

Utsädesburna sjukdomar – smittogradens betydelse

Seed-borne diseases: Identification, detection and quantification

Slutrapport SLF H0833499, huvudsökande Lars Wiik

1. Bakgrund

Syfte

Projektet syftade till att undersöka betydelsen av ett utsädes smittograd på primärsmitta och skörd för ett antal stråsädessjukdomar. När detta samband är känt kan ett korrekt beslut tas om, hur och med vilket preparat ett utsäde behöver behandlas. I projektet ingick användning av den molekylära metoden Realtids-PCR (RT-PCR) för att ge en kvalitativt och kvantitativt fullständigare bild av vilka växtpatogena svamparter som förekommer och deras omfattning på några utsäden jämfört med traditionella mätmetoder.

Utsädeskontroll, diagnosticering och växtskydd

De primära angreppen av en växtsjukdom kan komma från utsädet, marken, vattnet, luften samt andra organismer som är vektorer. Exempelvis överlever kornets bladfläcksjuka (*Drechslera teres*) både på utsädet och i växtrester, vilket leder till spridning av sporer i luften under växtodlingssäsongen. Strimsjuka (*D. graminea*) däremot är en helt utsädesburen sjukdom som sällan förekommer i konventionellt utsäde men kan vara ett problem i ekologiska odlingar. Fusarioser förekommer på flera av våra stråsädesslag och orsakas främst av de utsädesburna patogenerna *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum* och *F. poae* samt *Microdochium nivale* (snömögel). Vissa sorter angrips mindre beroende på om de har öppen eller sluten blomning samt tidpunkten för infektionen (Yoshida *et al.* 2007).

När det gäller utsädesburen smitta finns det flera möjligheter att begränsa smittorisken. I första hand bör friskt utsäde användas, och om friskt utsäde saknas kan utsädet behandlas genom betning eller värmebehandling för att minska smittorisken. Flertalet undersökningar har påvisat de utsädesburna sjukdomarnas betydelse och därför är betning av utsädet i många fall en lönsam åtgärd (Bengtsson *et al.* 1975, Olofsson & Johnsson 1985). Idag har staten genom Utsädesenheten vid Jordbruksverket påtagit sig ansvaret för att genomföra obligatorisk sundhetsanalys och certifiering av bland annat stråsädesutsäde (SJV 2008). Jordbruksverket anger gränsvärden för utsädens smittograd. Exempelvis anses betning vara nödvändig då angrepp av *Drechslera* spp. i vårkorn är större än 15 % (SJV 2008).

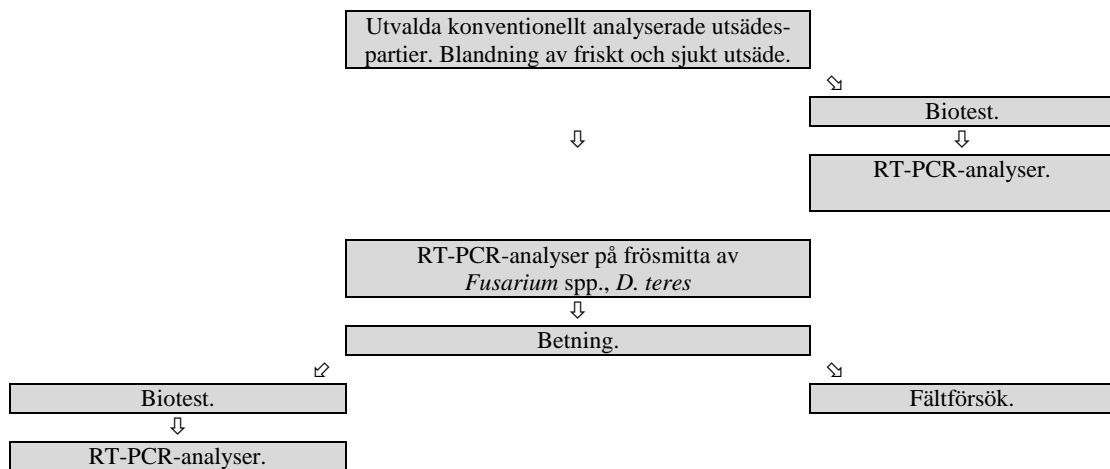
Många växtpatogena svampar ger mycket tydliga symptom då de uppträder ensamma men oftast förekommer symptom av flera skadegörare samtidigt i grödan, vilket gör det svårt att ställa en riktig diagnos. Vissa skadegörare är osynliga då de finns inuti växten och symptomen uppträder först på ett senare stadium. Många växtpatogena svampar är fröburna. Smittan finns på fröet redan vid skörd och följer sedan med utsädet vid sådd. Realtids-PCR är en molekylärbiologisk metod som gör det möjligt att snabbt identifiera och kvantifiera växtpatogena svampars DNA i frö eller plantor under säsongen (McCartney *et al.* 2003). Med traditionella metoder är det svårt att skilja *Drechslera*-arterna åt men med RT-PCR är det möjligt och samtidigt kan smittomängden kvantifieras (Fountain *et al.* 2007). Flera *Fusarium*-arter kan bestämmas med PCR-metoder (Tan & Niessen 2003, Klemsdal & Elen 2006).

En av de mest grundläggande växtskyddsåtgärderna är sanering eller kemisk betning av utsädet med så ändamålsenliga preparat som möjligt, i kombination med andra åtgärder som an-

vändning av resistent sorter. Statlig verksamhet inom utsädeskontroll, metoder och bestämmelser är till god hjälp för att övervaka och understödja ett rationellt skydd mot utsädesburna sjukdomar. Växtskyddsmedelsföretagens utveckling av nya betningsmedel, Lantmännens lansering av icke-kemiska metoder, forskning samt officiell och ackrediterad värdeprövning av fungicider vid SLU har starkt bidragit till att de utsädesburna sjukdomarna kan kontrolleras (Forsberg *et al.* 2005, Lantmännen 2007, Gerhardson 2002, Johnsson *et al.* 2005). I det SLF-finansierade projektet *Betningsmedlen i stråsåd och deras effekter* visades att betning med bakteriepreparatet Cedomon samt behandling med värme och ångning av utsäde med ThermoSeed-tekniken, ofta fungerade bättre än de kemiska medlen mot kornets bladfläcksjuka (Johnsson & Wiik 2005, Wiik 2007) samt att effekten av preparat med den aktiva substansen imazalil avtog under perioden. Resultaten bidrog till att Jordbruksverket meddelade nya betningskrav avseende *Drechslera* spp. i vårkorn säsongen 2007-2008 samt att arbetsgruppen *Sanering av utsädes- och markburna sjukdomar i stråsåd* tillsattes. Gruppen fortlever och driver frågor inom betning med syfte att bevaka och föreslå angelägna projekt inom området.

2. Material och metoder

Under 2008 finansierade SL-stiftelsen, den regionala organisationen Skåneförsöken och Partnerskap Alnarp ett orienterande projekt med syfte att med hjälp av RT-PCR förbättra och underlätta kvalitativ och kvantitativ identifiering av utsädesburen smitta på stråsåd. Med de orienterande undersökningarna som grund fortsatte projektet under 2009-2010, nu med finansiering från SLF. Försöken har till största delen genomförts enligt planerna (Figur 1).



Figur 1. Schematisk bild av försöksplaneringen

Växtmaterialet utgjordes av utsädespartier från vårkorn, vårvete, höstvet och havre. Sundheten analyserades med konventionella biotester av Seedtech på SW och Jordbruksverkets utsädesenhet. För undersökning av kornets bladfläcksjuka användes osmometoden (Svensson, 1981; Sperlingsson & Brodal, 2011). Ett utsädesprov (100 kärnor) placerades i en skål med filterpapper som fuktats med en sockerlösning. Efter 7-8 dagars inkubation avlästes förekomsten av *Drechslera* spp. som karakteristiska färgfläckar efter tillsats av svag natriumhydroxidlösning för att skilja *Drechslera* spp. från andra svampar. För bestämning av *Fusarium* spp. användes filtrerpappersmetoden (Jordbruksverket, 2010) då ett utsädesprov (100 kärnor) lades att gro på filtrerpapper som fuktats med bufferlösning. Efter 8 dagar avlästes symptom på rötter och koleoptil samt förekomst av mycel och konidier.

Molekylärbiologisk identifiering och kvantifiering av växtpatogener utfördes med RT-PCR av ScanBi Diagnostics (www.scanbi.se). För analys av utsäden maldes prover om ca 100-150 g kärnor i en knivhomogenisator. Av mjölblandningen togs två delprover om vardera ca 1 g för DNA extraktion. RT-PCR utfördes enligt Waalwijk *et al* (2004) med en DNA-mängd motsvarande 50–200 ng för analys av förekomst av *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *M. nivale* i vete samt *D. teres* i vårkorn.

Efter sundhetsanalyser blandades olika proportioner av ett friskt utsädesparti med ett utsädesparti som var starkt angripet av kornets bladfläcksjuka för vårkorn respektive fusarium för vårvete, höstvete och havre. Metoden hämtades från Nilsson & Johnsson (1996). Betning utfördes av Seedtech på SW med Anchor (carboxin 200 g/l och thiram 200 g/l), Fungazil A 25 (imazalil 25 g/l), eller Rancona IM (ipkonazol 20 g/l, imazalil 50g/l) i vårkorn respektive Celest Formula M (fludioxonil 25g/l) i höstvete och havre, och Celest Extra Formula M (difenokonazol 2,4 vikt%, fludioxonil 2,4 vikt%) i vårvete.

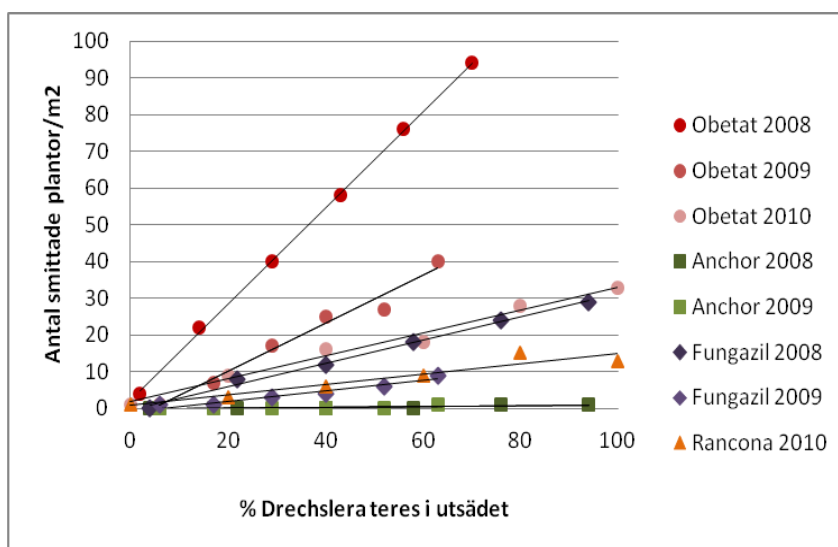
Fältförsöken gjordes i samverkan med Hushållningssällskapen i Skåne/Skåneförsöken. Betade och obetade utsäden såddes under 2009-2010 med upprepningar på olika platser (E-, LM, R- och W-län). Försöken graderades rutvis för planttäthet, kornets bladfläcksjuka samt stråstyrka under växtsäsongen och analyserades för skörd, tusenkornvikt, hektolitervikt m.m. Då ett av försöken vattenskadades 2009 så mycket att skörden uteblev, ingick endast fältförsök från tre platser i de vidare analyserna för detta år. Rutvis tagna utsädesprov undersöktes med biotester samt RT-PCR som tidigare. Resultaten analyserades med sedvanliga statistiska metoder.

3. Resultat

3.1 Betydelsen av ett utsädes smittograd på primärsmitta och skörd

3.1.1 Vårkorn

För kornets bladfläcksjuka fanns ett tydligt samband mellan utsädets smittograd och primärangrepp. Antalet primärangripna plantor ökade då smittograde ökad i de framtagna blandningarna. Betningsmedel Anchor hade utmärkt effekt (98-99%) oavsett smittograd, medan Fungazil A 25 och Rancona IM hade sämre och otillräcklig effekt (48-78%). Angreppen varierade starkt mellan olika år (Figur 2).



Figur 2. Primärangrepp av kornets bladfläcksjuka 2008-2010 i utsäde av olika smittograd (% total halt *D. teres*) och betning.

Skördepåverkan vid olika smittograd och behandling uppmättes i fältförsök under 2009 och 2010 (Tabell 1). Skörden ökade i regel med ökande andel friskt utsäde, dock uppmättes i vissa fall en lägre skörd trots mindre mängd smittat utsäde. Samtliga betningsmedel gav en mer-skörd jämfört med obetat vid mer än 40 % *D. teres* i utsädet. I flera fall hade betningsmedlen Fungazil och Rancona IM en negativ effekt jämfört med obetat utsäde. För Anchor var effekten positiv vid alla smittograder, men minskade med ökad andel friskt utsäde. Merskörden av behandling med Anchor vid 6 % *D. teres* smitta var endast 0,6 %.

I fältförsök 2009 (Tabell 1) hade behandling med Anchor och Fungazil A 25 en signifikant positiv effekt på tusenkornvikt, rymdvikt, proteinhalt, planttäthet samt kornets bladfläcksjuka. Betningsmedlen hade ingen signifikant effekt på övriga karaktärer. Under 2010 (Tabell 2) visade fältförsök och betning med Rancona IM en signifikant positiv effekt på tusenkornvikt, rymdvikt samt kornets bladfläcksjuka.

Tabell 1. Betning med fungicider mot kornets bladfläcksjuka i vårkorn. Fältförsök på tre platser 2009 med utsäde av Kinnan och Filippa i olika smittograder och tre behandlingar: obetat, betning med Anchor 300 ml/kg eller Fungazil A 25 200 ml/kg.

Led ¹	Behandling	Skörd Kg/h	Rel. skörd	Vh %	Avfall %	Tkv g	Rdv g/l	Protein %	Stärk. %	Erg. %	Strå. %	Plant. pl/m ²	Bladfl. pl/m ²
a													
100/0	Obetat	4910	100	16,4	0,9	41,9	618	11,9	60,5	15,1	73	345	40
80/20	Obetat	4870	99	16,3	1,1	43,5	629	12,3	60,1	15,1	74	324	27
60/40	Obetat	5100	104	16,4	1,0	44,8	644	12,4	60,4	15,3	72	321	25
40/60	Obetat	5160	105	16,4	1,1	45,5	651	12,6	60,2	15,6	73	295	17
20/80	Obetat	5150	105	16,4	1,0	46,7	663	12,5	60,4	15,7	72	312	7
0/100	Obetat	5210	106	16,4	1,0	47,7	670	12,7	60,6	16,1	72	295	1
100/0	Anchor	5070	103	16,4	1,0	43,4	626	12,0	60,5	15,4	74	360	1
80/20	Anchor	5170	105	16,5	1,1	44,6	636	12,1	60,3	15,4	74	341	0
60/40	Anchor	5240	107	16,4	1,0	44,7	645	12,4	60,3	15,6	76	335	0
40/60	Anchor	5190	106	16,4	0,9	45,5	653	12,5	60,4	15,8	73	334	0
20/80	Anchor	5280	107	16,5	0,9	46,9	663	12,7	60,1	15,7	74	308	0
0/100	Anchor	5240	107	16,4	1,0	47,3	672	12,6	60,7	15,6	77	313	0
100/0	Fungazil A 25	4920	100	16,4	1,3	42,5	621	12,0	60,5	15,4	76	330	9
80/20	Fungazil A 25	5010	102	16,4	1,1	43,4	633	12,3	60,4	15,5	73	321	6
60/40	Fungazil A 25	5030	102	16,4	1,0	44,7	643	12,3	60,0	15,4	76	309	4
40/60	Fungazil A 25	5120	104	16,4	1,0	46,1	654	12,7	60,5	15,6	75	297	3
20/80	Fungazil A 25	5200	106	16,6	1,1	46,7	662	12,9	60,0	16,1	74	301	1
0/100	Fungazil A 25	5170	105	16,6	1,0	46,6	670	12,9	59,8	15,7	76	310	1
LSD		180*	-	0,3	0,3	1,1*	5*	0,3*	0,6	0,9	5	21*	3,9*

¹Led (Smittograd sjukt/friskt i utsädesblandningen, 100 % smittat = 63% *D. teres* (Kinnan), 100 % friskt = 6% *D. teres* (Filippa)), Vh (Vattenhalt), Tkv (Tusenkorvikt), Rdv (Rymdvikt), Stärk. (Stärkelse), Erg. (Ergosterol), Strå. (Stråstyrka 0-100%), Plant. (Planttäthet), Bladfl. (Kornets bladfläcksjuka). Asterisk (*) visar signifikant skillnad mellan obetat och betat försöksled vid $p=0,05$.

Tabell 2. Betning med fungicider mot kornets bladfläcksjuka i vårkorn. Fältförsök på tre platser 2010 med utsäde av sorten Mercada i olika smittograder och två behandlingar: obetat eller betning med Rancona IM 100 ml/kg.

Led ¹	Behandling	Skörd Kg/ha	Rel. skörd	Vh %	Avfall %	Tkv g	Rdv g/l	Protein %	Stärk. %	Erg. %	Strå. %	Plant. pl/m ²	Bladfl. pl/m ²
100/0	Obetat	5590	100	24,5	2,6	41,2	577	12,1	56,9	14,9	65	287	33
80/20	Obetat	5490	98	24,0	2,5	42,2	593	11,6	57,1	14,4	68	287	28
60/40	Obetat	5450	97	23,7	2,6	41,7	586	11,9	57,0	14,9	70	266	18
40/60	Obetat	5590	100	24,4	3,2	40,7	584	12,0	57,0	14,5	68	286	16
20/80	Obetat	5710	102	23,9	1,8	43,8	599	11,8	57,5	15,0	63	270	9
0/100	Obetat	5890	105	23,9	1,7	43,2	599	11,6	57,5	15,0	63	269	1
100/0	Rancona IM	5660	101	24,9	3,3	41,0	582	11,8	57,3	14,5	65	277	13
80/20	Rancona IM	5750	103	24,3	3,1	41,2	583	11,9	57,1	15,4	73	291	15
60/40	Rancona IM	5700	102	24,6	2,8	41,2	585	11,7	57,1	14,9	65	278	9
40/60	Rancona IM	5600	100	24,3	2,5	43,5	597	11,8	57,5	14,6	65	269	6
20/80	Rancona IM	5680	102	24,4	2,1	41,5	585	11,5	57,0	14,7	63	287	3
0/100	Rancona IM	5590	100	24,2	2,4	42,0	589	11,8	57,2	15,0	68	273	1
LSD		420	-	1,1	1,0*	1,7*	11*	0,5	0,7	0,8	11	33	5,5*

¹Led (Smittograd sjukt/friskt i utsädesblandningen, 100 % smittat = 100% *D. teres*, 100 % friskt = 0% *D. teres*), Vh (Vattenhalt), Tkv (Tusenkorvikt), Rdv (Rymdvikt), Stärk. (Stärkelse), Erg. (Ergosterol), Strå. (Stråstyrka 0-100%), Plant. (Planttäthet), Bladfl. (Kornets bladfläcksjuka). Asterisk (*) visar signifikant skillnad mellan obetat och betat försöksled vid $p=0,05$.

3.1.2 Vårvete

I undersökningen med vårvete (Tabell 3) medförde utsädesmitta med *Fusarium* spp. att planttätheten minskade i maj med ökad smittograd. Betning med Celest Extra Formula M medförde en signifikant och positiv effekt på tusenkornvikt, rymdvikt, proteinhalt samt ergosterol. Betningsmedlet medförde ingen större inverkan på skörden (-20 till +70 kg/ha) jämfört med obetat utsäde. Det fanns inget rakt samband mellan skörd och *Fusarium*-smitta i utsädet.

Tabell 3. Betning med fungicider mot fusarium i vårvete. Resultat av fältförsök på tre platser 2008. Utsäde av sorten SW Vinjett i olika smittograder och två behandlingar: obetat eller betning med Celest Extra Formula M 200 ml/kg.

Led ¹	Behandling	Skörd Kg/ha	Rel. Skörd	Vh %	Avfall %	Tkv g	Rdv g/l	Protein %	Gluten %	Stärk. %	Erg. %	Plant. pl/m ²
100/0	Obetat	5230	100	17,9	0,59	41,4	788	13,1	30,6	69,8	12,3	308
80/20	Obetat	5400	103	17,9	0,53	40,8	787	13,1	30,7	70,1	13,1	352
60/40	Obetat	5270	101	17,8	0,44	40,1	782	13,3	31,4	70,1	13,5	363
40/60	Obetat	5330	102	18,0	0,75	40,4	785	13,5	31,8	70,0	13,9	340
20/80	Obetat	5390	103	17,8	0,53	40,3	783	13,2	31,2	70,4	14,1	381
0/100	Obetat	5240	100	17,7	0,51	39,8	780	13,4	31,7	70,2	14,4	400
100/0	Celest Extra	5210	100	17,8	0,40	40,2	784	13,0	30,5	70,0	12,1	407
80/20	Celest Extra	5380	103	17,8	0,53	39,9	787	13,1	30,9	70,2	13,6	392
60/40	Celest Extra	5340	102	17,7	0,35	39,3	786	13,3	31,3	70,0	13,3	391
40/60	Celest Extra	5290	101	17,7	0,46	39,9	782	13,4	32,0	70,0	13,6	384
20/80	Celest Extra	5410	103	17,8	0,51	39,7	785	13,3	31,6	70,2	14,0	364
0/100	Celest Extra	5280	101	17,8	0,53	39,2	780	13,5	31,9	70,2	14,6	384
LSD		350	-	0,3	0,3	0,9*	4*	0,3*	1,2	0,3	0,9*	62

¹Led (Smittograd sjukt/friskt i utsädesblandningen, 100 % smittat = 13 % *Fusarium* spp., 100 % friskt = 0 % *Fusarium* spp.), Vh (Vattenhalt), Tkv (Tusenkorvikt), Rdv (Rymdvikt), Stärk. (Stärkelse), Erg. (Ergosterol), Plant. (Planttäthet). Asterisk (*) visar signifikant skillnad mellan obetat och betat försöksled vid $p=0,05$.

3.1.3 Höstvete

I höstveteförsöket (Tabell 4) undersöktes förekomsten av fusarium genom att gräva upp planter i april-maj. Andelen mörkfärgade rötter och bladslidor ökade signifikant med mängden *Fusarium* spp. (inkluderat *M. nivale*) i utsädet, medan planttätheten minskade. Betning med Celest Formula M hade en signifikant effekt endast på skörden även om trenden var positiv vid betning även för andra agronomiska egenskaper.

Tabell 4. Betning med fungicider mot fusarium i höstvete. Fältförsök på tre platser 2010. Utsäde av sorten SW Magnifik i olika smittograder och två behandlingar: obetat eller betat med Celest Formula M 200 ml/kg.

Led ¹	Behandling	Skörd Kg/ha	Rel. Skörd	Tkv g	Rdv g/l	Protein %	Gluten %	Stärk. %	Erg. %	Strå. %	Plant. pl/m ²	% Mf. rötter	% Mf. bladsl.
100/0	Obetat	6230	100	31,5	756	13,4	32,2	69,7	12,1	96	255	34,6	38,9
80/20	Obetat	6320	101	31,8	760	13,2	31,6	69,9	11,9	96	295	22,2	24,5
60/40	Obetat	6450	104	31,8	760	13,3	31,7	69,8	12,0	97	308	19,3	24,3
40/60	Obetat	6860	110	33,2	762	12,9	30,6	70,4	11,9	97	339	15,1	22,4
20/80	Obetat	6850	110	32,7	764	13,1	31,0	70,2	11,9	96	348	14,3	18,0
0/100	Obetat	6910	111	32,4	759	13,2	31,5	70,0	11,8	97	364	5,3	7,0
100/0	Celest Formula	6690	107	32,1	759	13,2	31,5	70,1	12,0	97	307	7,8	11,3
80/20	Celest Formula	6740	108	32,0	762	13,1	31,1	70,1	11,9	97	290	-	-
60/40	Celest Formula	6690	107	32,1	762	13,1	30,9	70,2	11,7	97	304	-	-
40/60	Celest Formula	6830	110	33,0	763	13,0	30,8	70,3	11,9	97	307	-	-
20/80	Celest Formula	6920	111	32,5	761	13,2	31,3	70,2	11,9	96	378	-	-
0/100	Celest Formula	6790	109	31,9	761	13,3	31,6	70,0	11,8	96	333	-	-
LSD		350*	-	1,2	8	0,5	1,7	0,6	0,4	1	72	10,3*	12,3*

¹Led (Smittograd sjukt/friskt i utsädesblandningen, 100 % smittat = 37% *Fusarium* spp., 100 % friskt = 0% *Fusarium* spp.), Tkv (Tusenkorvikt), Rdv (Rymdvikt), Stärk. (Stärkelse), Erg. (Ergosterol), Strå. (Stråstyrka 0-100%), Plant. (Planttäthet, plantor/m²), % Mf. (Mörkfärgade rötter respektive bladslidor orsakat av fusarium). Asterisk (*) visar signifikant skillnad mellan obetat och betat försöksled vid $p=0,05$.

3.1.4 Havre

Även i havreförsöket (Tabell 5) undersöktes förekomsten av fusarium genom att gräva upp plantor. Andelen mörkfärgade rötter och bladslidor ökade signifikant med mängden *Fusarium* spp. i utsädet, medan planttätheten minskade generellt. Betning hade en signifikant effekt på skörd, vattenhalt, avfall, stråstyrka och planttäthet. Det fanns dock inget entydigt samband mellan andelen *Fusarium* spp. i utsädet och agronomiska egenskaper.

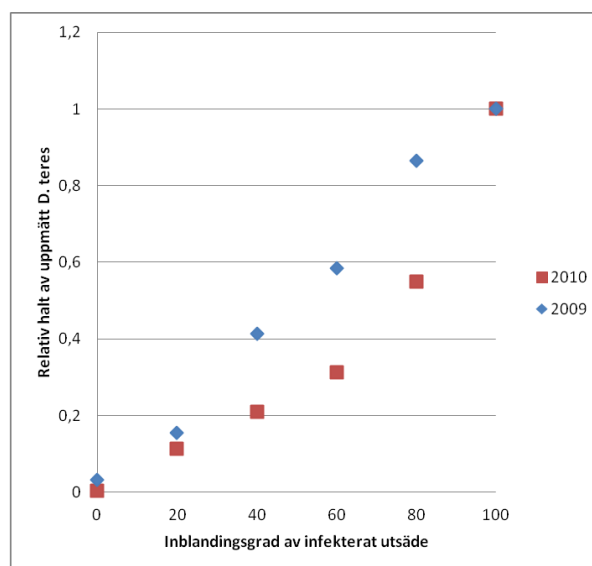
Tabell 5. Betning med fungicider mot fusarium i havre. Fältförsök på en plats 2010 med utsäde av Kerstin i olika smittograder och behandlingar: obetat eller betning med Celest Formula M 200 ml/kg.

Led ¹	Behandling	Skörd Kg/ha	Rel. Skörd	Vh %	Avfall %	Tkv g	Rdv g/l	Protein %	Strå. %	Plant. pl/m ²	% Mf. rötter	% Mf. bladsl.
100/0	Obetat	5050	100	18,8	2,4	36,2	492	10,3	71	336	13,1	18,2
80/20	Obetat	4900	97	18,4	2,2	35,4	496	9,9	69	383	12,9	19,4
60/40	Obetat	5310	105	19,0	2,5	36,1	495	10,9	63	363	9,9	15,7
40/60	Obetat	5140	102	18,5	2,1	36,0	496	10,7	64	421	4,9	11,6
20/80	Obetat	5500	109	18,2	2,0	34,9	510	10,3	56	450	8,7	14,0
0/100	Obetat	5350	106	18,1	1,9	34,6	511	10,3	54	455	3,4	5,7
100/0	Celest Formula	5040	100	18,7	2,4	35,3	505	10,3	65	409	0,8	4,5
80/20	Celest Formula	5440	108	18,6	2,3	35,6	500	10,1	59	414	-	-
60/40	Celest Formula	5370	106	18,3	1,9	34,3	514	10,3	61	437	-	-
40/60	Celest Formula	5430	108	18,2	1,6	34,7	510	10,1	61	425	-	-
20/80	Celest Formula	5410	107	18,0	1,7	35,1	507	9,9	65	440	-	-
0/100	Celest Formula	5500	109	18,2	1,7	35,4	511	10,1	53	448	-	-
LSD		400*	-	0,6*	0,6*	1,5	17	0,6	11*	45*	4,5*	7,6*

¹Led (Smittograd sjukt/friskt i utsädesblandningen, 100 % smittat = 23-30% *Fusarium* spp., 100 % friskt = 0% *Fusarium* spp.), Vh (Vattenhalt), Tkv (Tusenkorntvikt), Rdv (Rymdvikt), Strå. (Stråstyrka 0-100 %), Plant. (Planttäthet, plantor/m²), % Mf. (Mörkfärgade rötter respektive bladslidor orsakat av fusarium). Asterisk (*) visar signifikant skillnad mellan obetat och betat försöksled vid $p=0,05$.

3.2 Jämförelse mellan Realtids-PCR och biotester

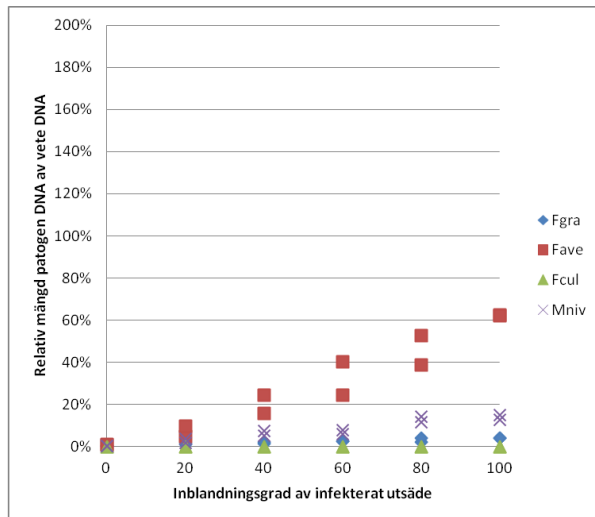
I försöken med realtids-PCR utprovades specifika DNA-prober för att kunna identifiera patogenerna *D. teres*, *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* och *M. nivale*. Därefter undersöktes förekomsten av patogenerna vid olika smittograder i utsädespartier och i fält. RT-PCR metoden och de utvalda DNA-proberna kunde särskilja de olika smittograderna i utsädesblandningarna för samtliga patogener (Figur 3). Överensstämmelsen mellan olika delprover var god. Analysen kunde utföras på frö, blad eller rötter, vilket var till fördel för att undersöka sjukdomsförloppet vid olika tidpunkter i fält eller för sjukdomar som t.ex. fusarium där symptomen är otydliga. För dessa analyser grävdes plantor upp för undersökning av stråbaser och rottdelar.



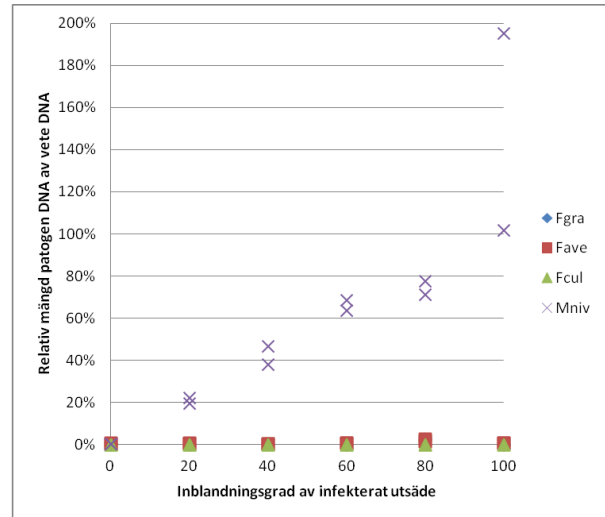
Figur 3. RT-PCR analys av relativt halt uppmätt DNA av *D. teres* jämfört med DNA av korn vid olika smittograd i utsädesblandningar av vårkorn 2009 och 2010.

Den relativa mängden uppmätt DNA varierade kraftigt mellan olika år för fusariumpatogenerna i vete. Under 2008 (Figur 4a) var överensstämmelsen mellan smittograd och halt patogen mycket god. Under 2009 (Figur 4b) uppmättes däremot ingen förekomst av fusarium i utsädesblandningarna oberoende av smittograd. Detta bekräftade att den traditionella filterpappersmetoden inte kan särskilja *Fusarium* spp. från *Microdochium* sp. (Sperlingsson, 2003), vilket betydde att resultaten av fältförsöket för höstvetet år 2010 bör relateras till *M. nivale* snarare än fusarium.

För kornets bladfläcksjuka undersöktes överensstämmelsen mellan resultat från den konventionella osmometoden och RT-PCR (Tabell 6) i utsädespartier av vårkorn. PCR-metoden uppmätte en betydligt lägre procentuell förekomst *D. teres* jämfört med osmometoden. Skillnaderna mellan resultat från de båda metoderna varierade mellan olika utsädespartier, även för partier med samma osmometod-värde t.ex. Orthega prov F och G där osmometoden uppmätt 25 % *D. teres* och PCR-metoden 15 % respektive 3 %. Detta illustrerar skillnaderna i de båda mätmetoderna. Osmometoden mäter förekomst och spridning av kornets bladfläcksjuka dvs. procent infekterade kärnor i ett utsädesprov. RT-PCR har i försöket använts för att mäta förekomst och total halt patogen-DNA i ett utsädesprov. Kärnorna i prov F var alltså betydligt mer infekterade av *D. teres* än kärnorna i prov G.



Figur 4a. Patogeninnehåll (DNA) i veteutsäde av olika smittograd år 2008.



Figur 4b. Patogeninnehåll (DNA) i veteutsäde av olika smittograd år 2009

Tabell 6. Jämförelse av osmometoden och realtids-PCR för bestämning *D. teres* i vårkorn. Osmometoden anger procent infekterade kärnor. Osmometod rel. värde anger värdet relaterat till prov J. RT-PCR anger procent patogen-DNA relaterat till prov J, vilket visade den högsta patogen-DNA förekomsten vid RT-PCR.

Prov	Sort	Osmometod	Osmometod rel. värde	RT-PCR	Överensstämmelse
A	Pasadena	2 %	4 %	1 %	25 %
B	Orthega	5 %	9 %	1 %	11 %
C	Justina	0 %	0 %	0 %	100 %
D	Gustav	19 %	33 %	5 %	15 %
E	Orthega	18 %	32 %	15 %	47 %
F	Orthega	14 %	25 %	15 %	60 %
G	Orthega	14 %	25 %	3 %	12 %
H	SW xxxx	15 %	26 %	7 %	27 %
I	Mercada	67 %	118 %	92 %	78 %
J	Mercada	57 %	100 %	100 %	-

4. Diskussion

Utsädets smittograd hade en direkt betydelse för primärangreppets storlek för kornets bladfläcksjuka i vårkorn och fusarium i vårvete, höstvetet och havre. Angreppen minskade med ökande andel friskt utsäde. Konsekvenserna av utsädets smittograd och primärsmitta för skörd och andra agronomiska egenskaper var dock varierande och något entydigt samband kunde inte fastställas. En minskad effekt av betningsmedlet under säsongen berodde troligen på restsmitta (den smitta som betningen inte avdödat) eller vindburna sporer som etablerat sig när betningsmedlet upphört att verka och klimatet varit gynnsamt.

Utsädesburna sjukdomar kan leda till minskad grobarhet och minskad planttäthet. Detta bekräftades för fusarium i vårvete, höstvetet och havre där planttätheten ökade 23-30 % med ökad andel friskt utsäde. Kornets bladfläcksjuka verkade dock inte ha något samband med planttätheten, som tvärtom minskade 6-14 % med ökad andel friskt utsäde. Sambandet mellan planttäthet och skörd var inte entydigt. För både kornets bladfläcksjuka i vårkorn, och fusarium i vårvete, höstvetet och havre var skörden bibehållen i flera fall trots högre grad av smittat utsäde. Detta berodde troligen på grödans förmåga att kompensera för minskad planttäthet under växtsäsongen (May et al., 2010).

Betning med Anchor, Fungazil A 25 eller Rancona IM i vårkorn minskade starkt andelen primärsmittade plantor med kornets bladfläcksjuka. Anchor var det överlägset bästa betningsmedlet ur denna synpunkt. Effekten av Anchor (98-99 %) kan jämföras med undersökningar med bakteriepreparatet Cedomon, som rapporterats visa en effekt på 80 % (Wiik, 2012) respektive 97 % minskade primärangrepp av kornets bladfläcksjuka (Waern, 2011).

Både Anchor och Fungazil A 25 hade en positiv effekt på planttätheten i vårkorn samt på tusenkornvikt, rymdvikt och proteinhalt. Betning med Anchor hade en varierande men positiv effekt jämfört med obetat för alla smittograder, medan betning med Fungazil A 25 eller Rancona IM hade en i många fall negativ effekt jämfört med obetat. Eftersom samtliga betningsmedel gav en merskörd jämfört med obetat vid mer än 40 % *D. teres* i utsädet skulle detta kunna utgöra ett tröskelvärde för betning. Utsädesenheten vid Jordbruksverket meddelade krav avseende betning mot *Drechslera* spp. i vårkorn säsongen 2007-2008 (2007-11-07, Dnr 22-11213/07), bland annat på grund av sviktande effekter som vissa fungicider visade i fältförsök (Johnsson & Wiik 2005; Wiik 2007).

Betning med Celest Extra Formula M eller Celest Formula M hade en signifikant och positiv effekt på tusenkornvikt, rymdvikt, proteinhalt och ergosterol i vårvete, men endast signifikant effekt på skörden i höstvetet. Betning hade en signifikant positiv effekt på skörd, planttäthet m.m. i havre. Något direkt samband mellan smittograd av fusarium i utsädet och skörd kunde inte fastställas. Tidigare undersökningar av sambandet mellan fusarium och behandling av utsäde har gett olika resultat. Skillnader i klimat och årsmån kan inverka, och det tycks som om betning endast har en indirekt effekt på skörd genom ökad planttäthet. En möjlighet är därför att för utsädespartier med medelhöga smittograder rekommendera en ökad sår mängd istället för betning (May et al., 2010).

Den molekylära metoden Realtids-PCR visade sig vara både specifik och noggrann och skulle med fördel kunna användas för snabb identifiering av växtpatogenerna *D. teres*, *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* och *M. nivale*. Även mängden växtpatogen kunde bestämmas i olika växtdelar, vilket är förutsättningarna för att kunna följa patogenens utveckling i grödan under växtsäsongen. Försöken visade att utsädespartier på grund av filtrerpap-

persmetodens begränsningar kan bedömas som infekterade med fusarium och i behov av betning när det egentligen rör sig om snömoegel. RT-PCR kan här utgöra ett viktigt komplement för att bestämma sammansättningen av patogener.

Överensstämmelsen mellan den konventionella osmometoden och RT-PCR var låg men påvisade tydligt skillnaderna i mätmetod. Vid bestämning av utsädesburna patogener är spridningen såväl som halten patogen i utsädet av betydelse för den vidare sjukdomsutvecklingen. RT-PCR metoden skulle kunna utvecklas och standardiseras bl.a. för att med poolade DNA-analyser kunna bestämma spridningen av patogener i utsädesprov. En metodutveckling vore fördelaktig då det skulle bli möjligt att med ett enda prov, snabbt och noggrant bestämma förekomst, spridning och mängd av ett antal växtpatogener. En framtida studie skulle även kunna kombineras med en kostnadsanalys för att jämföra konventionella och molekylära metoder, då kostnadseffektivitet är en viktig del av analysens praktiska användning.

Mot bakgrund av resultaten från projektet kan det diskuteras om utsädesburna sjukdomar har någon egentlig negativ inverkan för stråsådesgrödor, och om betning över huvud taget ska tillämpas då kemiska betningsmedel kan ha negativa effekter på miljön. Användandet av friskt utsäde har dock betydelse för smittograden i nästkommande generation av utsädet och grödan. Att helt avstå från utsädeskontroller och behandling med kemiska eller icke-kemiska metoder får därför negativa konsekvenser på längre sikt. Snabb utsädeskontroll och behandling vid behov utgör viktiga förebyggande åtgärder inom ett långsiktigt, hållbart lantbruk. Utifrån resultaten av projektet skulle detta kunna kompletteras med molekylära PCR-metoder för identifiering och bevakning av växtpatogener.

5. Publikationer

Skånska Lantbruk utges av Hushållningssällskapet (HS) Malmöhus och HS Kristianstad.
Wiik, L. 2009. Betning mot kornets bladfläcksjuka. *Skånska Lantbruk* 42 (2), s. 13-16.
Wiik, L. 2009. Betning mot Fusarium på vårvede. *Skånska Lantbruk* 42 (2), s. 20-22.

6. Övrig resultatsförmedling till näringen

I januari 2009 träffades en referensgrupp som diskuterade projektet. Referensgruppen bestod av Torsten Andersson Svenska Foder, Sven-Olof Bernhoff Skånefrö, Anders Dahlqvist ScanBi, Mikael Haglund Frökontrollen Mellansverige AB, Bo Hellstedt Lantmännen, Olof Juhl Bayer, Toma Magyarosi SW, Ulf Möller NA, Ann-Kristin Nilsson BASF, Karin Sperlingsson Utsädesenheten SJV, Hans Rasmussen Syngenta, Peder Waern Växtskyddscentralen SJV, Per Widén Bioagri Lantmännen.

Den 18 mars 2010 hölls ett betningsmöte vid SLU i Alnarp. Företrädare från näringen informerades om försöksresultat och diskuterade bekämpningsmedelsrekommendationer samt gränsvärden för betning. Medverkande var Svenska Foder, ScanBi, Frökontrollen Mellansverige AB, Lantmännen, Bayer, SW Seed AB, NA, SLU, BASF, Syngenta, SLU Partnerskap Alnarp, Utsädesenheten SJV samt Växtskyddscentralen SJV. Flera sammankomster har hållits, vilket även utmynnat i konferensen *Hållbar svensk växtodling, konkurrens på lika villkor* i februari 2011 i regi av SLU Partnerskap Alnarp. Gruppen fortlever och verkar bl.a. för att Växtskyddsrådet ska uppmärksamma betningsfrågor.

Referenser

- Bengtsson A, Kolk H, Kåhre L, Lihnell D. 1975. Sambandet mellan smittograd och betningseffekt hos våra sädeslag. Statens Växtskyddsanstalts Medd. 16 (169), 215-244.
- Fountain JM, Shaw MW, Napier B, Ward E, Fraaije BA. 2007. Application of real-time and multiplex polymerase chain reaction assays to study leaf blotch epidemics in barley. *Phytopathol.* 97, 297-303.
- Forsberg G, Johnsson L, Lagerholm J. 2005. Effects of aerated steam seed treatment on cereal seed-borne diseases and crop yield. *Z. für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 112 (3), 247-256.
- Gerhardson B. 2002. Biological Substitutes for Pesticides. *Trends in Biotechnology.* 20, 338-343.
- Johnsson L. 1996. Betning med reducerade doser mot bladfläcksjukdomar i korn och stinksot i vete. 37:e svenska växtskyddskonferensen. *Jordbruk - Skadedjur, växtsjukdomar och ogräs*, 257-267.
- Johnsson L, Wiik L. 2005. Betning i stråsäd. Försöksrapport 2005 för Mellansvenska försökssamarbetet och Svensk raps, 198-201.
- Johnsson L, Gerhardson B, Wiik L. 2005. Effekter av betning och kärnstorlek på utsädesburna sjukdomar i stråsäd. *Medd. från södra jordbruksförsöksdistriktet*, 58, 22:1-22:6.
- Jordbruksverket. 2010. *Fusarium, Septoria och Bipolaris. Utsädesenheten. Kvalitetshandboken Dok. Nr. 3.L.SU.03.*
- Klemsdal SS, Elen O. 2006. Development of a highly sensitive nested-PCR method using a single closed tube for detection of *Fusarium culmorum* in cereal samples. *Letters in Applied Microbiology* 42, 544-548.
- Lantmännen. 2007. www.lantmannen.se. Sök på Cedomon och Thermosteed.
- May WE, Fernandez MR, Lafond, GP. 2010. Effect of fungicidal seed treatments on the emergence, development, and grain yield of *Fusarium graminearum*-infected wheat and barley seed under field conditions. *Can. J. Plant Sci.* 90, 893-904.
- McCartney HA, Foster SJ, Fraaije BA, Ward E. 2003. Molecular diagnostics for fungal plant pathogens. *Pest Manag. Sci.* 59, 129-142.
- SJV. 2008. www.sjv.se, 2008-09-29.
- Sperlingsson K. 2003. *Fusarium* på stråsådeskärnor – förekomst och variation mellan åren. Meddelande från Södra jordbruksförsöksdistriktet 56. Rapport från växtodlings- och växtskydds dagar i Växjö den 10 och 11 december 2003. Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU.
- Sperlingsson K, Brodal G. 2011. The osmotic method for detection of *Pyrenophora teres* and *P. graminea* on *Hordeum vulgare*. *Seed Testing International* 141, 34-38.
- Svensson, C. 1981. Ny metod för bestämning av utsädesburna sjukdomar. (Nordisk växtskyddskonferens 1981, del 1). *Växtskyddsrapporter. Jordbruk* 15, 115-118. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Tan M-K, Niessen LM. 2003. Analysis of rDNA ITS sequences to determine genetic relationships among, and provide a basis for simplified diagnosis of, *Fusarium* species causing crown rot and head blight of cereals. *Mycol. Res.* 107 (7), 811-821.
- Waalwijk C, Van Der Heide R, De Vries I et al. 2004. Quantitative Detection of *Fusarium* Species in Wheat Using TaqMan. *Eur. J. Plant Pathol.* 110, 481-494.
- Waern P. 2011. Betning mot kornets bladfläcksjuka. Försöksrapport 2010 för Mellansvenska försökssamarbetet och Svensk Raps, 208-209.
- Wiik L. 2007. Betning mot kornets bladfläcksjuka. *Medd. från södra jordbruksförsöksdistriktet nr. 60*, 27:1-27:7.
- Wiik L. 2012. Betning mot kornets bladfläcksjuka. Skåneförsök 2011, 154-157 (under publicering).
- Yoshida M, Kawada N, Nakajima T. 2007. Effect of infection timing on *Fusarium* head blight and mycotoxin accumulation in open- and closed-flowering barley. *Phytopathol.* 97, 1054-1062.