

Synergi vid bekämpning mot potatisbladmögel; Inducerad resistens och fungicider

Slutrapport för SLF-projektet S0649003

Erland Liljeroth, Växtskyddsbiologi, SLU, Alnarp

Medökande: Erik Andreasson, Lund Universitet och Lars Wiik, SLU, Alnarp

Bakgrund

Potatisbladmögel orsakat av oomyceten *Phytophthora infestans* är ett mycket stort problem i Sverige och övriga världen och för att odlingen skall klaras med nuvarande sortmaterial behövs en omfattande kemisk bekämpning (10-15 gånger per odlingsäsong). Det är av många skäl angeläget att minska behovet av kemisk bekämpning. Målsättningen med detta projektet var att testa om inducerad resistens mot potatisbladmögel kan användas i fält tillsammans med fungicider och om man får synergieffekt mellan växtens försvar och fungicidens giftverkan. Som inducerande ämne används beta-amino-butyric-acid (BABA) och som fungicidpreparat har vi använt Shirlan. Om man genom att kombinera dessa metoder kan få samma bekämpningseffekt med lägre dos fungicid skulle detta vara ett bidrag till minskad fungicidanvändning.

Material och Metod

Växthusförsök

Som beskrevs i ansökan har växthusförsök endast gjorts i begränsad omfattning. Vi beslutade att första året främst undersöka varaktigheten av BABA-effekten som grund för val av intervall vid nästa års fältförsök. Potatis (Bintje, Utsäde Klass S1, Weibull Trädgård AB) odlades i krukor med ca 2 liter jord, som bevattnades med näringslösning. I ett försök jämfördes Bintje med Ovatio och Superb, två sorter med partiell resistens.

Försök 1. Tre behandlingar jämfördes: 1. Obehandlad kontroll, 2. Bladapplicering med BABA och 3. Applicering av BABA i jorden ("soil drench"). Vid bladapplicering, led 2, sprayades en vattenlösning av BABA (1 g BABA/liter, motsvarande 27 mg/planta) över bladmassan och i led 3 applicerades BABA upplöst i ca 1 dl vatten (5 mg BABA per planta) direkt i krukans jord. Krukorna odlades i block med tre krukor av varje behandling i varje block. Fem upprepade block användes. Vid olika tidpunkter efter behandlingen klipptes småblad från plantornas övre blad och lades på fuktigt papper i plastlådor med lock. De avklippta bladen punktinokulerades med sporlösning av *Phytophthora infestans*. Vi testade tre olika isolat som erhållits från Björn Andersson, SLU, Ultuna. Alla fungerade bra och därefter användes bara ett av isolaten (058). Symptomens storlek och karaktär avlästes efter 6-7 dagars inkubering i 15 °C. Bedömning gjordes av hur stor del av bladet som var påverkat av bladmöglet (%), lesionens diameter (mm) samt graden av sporulering (skala 1-3). Allt utfördes enligt Eucablights standardprotokol (<http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>). Metoden etablerades i samverkan med Kerstin Olsson (SLF-projekt "Potatisförädling med inriktning på resistens mot bladmögel"). *Försök 2.* Samma upplägg och genomförande som försök 1 men här använde vi samma mängd BABA per planta vid både bladapplicering och jordapplicering, nämligen 27 mg/planta. *Försök 3.* Samma som försök 1 men inokulering skedde bara vid ett tillfälle, 2 dagar efter BABA-behandlingen. Vi frös in prover för eventuella expressionsstudier av försvarsgener i andra projekt. *Försök 4.* BABA applicerades i olika koncentration för att klargöra om det finns en dos-respons effekt. Tre sorter testades, Bintje, Ovatio och Suberb varav de två senare är partiellt resistenta.

Fältförsök

2007. Fältförsöken utfördes av Hushållningssällskapet. Försök har legat både i Mosslunda och i Borgeby. Försöken var upplagda enligt en randomiserad blockdesign med 4 block. Varje ruta bestod av 3 rader omgivna av kantrader och rader med infektorplantor sattes mellan blocken. Bruttoytan var 5 rader * 10m och den skördade ytan var 3 rader * 10 m. Två mottagliga sorter, Bintje (Mosslunda) och King Edward (Borgeby) odlades i försöken. Behandlingarna i de 10 försöksleden visas i tabell 1.

Tabell 1. Behandlingar i fältförsöken 2007. Samma upplägg i båda försöken.

Försöksled	Shirlan (l/ha)	BABA (kg/ha)	Avkastning King Edward	Avkastning Bintje (ton/ha)	Brunröteangrepp Medel (vikts%) Borgeby	Mosslunda
A	0	0	27,6	40,8	0,0	0,3
B	0,400	0	61,4	91,6	0,0	1,7
C	0	0,120	28,3	43,1	0,2	0,3
D	0	0,600	26,9	46,7	0,0	0,0
E	0,320	0,024	65,9	84,0	0,2	5,4
F	0,200	0,060	56,2	87,5	0,0	0,8
G	0,080	0,096	37,9	66,5	0,3	1,1
H	0,160	0,048	52,0	76,6	0,0	0,8
I	0,120	0,036	43,1	75,2	0,2	0,3
J	0,080	0,024	37,2	70,0	0,0	0,3

Behandlingarna utfördes 13 gånger av hushållningssällskapet med en veckas intervall. Efter de första angreppen av bladmögel graderades fälten i början ca två gånger per vecka och senare en gång per vecka. En skala från 0-100% angrepp utarbetad av Lars Wiik användes. Dessutom räknade vi, vid tillfällen då det var möjligt, även antalen toppskottsangrepp, stjälgangrepp och bladstjälgangrepp i varje försöksruta. Graden av brunröteangrepp på knölna analyserades också.

2008. Fältförsök med liknande upplägg utfördes även detta året, men denna gång testades effekten av BABA i och utan kombination med Shirlan i sorter med olika resistens (Bintje, mottaglig och Superb, partiellt resistent). Försöksupplägget framgår av tabellen nedan. Försöket utfördes av Hushållnings-sällskapet både i Borgeby och i Mosslunda.

Tabell 2. Behandlingar i fältförsöken 2008. Samma upplägg på båda försöksplatser.

Försöksled	Sort	Shirlan (l/ha)	BABA (kg/ha)	Avkastning, Medel (ton/ha)	Brunröteangrepp Medel (vikts%) Borgeby	Mosslunda
A	Bintje	0	0	66,2	4,9	4,4
B	Bintje	0,4	0	80,4	0,0	19,9
C	Bintje	0,3	0	77,7	0,0	3,8
D	Bintje	0,2	0	71,6	3,8	8,0
E	Bintje	0	0,2	67,9	10,6	5,4
F	Bintje	0,3	0,1	75,0	0,0	9,7
G	Bintje	0,2	0,2	75,8	1,2	4,0
H	Bintje	0,2	0,1	75,9	1,2	17,8
I	Superb	0	0	71,3	4,9	10,1
J	Superb	0,4	0	85,5	0,0	11,2
K	Superb	0,3	0	83,4	0,0	13,9
L	Superb	0,2	0	83,8	0,9	14,2
M	Superb	0	0,2	74,4	3,9	7,7
N	Superb	0,3	0,1	85,5	0,0	7,5
O	Superb	0,2	0,2	80,6	0,5	6,8
P	Superb	0,2	0,1	82,1	0,0	7,5

Resultat

Resultaten finns fullständigt redovisade i en nyligen publicerad artikel i European Journal of Plant Pathology (se nedan).

Växthusförsök.

Upp till 4 dagar efter BABA-behandling av potatisplantor fanns en tydlig förbättring av växtens försvar jämfört med obehandlade kontrollplantor. Dessa försök gjordes med den mottagliga sorten Bintje. Lesionens diameter var cirka hälften så stor som hos obehandlade blad. Applicering av BABA på blad fungerade bäst medan jordapplicering gav en mindre effekt. Figur 1 visar de betydligt mindre allvarliga symptomen på behandlade blad. Efter dag 4 fanns också en effekt men den minskade med tiden (Fig.2). Sporuleringen av bladmöglet var mångdubbelt mer omfattande på obehandlade blad. En tydlig skillnad hos BABA-behandlade blad var att efter inokulering med bladmögelsporer uppträdde s.k. resistensfläckar (se Fig 1) som tyder på att hypersensitivitetsreaktionen, en av växtens viktigaste försvarsmekanismer, slås på betydligt oftare. Dessa fläckar uppträder inte alls efter bara BABA-behandlingen utan först efter infektion av de samma. Dylika fläckar uppträdde mycket sparsamt på obehandlade blad. Vi testade också ett par andra sorter med partiell resistens, Ovatio och Superb. Här uppträdde, särskilt i Ovatio, resistensfläckar som direkt respons på BABA-behandlingen vilket tyder på att försvaret sätts på direkt (Fig. 1).



Fig. 1. Infekterade blad med och utan BABA-behandling. Resistensfläckar syns på det BABA-behandlade bladet och sporuleringen är betydligt mer omfattande på kontrollbladet till höger.

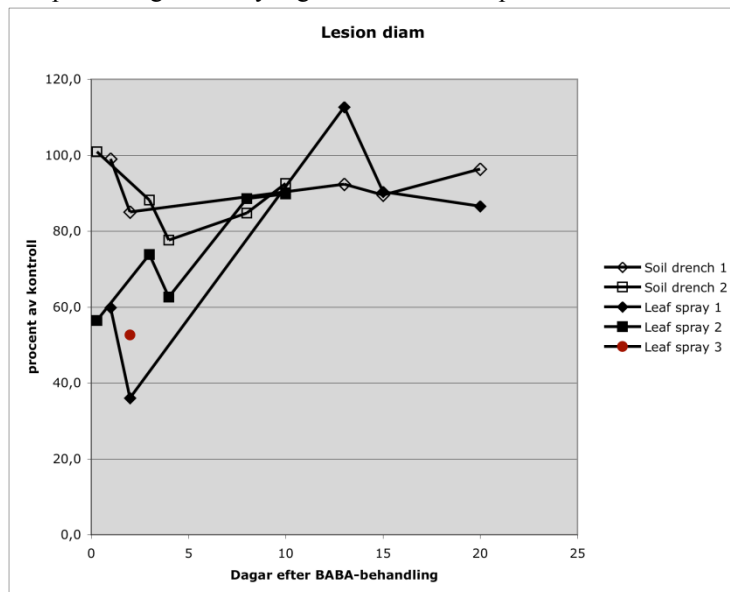
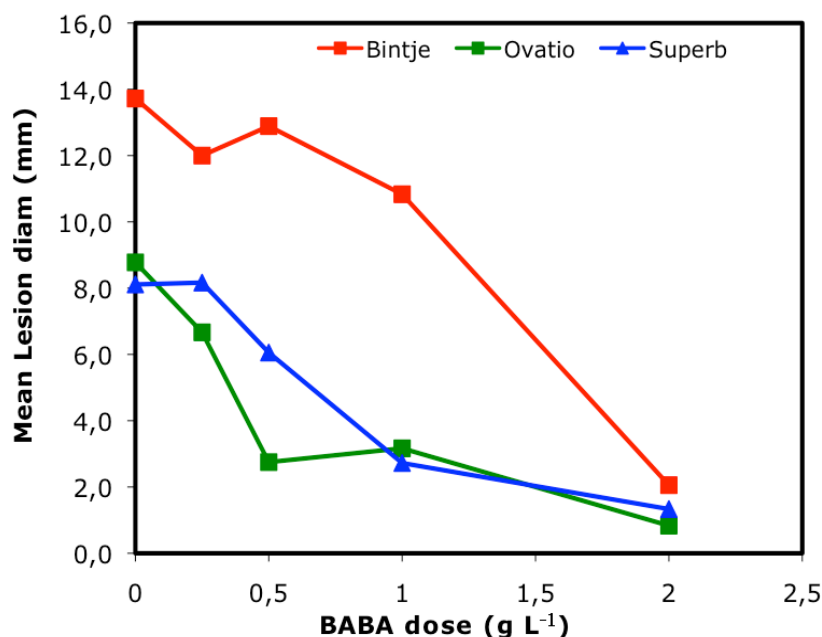


Fig. 2. Växthusförsök. Effekt av BABA-behandling av blad eller jord på graden av angrepp efter infektion med *Phytophthora infestans* på avklippta blad enligt ovan. Resultaten redovisas som procent av angreppet i obehandlad kontroll i de tre försöken (1, 2 och 3). Ca 50% reduktion av lesionsstorlek upp till 4 dagar efter BABA-behandling var tydlig, därefter avtog effekten.

Vi utförde i växthus även en dos-respons-undersökning. Tre sorter användes, Bintje, Ovatio och Superb. Vi fann en tydlig relation mellan dos och respons (Figur 3). De partiellt resistenta sorterna reagerade vid lägre dos BABA än den mottagliga sorten Bintje.



Figur 3. Växthusförsök. Storleken på lesionerna efter infektion med *P. infestans* på plantor behandlade med olika doser av BABA.

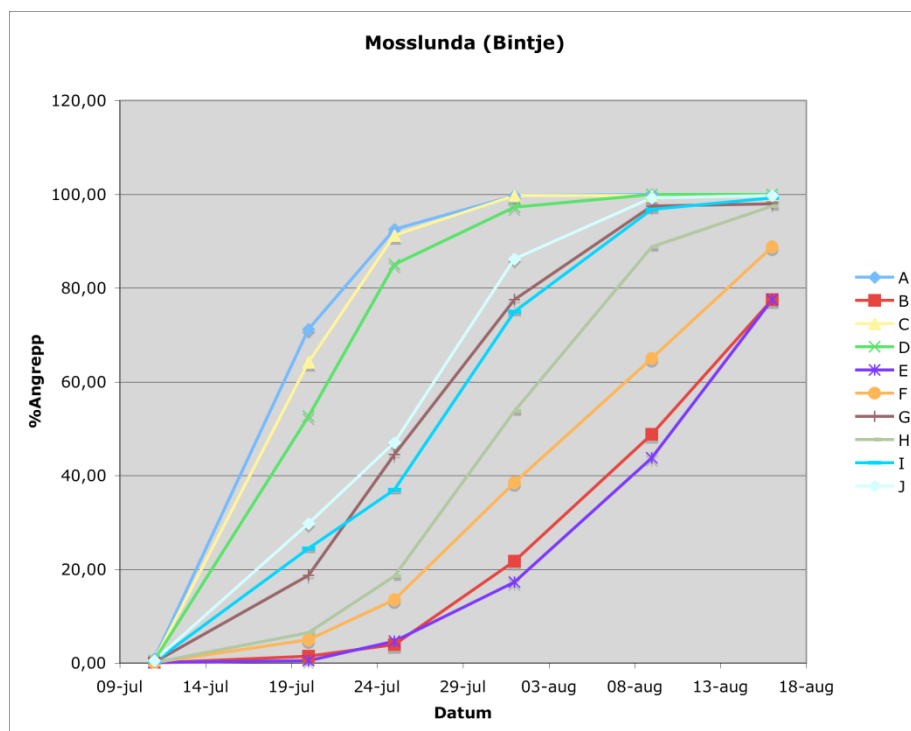
Fältförsök 2007

Uppkomst och tillväxt i försöksrutorna var mycket god och försöken såg mycket jämna ut (se Figur 4). Det myckna regnandet gjorde att halva försöket i Mosslunda blev ganska kraftigt vattenskadat i början av juli. Blasten låg först längs marken men hämtade sej senare. I Borgeby uppstod inga vattenskador. Vädret gjorde också att bladmögelangreppen kom mycket tidigt, i början på juli i Borgeby och någon vecka senare i Mosslunda. Detta medförde ett mycket stort infektionstryck.



Fig. 4. Översikt av fältförsöket i Mosslunda den 1 augusti 2007 där resultaten av olika behandlingar syns tydligt. Rutan närmast till höger är led E (80% av full dos shirlan + BABA i låg dos) och rutan närmast till vänster är led D (endast BABA).

Angreppen i procent över tiden visas i figurerna 5. Applicering av endast BABA hade en viss effekt i början av perioden särskilt med den högre dosen. Angreppen var mindre än hälften så stora vid de två första graderingarna men det framgår inte i figuren. Angreppen fördröjdes några dagar men i senare skeden var skillnaden mot obehandlad kontroll ganska obetydlig.



Figur 5. Utvecklingen av bladmögelangrepp i Mosslunda 2007. Medelvärde av 4 upprepningar. Förklaring av ledens beteckningar finns i Tabell 1.

I mitten av perioden gav led E (80% av full dos shirlan + BABA i låg dos) bäst resultat, bättre än full dos fungicid (led B), både i Borgeby och i Mosslunda. Även räkning av antalet toppskottsangrepp pekade på detta (Tabell 3) I Mosslunda påverkades effekten av BABA negativt i den del av försöket som vattenskadades, förmodligen pga att växtens försvar försämrats när plantorna stressats av syrebrist. I den del av försöket som ej var vattenskadat var led F (50% fungicid +BABA) lika bra som led B (full dos fungicid). De övriga leden, med olika proportioner och doser av Shirlan och BABA gav sämre resultat på båda försöksplatserna. I det senare skedet, nedvissningstadiet, var led B bäst i Borgeby och lika bra som led E i Mosslunda. Man kan tänka sej att pga av åldrande i nedvissningsskedet förlorar växten försvarsförmåga, BABA kan inte längre stimulera försvaret medan fungiciden fortfarande kan ha effekt mot bladmöglet.

Tabell 3. Antal toppskottsangrepp per försöksruta vid tre tillfällen. Medeltal av 4 upprepningar.

Försöksled	Antal toppskottsangrepp per försöksruta		
	Borgeby 13-Jul	Borgeby 17-Jul	Mosslunda 20-Jul
B	9,0	16,8	1,3
E	5,8	12,5	1,0
F	24,0	52,8	4,3

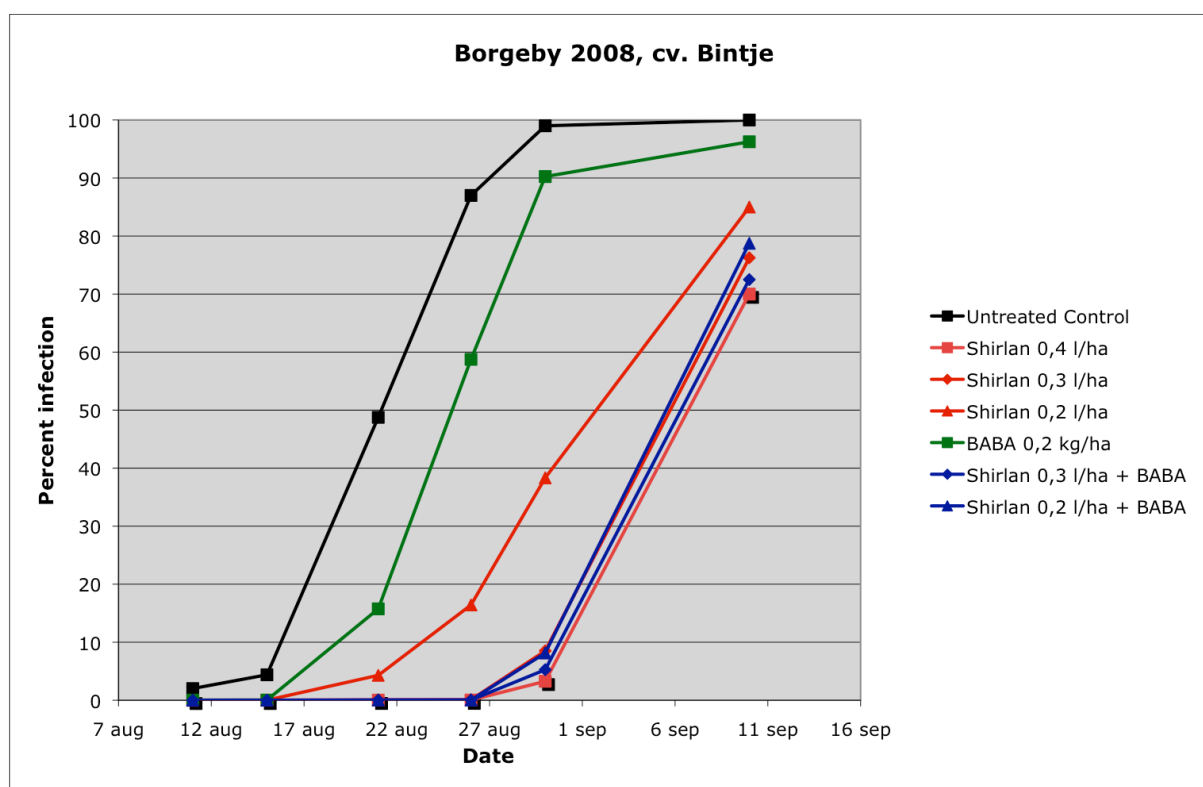
De olika behandlingarnas effekt mot brunröta i knölarna analyserades men vi fann ingen signifikant effekt av någon av behandlingarna. Medelvärden på resultaten finns redovisade i Tabell 1. Även värden på avkastningen visas i Tabell 1.

Vi har också tagit prover i led A (obehandlad kontroll) och i led D (hög dos BABA) och frusit in i -80°C för expressions-studier av försvarsgener både i Borgeby och Mosslanda. Dessa analyser sker i andra projekt.

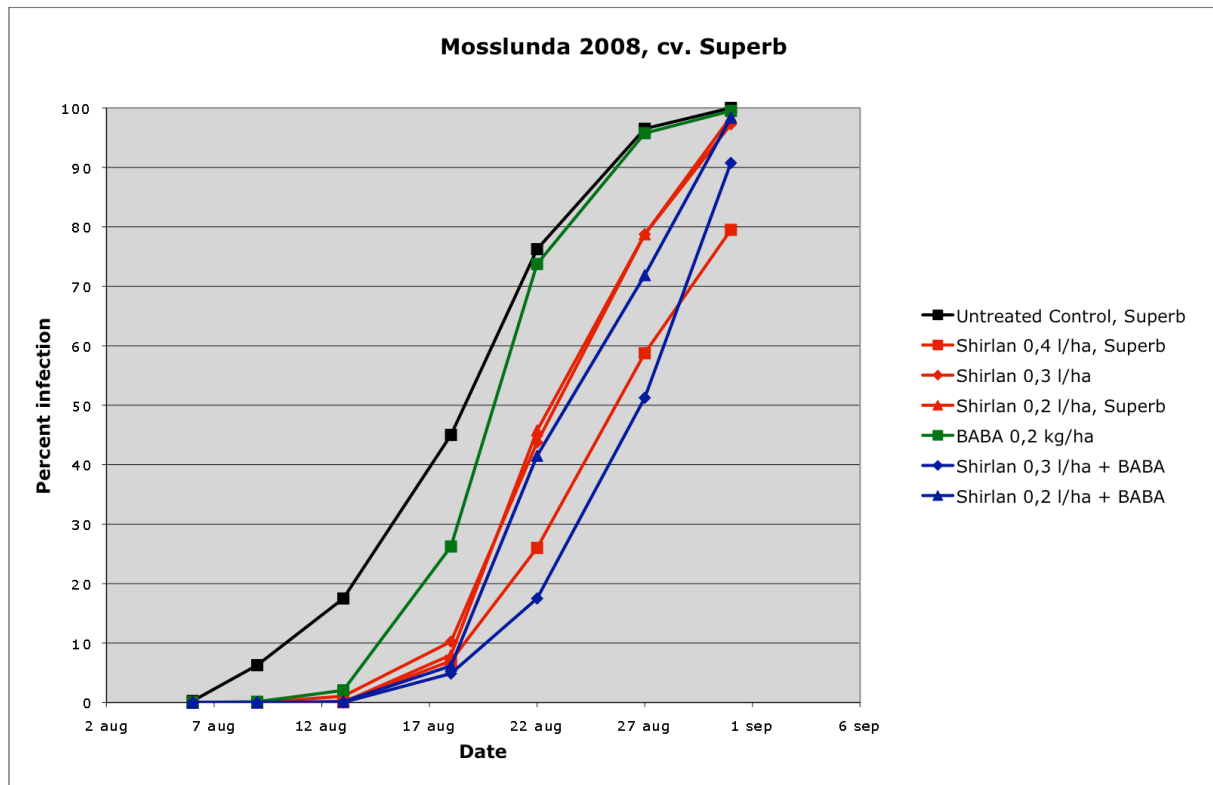
Fältförsök 2008

Även detta år var uppkomst och tillväxt i försöksrutorna god och försöken blev tämligen jämna. Dock förekom vindskador efter en storm men fälten repade sig någorlunda bra. Man kunde konstatera att ingen av behandlingarna gav tillfredställande bekämpning av bladmöglet eftersom det även i leden med full dos Shirlan blev kraftiga angrepp (Figur 6 och 7). Liksom året innan hade applicering av BABA ensamt en viss effekt som fördröjde angreppen några dagar. Superb var något mer resistent än Bintje och angreppen fördröjdes några dagar. BABA hade ungefär lika stor effekt på båda sorterna. En lägre dos Shirlan (75%) i kombination med BABA hade minst lika god effekt som full dos fungicid ensamt. Halv dos Shirlan i kombination med BABA hade aldrig statistiskt signifikant sämre effekt än full dos Shirlan ensamt. Däremot hade ledet med endast halv dos Shirlan sämre effekt. Dessa resultat illustreras i figuren nedan.

Vi analyserade även detta år graden av brunröteangrepp i de olika leden och fann ingen signifikant effekt av behandlingarna. Medelvärden på resultaten finns redovisade i Tabell 2. Även värden på avkasningen visas i Tabell 2.



Figur 6. Utvecklingen av bladmögelangrepp på Bintje i Borgeby 2008. Medelvärde av 4 upprepningar.



Figur 7. Utvecklingen av bladmögelangrepp på Superb i Mosslunda 2008. Medelvärde av 4 upprepningar.

Diskussion

Sammanfattningsvis kan man konstatera att BABA, som kan stimulera växtens försvar, har en viss effekt mot bladmögel i växthus och även i fält. Varaktigheten var dock mindre än väntat vilket kan ha betydelse för val av intervall i framtida fältförsök. Effekten som BABA själv har i fält är dock begränsad, angreppen försenas några dagar men därefter är skillnaden mot obehandlad kontroll obetydlig. Att BABA behandling i växthus ger resistensfläckar i bladen efter infektion är intressant och tyder på att försvarsmekanismer har slagits på och att hypersensitivitetsreaktionen (HR) sker lättare. HR är en av växtens viktigaste försvarsmekanismer och detta bör undersökas mer i detalj med mikroskopi under bladmöglets penetrationskede. Uttrycket av vissa försvarsgener som kan ha samband med HR kan undersöks i andra projekt. Vissa sorter påverkas lättare av BABA, dvs inducerad resistens uppträder vid lägre koncentration och/eller resistensfläckar uppträder efter BABA-behandling även innan påföljande infektion.

Vi anser att vi påvisat en samverkans effekt mellan BABA och fungicidpreparatet Shirlan. I båda årens försök gav leden med 20-25% mindre Shirlan + BABA lika bra eller bättre effekt än full dos Shirlan. I 2008 års fältförsök var inte heller 50% Shirlan i kombination med BABA signifikant skild från full dos Shirlan. Däremot var 50% dos Shirlan ensamt signifikant sämre än full dos i flera fall. Effekten verkar vara mer av additiv typ än synergistisk som beskrevs i publicerade växthusförsök av Baider et al. (2003). Sammanfattningsvis kan vi konstatera att inducerad resistens kan vara av betydelse under fältförhållanden om det används i kombination med fungicider och skulle på så vis kunna bidra till att mindre mängd fungicid kan användas och ändå samma bekämpningseffekt kan uppnås.

Graden av samverkans effekt med BABA kan bero på vilken sort och på vilken fungicid som används. Olika kombinationer med andra fungicider bör testas på olika potatissorter i växthus.

Vi kunde också konstatera att vid tillfällen då växtens försvar störs av vattenstress eller nedvissning/åldrande så stimulerar BABA inte försvaret. Effekten av BABA var bäst under den första delen av infektionsperioden. Det vore angeläget att testa ett behandlingschema där en hög andel BABA används i början av perioden och gradvis ersätts med fungicid så att endast fungicid används i senare stadier. Över hela odlingsperioden skulle man troligen klara sig med en betydligt mindre totalmängd fungicid, särskilt om en partiellt resistent sort används.

Växthusförsöken visade att sporuleringen av bladmöglet på bladen är betydligt mindre på BABA-behandlade blad. Detta är intressant eftersom det kan påverka det epidemiologiska förloppet. Emellertid tror vi inte att detta har någon betydelse i denna typ av fältförsök eftersom försöksrutorna är omgivna av obehandlade infektorplantor. Försöksrutorna blir ändå utsatta för ett spormoln från infektorplantor och obehandlade led. Effekten av eventuellt minskad sporulering i fält måste undersökas i andra typer av försök.

Publikationer

Liljeroth E, Bengtsson T, Wiik L, Andreasson E. 2010. Induced resistance in potato to *Phytophthora infestans* – effects of BABA in greenhouse and field tests with different potato varieties. Eur. J. Plant Pathol. 127, 171-183. Länk till publikationen: <http://www.springerlink.com/content/k7q0h2711p607x85/>

Examensarbete (Bachelor) av Oskar Hansson: "Kan man minska användningen av fungicider med inducerad resistens? – Försök med BABA mot potatisbladmögel. Hortonomprogrammet, LJT-fakulteten, SLU

Övrig resultatförmedling till näringen

Deltagit i FK-dagen, Kristianstad 2007, 2008, 2009 där fältförsöken visats för näring och allmänhet. Fortlöpande kontakter med "Potatisforskning Alnarp" och Hushållningssällskapet. Vi har deltagit i årliga möten med bladmögelforskare från SLU Uppsala.

Projektet har beskrivet på Växtskydd-Alnarps hemsida: <http://www.vaxtskyddalnarp.se/Potatisbladmogel.htm>