norge och Danmark. Varje cirkel representerar ett fält. Del av cirklar i rött visar andel unika genotyper, blått visar andel genotyper som hittades mer än en gång i respektive fält



Figur 7. Migrationsmönster och populations-storlek hos *Phytophthora infestans* i de nordiska länderna. Cirklarna representerar den effektiva populationsstorleken och pilarnas längd motsvarar storleken på migrationen

Sammantaget kunde inte analyserna inte stödja en gemensam population för de fyra länderna, vilket indikerar en viss geografisk differentiering. Analyserna av migrationsmönster visar olika nivåer av genflöde mellan de nordiska länderna. Inget samband mellan migrationen och geografiskt avstånd kunde observeras, se figur 7 (Sjöholm et al., 2013).

DISKUSSION

Sporangier av *Phytophthora infestans* produceras under långa fuktiga perioder, vilket inträffar främst nattetid. De bildade sporangierna frigörs när luftfuktigheten sjunker, något som oftast inträffar på morgonen. Resultaten från sporfällorna visar att sporangier av *P. infestans* främst frigjordes mellan kl 10 och 14. Detta stöder tanken på en koppling mellan sjunkande luftfuktighet och frigörelse av sporangier av *P. infestans*, men vi visar också att en väsentlig del av spridningen sker senare på eftermiddagen och kvällen fram till midnatt.

Vid dagbildning på bladen som ger fritt vatten på bladen några timmar efter soluppgången kan sporangier av *P. infestans* gro och infektera. Utan bladfukt på morgonen, måste sporangierna överleva tills nästa fuktperiod för att infektera potatisgrödan. Överlevnad av sporangier begränsas av instrålning. För infektionsstudierna med fångstplantor var hypotesen att angrepp på plantor som inkuberades torrt visade att infektion hunnit äga rum tiden mellan då sporangierna frigjorts (vilket vi antog skulle ske runt kl 10 – 14) och klockan 16 då plantan togs in. Om angrepp uppkom på plantor som inkuberats vått hade dessutom sporangierna som

överlevt dagen ute i försöket kunnat infektera. Andra studier har visat på solljus kan döda sporangier på mycket kort tid, men genom att använda fångstplantor i ett naturligt bestånd av potatis kunde vi få resultat som ligger närmare en praktisk situation i ett potatisfält. Resultat visade att fångstplantorna nästan alltid visade angrepp vid våt inkubering. Även vid torr inkubering visade angrepp på fångstplantorna, speciellt under 2008 då vädret inte var lika soligt som 2007. Detta tyder på att plantorna ofta infekterades under de 24 timmar de stod i fältet. Troligen orsakades dessa infektioner av sporangier spridda under förnatten. En stor mängd sporangier spreds visserligen mellan 10 och 14, men tiden tills det att plantorna togs in var för kort för infektion.

Det stora antalet olika genotyper av *P. infestans* som hittades i försöket 2008 visade på den stora variation som finns i den svenska populationen av patogenen. Upprepad provtagning i försöket visade på det stora inflödet av nya genotyper. På två veckor byttes hela populationen av patogenen ut.

På grund av den stora genetiska variationen i den nordiska populationen av *P. infestans* visade det sig omöjligt att studera spridning av enstaka genotyper. Vi valde istället att göra en större, sam-nordisk populations- och migrationsstudie. Analyser av de insamlade proverna av *P. infestans* visade att migrationen mellan Sverige och Danmark låg, trots det korta geografiska avståndet och handeln med utsäde mellan dessa två länder. I jämförelse av däremot migrationen mellan Sverige och Norge större. Detta kan förklaras av olika grad av genetisk likhet mellan patogenpopulationerna i de olika länderna. Migration innebär införsel av nya genotyper. Ju mera lika två populationer är, desto mindre blir chans att en genotyp som transporteras in är en som inte redan finns i den mottagande populationen.

PUBLIKATIONER

Sjöholm, Lina, 2012. How sexual reproduction affects the population biology of *Phytophthora infestans*. Doktorsavhandling. Sveriges lantbruksuniversitet, *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, **2012:93**. 1652-6880;. ISBN 978-91-576-7740-2.

<http://pub.epsilon.slu.se/9278/>

SLUTSATSER

De gällande bilden av spridning av bladmögel är att den sker genom luftburna sporangier som bildas under fuktigt och kyligt väder nattetid, och sedan frigörs på förmiddagen när luftfuktigheten sjunker på grund av stigande temperaturer. Resultaten från detta projekt visar dock att en avsevärd del av sporangierna även kan spridas under eftermiddag och kväll. En viktig faktor för hur länge de frigjorda sporangierna lever är solstrålning, och redan en timmes solljus kan räcka för att döda en stor andel av bladmögelsporangier. Utsättning av fångstplantor visade dock att sporangier kunde överleva en solig dag i ett potatisbestånd och infektera natten efter spridning. Detta är viktig information för utformandet av prognossystem för bladmögel.

Den genotypiska variationen i populationen hos *P. infestans* i försöken i projektet var så stor att det inte var möjligt att följa enstaka genotyper (individer) av patogenen. Populationen skiftade under tiden försöket pågick, men inga dominerande kloner kunde konstateras. I till exempel Storbritannien skiftar virulens (förmågan att angripa sorter med rasspecifik resistens) andelen fungicidresistens mellan år på grund av att olika kloner dominerar olika år. Detta har ställt till med problem i potatisodlingen där. Frånvaron av sådana aggressiva kloner i Sverige gör att risken för snabba skiften i hur bladmögel uppträder i fält minskar.

RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN

Resultat från projektet har presenterats vid ett 10-tal odlarmöten, vid ett antal fältvandringar anordnade av olika rådgivarorganisationer samt vid tre möten arrangerade av bekämpningsmedelsfirmor. Dessutom har projektet diskuterats och presenterats vid tre internationella konferenser.

REFERENSER

Andersson B, Sandström M, Strömberg A, 1998. Indications of soilborne inoculum of *Phytophthora infestans*. *Potato Research* **41**, 305-10.

Brurberg MB, Elameen A, Le VH, *et al.*, 2011. Genetic analysis of *Phytophthora infestans* populations in the Nordic European countries reveals high genetic variability. *Fungal Biology* **115**, 335-42.

Dahlberg, J. 2001. Fältinventering av oosporbildning hos *P. infestans*. *Examensarbeten* **2001:43**. Institutionen för ekologi och växtproduktionslära. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala

Hjelm, H. 2003. Oosporer av *Phytophthora infestans* som inokulumkälla. *Examensarbete* **2003:59**. Institutionen för ekologi och växtproduktionslära. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala

Grönberg L, Andersson B, Yuen J, 2012. Can weed hosts increase aggressiveness of *Phytophthora infestans* on potato? *Phytopathology* **102**, 429-33.

Hermansen A, Hannukkala A, Naerstad RH, Brurberg MB, 2000. Variation in populations of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway: mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype. *Plant Pathology* **49**, 11-22.

Mizubuti ESG, Aylor DE, Fry WE, 2000. Survival of *Phytophthora infestans* sporangia exposed to solar radiation. *Phytopathology* **90**, 78-84.

Sjöholm L, Andersson B, Högberg N, Widmark A-K, Yuen J, 2013. Genotypic diversity and migration patterns of *Phytophthora infestans* in the Nordic countries. *Fungal Biology* **117**, 722-30.

Widmark AK, Andersson B, Cassel-Lundhagen A, Sandstrom M, Yuen JE, 2007. *Phytophthora infestans* in a single field in southwest Sweden early in spring: symptoms, spatial distribution and genotypic variation. *Plant Pathology* **56**, 573-9.

Widmark AK, Andersson B, Sandstrom M, Yuen JE, 2011. Tracking *Phytophthora infestans* with SSR markers within and between seasons - a field study in Sweden. *Plant Pathology* **60**, 938-45.