

Slutrapport av projektet

Växtpatogeners påverkan på uppkomst och etablering – en produktionsbegränsande faktor i svensk oljeväxtodling ?

Projektansvariga: Sadhna Alström och Björn Andersson, Sektionen för växtpatologi, Inst. för skoglig mykologi och växtpatologi, Box 7026, 75007, Uppsala.

Finansiering från SLF, Stockholm: 160 000 kr (projektnr V0748155) och Sveriges Frö och Oljeväxtodlarna: 80 000 kr (Ref. Brevet dtd 15 maj 2007)

Bakgrund

Efterfrågan på oljeväxter i Sverige och EU ökar dels på grund av dess innehåll av högkvalitativ vegetabilisk olja och dels genom att den kan användas för förblandning i diesel. En annan anledning är att raps är en god förfrukt i växtföljder med spannmål. En ökad oljeväxtodling är dock inte helt oproblematisk. Flera sjukdomar som kan orsaka allvarliga skördeförstörelser gynnas av en intensivare odling. Våra tidigare undersökningar av tillförsel av bioantagonister vid sådd ledde till avsevärd förbättrad uppkomst i jordar smittade med *Verticillium*. Detta tyder på att patogener kan påverka skördepotentialen vid ett tidigt stadium. Vi misstänker att grönings- och etableringspåverkande patogener kan vara en viktig produktionsbegränsande faktor.

Undersökningarna utfördes dels som ett examensarbete och dels som separata studier. Patogena svampar tillhörande släktena *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* och *Phoma* var i fokus eftersom dessa är jord- och/eller utsädesburna och kan angripa rapsen på gröningsstadiet. *Rhizoctonia (R.solani)* ingår i ett komplex som sänker frönas gröningsförmåga och försämrar uppkomsten. *Fusarium oxysporum* orsakar vissnefusarios men har ännu inte påträffats i Europa. Tidiga infektioner leder till vissna småplantor, medan senare infektioner kan ge rotrötter. I Nordamerika är vissnefusarios ett växande problem. *Leptosphaeria maculans* (asexuellt stadium *Phoma lingam*) orsakar torröta och kan orsaka stora skador i växande gröda. *Alternaria (A. brassicae)* är också intressant i detta sammanhang då dess angrepp på våren kommer från smittat utsäde eller från sporer från skörderester. Tillväxten hos angripna unga plantor hämmas, och senare kan infektionen spridas inom beståndet, mellan fält och mellan höst- och våroljeväxter. Grödans etablering kan också påverkas av bakteriepatogener som till exempel *Pseudomonas syringae* och *Erwinia carotovora* men dessa undersöktes inte inom projektramen.

Projektet mål

Projektet avsåg att försöka få svar på vilka patogener som förekommer, hur vanliga de är och deras betydelse för rapsen grönning och utveckling. I projektet utfördes insamling och symptomavläsning av angripna plantor, isolering, rening och artbestämning av patogener; infektionsförsök i växthus, och undersökningar rörande betningseffekter i naturligt smittade jordar.

Material och Metoder

Fyra fält valdes ut i Östergötland. I dessa fält fanns områden med dålig etablering respektive normal etablering. Från jämnstora rutor insamlades 25 slumpvis valda plantor med rötter och vidhängande jord (rhizosfärjord, r-jord) för att jämföra förekomst av svampar vid dålig respektive bra etablering. Utvecklingsstadiet på vårrapsplantorna vid insamlingstillfället var DC 14 -31 i ojämna rutor jämfört med DC 31-50 i jämna rutor. Plantutvecklingen under observationsperioden och eventuella sjukdomssymtom på blad, rothals och rötter registrerades och plantantalet på två löpmeter per ruta bestämdes. Till skillnad från vårrapsfälten studerades rutorna i höstrapsfälten enbart en gång i början på säsongen och plantprover samlades in för vidare undersökningar.



Bild 1. Vårraps. Ruta med ojämn uppkomst, Stora Folåsa



Bild 2. Höstraps. Fält i Åsby

Tabell 1. Odlingsdetaljer av fyra rapsfält i Östergötland undersökta i studien

Fält	Skeda	St Folåsa	Åsby	Rismarken
Gröda	Vårraps	Vårraps	Höstraps	Höstraps
Sort	Joplin	Joplin	Banjo	Status
Utsädesmängd	4,5 kg/ha	6,0 kg/ha	2,5 kg/ha	2,5-3 kg/ha
Förfrukt	Höstvete	Höstvete	Träda	Korn
Jordart	Mellanlera	Från styv lera till mjåla	Grusig, morän lättlera	Mellanlera

Kartläggning av rapssvampar

Karakterisering av svampar gjordes både genom renodling av svampisolat och med hjälp av molekylär biologiska metoder. Svampar renodlades och grupperades beroende på ett antal morfologiska egenskaper för att kunna få en överskådlig bild över de odlingsbara svampar som förekom i rapsrötterna respektive r-jorden. Molekylär karakterisering utfördes direkt i rapsrötter och r-jord proverna. Primer som användes i denna studie var specifika för svamp och därmed kan vi ha missat oomyceter. (Neupane et al 2008).

Påverkan på raps groddbarhet och utveckling

För att undersöka i vilken utsträckning de isolerade svamparna påverkade rapsgroning och etablering valdes några isolat ut från höst- och vårrapsproverna. Höstrapsfrö (sort Status) smittades ner med sju olika renodlade svampar (identifierade som *Rhizoctonia solani*, *Gibberella* spp (tre isolat), *Alternaria* spp, *Phoma exigua* och *Phoma eupyrena*.) och såddes i steril fältjord i växthus (Dahlberg 2008).

I fortsatta växthusstudier testades ett antal olika betningspreparat mot groddbränna, se tabell 2. Sorten Banjo valdes på grund av sin mottaglighet för jordburna patogena svampar. Jorden som användes i betningsförsöket påvisades bära smittan av *Rhizoctonia* spp. och *Verticillium*.

Antalet uppkomna plantor, antal med groddbrand, plantutveckling, plantornas färskvikt registrerades i båda försök. Samtliga plantor kontrollerades för eventuella symtom och rötter med symtom användes för återisolering av svamparna. Syftet med detta var därmed att bestämma vilka svampar som orsakade symtom.

Tabell 2. Pesticidblandningar som testades mot groddbrand i höstraps (cv Banjo) i ett växthusförsök med naturlig smittad fältjord

Led	Pesticidblandning	Dos/kg utsäde
A	Obetat utsäde	Obetat
B	Rovral 500A + Chinook FS 200	5 ml+20 ml
C	Rovral 500A + Modesto	5 ml+12,5 ml
D	BAY F080 + Modesto	0,42 ml+ 12,5 ml
E	BAY F081 + Modesto	10 ml+ 12,5 ml
F	BAY F082 + Modesto	10 ml + 12,5 ml
G	Amistar + Modesto	0,8 ml + 12,5 ml
H	Magnate 50 + Modesto	5 ml + 12,5 ml
I	Orius 200 EW + Modesto	5 ml+ 12,5 ml
J	Cruiser OSR	15 ml
K	Thiram + Marshal MUP	5 g + 15 g

Resultat

Resultat från planträkningen i vårraps visade skillnaderna vara stora mellan rutor med dålig respektive normal uppkomst, se tabell 3. I St. Fölåsa och Åsby var bestånden mycket glesta i de två dåliga rutorna och plantor var mer hämmade i utvecklingen än i övriga fältet. En del mörkfärgade rötter observerades. I Rismarken var plantetableringen överlag jämn men plantor med symtom kunde insamlas. Potentiellt patogena svampar förekom i rötter och r-jord från både vårraps och höstraps (Tabell 4 och 5). Patogena svampgrupper som odlades fram tillhörde *Alternaria* sp, *Botryotina*, flera *Fusarium* arter, *Verticillium* sp, och *Phoma*.

Färre svampgrupper återfanns i höstraps än i vårraps (data ej visad här). Antalet svampgrupper skiljde sig mer mellan de två höstrapsfälten än mellan vårrapsfälten.

Tabell 3. Sammanställning av antal räknade plantor per 2 m² i vårraps och höstrapsfält som ingick i studien

Fält	Antal plantor uppkomna/kvm	
	Dålig	Normal
Stora Folåsa	82	174
	92	146
Skeda Prästgård	84	102
	94	140
Åsby	20	41
	15	44
Rismarken	-	63
	-	65

Tabell 4. Potentiella patogener som identifierades i rötter och rhizosfärjord från normala och dåliga rutor med vårraps.

Skeda, normal	Skeda, dålig	Folåsa, normal	Folåsa, dålig
<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
<i>Phoma eupyrena</i>	<i>Phoma eupyrena</i>	<i>Phoma eupyrena</i>	<i>Phoma eupyrena</i>
<i>Gibberellaavancea</i>	<i>Gibberellaavancea</i>	<i>Gibberellaavancea</i>	<i>Rhizoctonia sp.</i>
<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>
<i>Phoma pinodella</i>	<i>Verticillium nigrescens</i>	<i>Verticillium nigrescens</i>	<i>Phoma pinodella</i>
<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Verticillium sp.</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Phoma exigua</i>

Svampar tillhörande patogengrupper fanns inte bland de odlade isolaten från Rismarken. Dessa grupper verkade dominera dock i rotproverna då dessa analyserades med molekylära metoder. *Verticillium longisporum* kunde inte hittas alls i varken rot- eller jordproverna.

Många andra svampar också förekom i både vårraps (data ej visad här) och höstraps (Tabell 5-7). Några av dessa, *Mortierella*, *Cryptococcus*, *Trichoderma* är kända för att kunna fungera som biokontroll. Emellertid var diversiteten bestämd med molekylära metoder lägre i Rismarken än i de tre andra fälten.

Tabell 5. Fördelning av alla svampar som identifierades direkt i rötter från normala och dåliga rutor med höstraps

Åsby, dålig	Åsby, normal	Rismarken (normal med sjuka plantor)
<i>Fusarium brasiliicum</i>	<i>Fusarium brasiliicum</i>	<i>Olpidium brassicae</i>
<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium spp/Nectria</i>	<i>Plectospherella cucumerina</i>
<i>Fusarium sp</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Trichothecium domesticum</i>
	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	<i>Tetracladium maxilliforme</i>
<i>Gibberella avancea</i>	<i>Gibberella avancea</i>	
<i>Olpidium brassicae</i>	<i>Olpidium brassicae</i>	
	<i>Beauvaria bassiana</i>	
	<i>Alternaria tenuissima</i>	
	<i>Phoma eupyrena</i>	
<i>Rhizoctonia sp</i>	<i>Phoma glomerata</i>	
<i>Udeniomyces pannonicus</i>	<i>Verticillium nigrescens</i>	
	<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>	
	<i>Cladosporium</i>	
	<i>cladosporioides</i>	
	<i>Tetracladium maxilliforme</i>	
	<i>Plectospherella cucumerina</i>	
Oidentifierade 6 st		

Tabell 6. Fördelning av alla svampar som identifierades direkt i rhizosfärjord från normala och dåliga rutor med höstraps

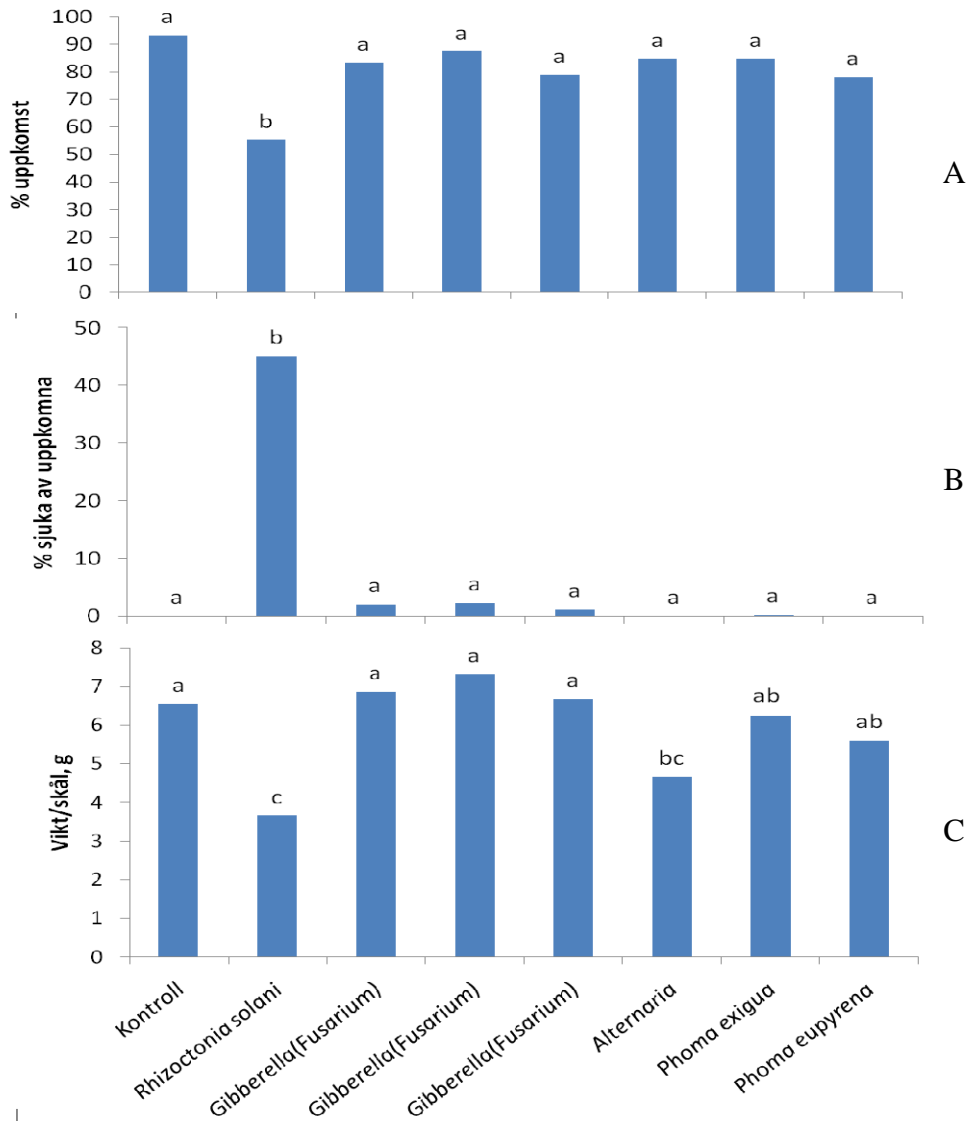
Åsby (dålig)	Åsby (normal)
<i>Cercophora sparsa</i>	
<i>Cladophora luteo-olivacea</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
	<i>Cryptococcus aerius</i>
<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
<i>Fusarium tritinctum</i>	<i>Fusarium lateritium</i>
	<i>Fusarium tricinctum</i>
	<i>Gibberella avenacea</i>
<i>Olpidium brassicae</i>	<i>Olpidium brassicae</i>
<i>Phoma eupyrena</i>	<i>Phoma eupyrena</i>
	<i>Phoma glomerata</i>
<i>Verticillium nigrescens</i>	<i>Verticillium sp.</i>
	<i>Alternaria alternata</i>
<i>Nectria gliocladioides</i>	<i>Nectria sp.</i>
	<i>Podospora didyma</i>
<i>Myrmecridium schulzeri</i>	
<i>Coniothyrium sp.</i>	
9 st oidentifierade	5 st oidentifierade

Tabell 7. Jämförelsevis total antal olika svampgrupper från unga höstrapsplantor

Åsby	Rismarken
<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella</i>
<i>Fusarium</i>	
<i>Penicillium</i>	
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>
<i>Mortierella</i>	
<i>Verticillium</i>	<i>Verticillium</i>
<i>Botryotinia</i>	
<i>Phoma</i>	<i>Phoma</i>
<i>Neonectria</i>	<i>Neonectria</i>
5 st oidentifierade	1 st oidentifierad

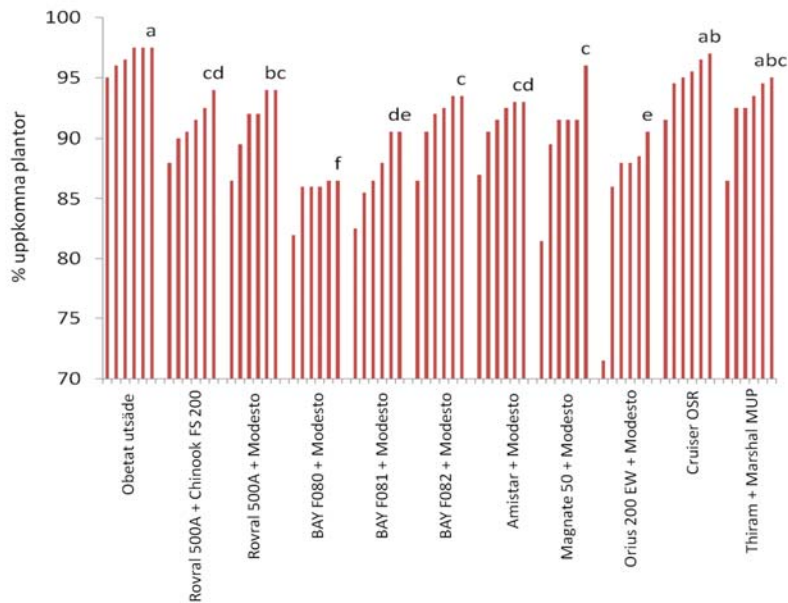
Påverkan på rapsens groddbarhet och utveckling

Resultaten från växthusstudier på höstraps framgår av Fig. 1-2. *R. solani* orsakade typiska groddbrandsymtom och reducerade uppkomsten med ca 20 %. Även *Alternaria* försämrade tidigetableringen jämfört med kontrollen. *Fusarium* gav upphov till symtom med avsnörpta stjälkar och mörkfärgade rötter på några av plantorna, men inga signifikant skillnader uppmättes. Skador orsakade av *Phoma* visade sig vara svår att bestämma då endast en planta utvecklade symtom.

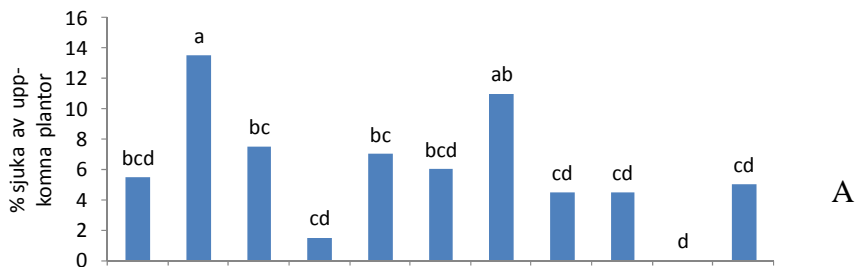


Figur 1. A. Inverkan av isolerade svampar på uppkomst i höstraps Banjo. (n=4 med 50 frö/skål).
B. Inverkan av renodlade svampar på % antal uppkomna plantor som utvecklade symtom.
C. Inverkan av renodlade svampar på % vikt av uppkomna plantor i höstraps Banjo.
Staplar med samma bokstav är inte statistisk signifikant åtskilda. (Duncans Multiple Range test; $p=0,05$.)

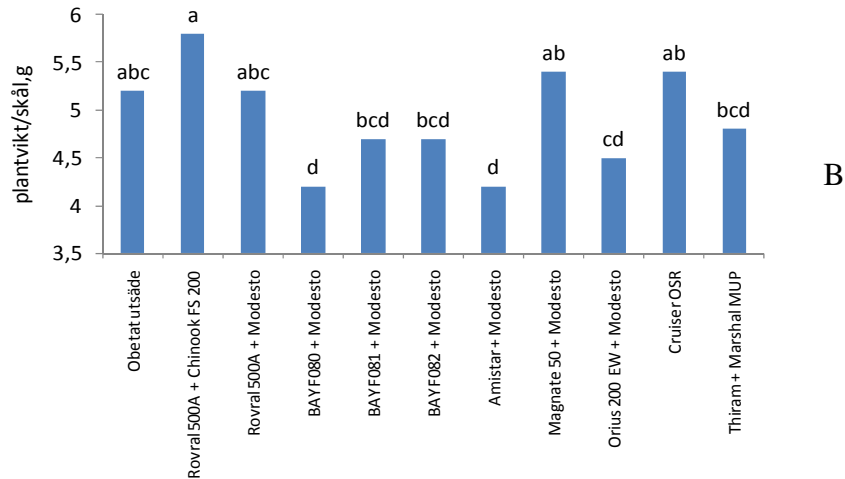
När det gäller effekt av kemiskbetning mot groddbränna i naturligt smittad jord, var det obetade ledet signifikant skilt från alla utom led med Cruiser OSR som var fritt från groddbrännesymtom. Uppkomsten i led med Orius 200EW + Modesto var starkt fördröjd. Planter med groddbrand fanns även i de flesta led. Utvecklingsstadiet i samtliga led noterades till 1-2 örtblad jämfört med det i obetade ledet där inga örtblad noterades under försöksperioden.



Figur 2. Inverkan av pesticidbetning på groddbrand i höstraps (sort Banjo) odlad i naturligt smittad fältjord. % uppkomna plantor dag 5,6,7,8 och 9.



A



Figur 3. A. Inverkan av pesticidbetning på groddbränna och B. Inverkan på vikten av höstrapsplantor (Banjo) odlade i naturligt smittad jord. Staplar med samma bokstäver är inte statistisk signifikant åtskilda. (Duncans Multiple Range test; $p= 0, 05$; $n=4$ med 50 frö/skål.)

Diskussion

Kartläggningen av svampsamhällen i både vår- och höstraps visade på en hög artdiversitet. Svampar tillhörande *Fusarium*, *Phoma*, *Verticillium* och *Rhizoctonia* kunde isoleras från både vårraps och höstraps. Generellt sett noterades det större diversitet i normala rutor än i dåliga rutor i höstraps samtidigt som att det fanns fler grupper av potentiella patogener i de normala rutorna än i de dåliga. En förklaring kan vara att potentiella patogener i normala rutor existerar i jämvikt med ickepatogena svampar. Det är välkänt att patogena svampar tillhörande både *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* och *Phoma* är jordbundna med en bred värdkrets och därför ospecifika för rapsen. Då rapsplantornas utveckling var eftersatt i dåliga rutor fanns det förmodligen större möjlighet för dessa att angripa rapsen.

Utveckling och etablering observerades i de utvalda vårrapsfälten under nästan hela säsongen. I Skeda utvecklades plantorna jämnare i de två rutorna med dålig respektive normal uppkomst rutorna. I Folåsa var skillnaden stor mellan de olika rutorna under hela försöksperioden. En trolig förklaring till detta är skillnader i jordart mellan de två fälten. Inga sjukdomssymtom kunde observeras på plantorna i början av undersökningen. Symtom av etableringspåverkande patogener brukar synas precis vid eller strax efter groningen (Leino, 2006) och det är möjligt att studierna startade för sent för att se dessa symtom. Senare under säsongen noterades både bomullsmögel (*Sclerotinia sclerotiorum*) och klumprotsjuka (*Plasmodiophora brassicae*) i båda fälten.

Jämförelsevis fanns det tydliga fältskillnader i höstrapsfälten och även symtom på etableringsrelaterade sjukdomar kunde observeras. Till synes sjuka plantor fanns överallt vilket tyder på andra faktorer än skadesvampar orsakade detta.

I växthusförsök noterades tydligt negativ effekt av *R. solani* både på uppkomst och plantvikt. *Fusarium*-arter orsakade också groddbrandsymtomen men plantvikten skilde sig inte signifikant från plantorna i kontrolleret. I stort sett enbart *Alternaria* gav upphov till en sämre tidig etablering. Det är dock få känner till groddbrandsymtomen i fält, vilket gör att vid en ökad oljeväxtodling av oljeväxter kan denna sjukdom bli av större betydelse än man hittills trott.

När det gäller effekt av pesticidbehandling av fröna mot groddbrandsvampar (fanns redan i naturlig smittad jord) fördröjdes uppkomsten av höstrapsen avsevärt av Magnate 50 + Modesto och Orius 200 EW + Modesto. En försenad uppkomst kan innebära allvarliga följder i fält om man vill ha en tidig och jämn uppkomst. Groddbrand symtomen kunde observeras i samtliga behandlingar utom med Cruiser OSR som är baserat på metalaxyl. Metalaxyl verkar systemiskt och har effekt endast på oomyceter, som till exempel *Pythium*. Våra resultat tyder på att patogena oomyceter fanns i försöksjorden tillsammans med *Verticillium* och *Rhizoctonia*. *Pythium* spp. liksom *R. solani* tillhör patogenkomplexet som orsakar groddbränna och rotröta i många typer av grödor. I syfte att ta reda på vilka svampar som gav upphov till groddbrandsymtom i betningsförsöket inkuberades rötter med synliga symtom. Ingen noggrann identifiering gjordes vid det stadiet. Vi kunde dock isolera både *R. solani*, *Fusarium* arter, *Phoma* och oomyceter beroende på behandlingen. Vår studie pekar på att det är viktigt att ha kunskap om om etableringspåverkande patogener när rapsarealerna ökar.

Skrifter inom projektet

- Dahlberg Caroline. 2008. Svampar associerade med raps – betydelse för uppkomst och grödetablering. Examensarbete. Inst. för Skoglig Mykologi och patologi, Uppsala.
- Neupane S., Högberg N., Ihrmark K., Andersson B., Dahlberg C. and S. Alström. Phylogenetic Analysis of Cultured and Non-cultured Fungal Communities in Fields with Poorly Emerged Oilseed Rape. Poster at `International conference on Biotic plant interactions`, Brisbane, Australia 27-29 March, 2008.
- Neupane S., Högberg N., Ihrmark K., Andersson B. and S. Alström. Soil and root fungal communities associated with oilseed rape in Sweden Soon to be submitted to referee journal.