

## Slutrapport av projekt H0860030 Stiftelsen Lantbruksforskning

### Studier av infektionsprocessen av *Sclerotinia sclerotiorum* i vårraps och vidareutveckling av modell för riskbedömning 2009

#### Bakgrund

Oljeväxtodlingen har ökat kraftigt som följd av ökande rapspris, och har de senaste åren uppgått till närmare 110 000 ha. En större odlad areal leder till ökad risk för angrepp av flera svårbekämpade sjukdomar. Bomullsmögel (*Sclerotinia sclerotiorum*), orsakar stora skador i vårraps och höstraps år när klimatet varit gynnsamt för svampens utveckling. Resistens saknas och en fungicidbehandling måste göras förebyggande, innan symptomen är synliga, vilket kräver att odlaren gör en aktiv bedömning av risken för angrepp. Det verktyg som finns att tillgå är en ”riskvärdering” som utarbetats vid SLU (Anonym a), där nederbörd och lokala observationer från sklerotiedepåer ger en regional vägledning. Den tyska prognosmodellen SkleroPro (Koch et al., 2007) som lanserats stort, har utvärderats i danska fältförsök och med fälthistoriska data i odlingar, och inte visat sig vara användbar (Helltoft Jensen et al., 2011). Båda modellerna saknar fältspecifika data, vilket bidrar till att samstämmighet mellan resultatet av riskvärderingen och det slutliga angreppet är låg. För att kunna identifiera fält med bekämpningsbehov, måste kunskap finnas om svampen finns i fältet och i vilken omfattning.

I SLF projekt VO655009 utvecklade vi 2006-2007 en metod baserad på Realtids-PCR, för att snabbt och effektivt detektera infekterade kronblad i fält, (Wallenhammar et al., 2008). Under 2007 visade analyserna stor förekomst av infekterade kronblad i flera fält, medan motsvarande fältangrepp blev låga, trots att förhållandena för svampens utveckling bedömdes som gynnsamma. Kunskaperna om infektionsprocessens förlopp fördjupades genom att sporens kolonisering av rapsplantan följdes i tid under 2008 i SLF projekt H0760001. Sklerotinia DNA bestämdes med Realtids-PCR på olika bladnivåer på rapsplantans stjälk och på kronblad under blomningsperioden, i två olika sorter i två fältförsök. I detta projekt har vi fört in ytterligare en parameter för att öka precisionen i riskvärderingen. Genom att placera en Burkhard 7-day volumetric sporfälla i ett fält har vi ökat kunskaperna om sporspridning över tid, samtidigt som undersökningarna med detektion på rapsstjälkens blad och kronblad i fältförsök har fortsatt.

#### Material och metoder

##### Studier av infektionsförloppet i fält

Då arbetsintensiteten i projektet är hög, med upprepade provtagningar och omfattande analyser, lades endast ett försök ut 2009. En stor del av analyskostnaderna för 2008 har belastat 2009 års budget.

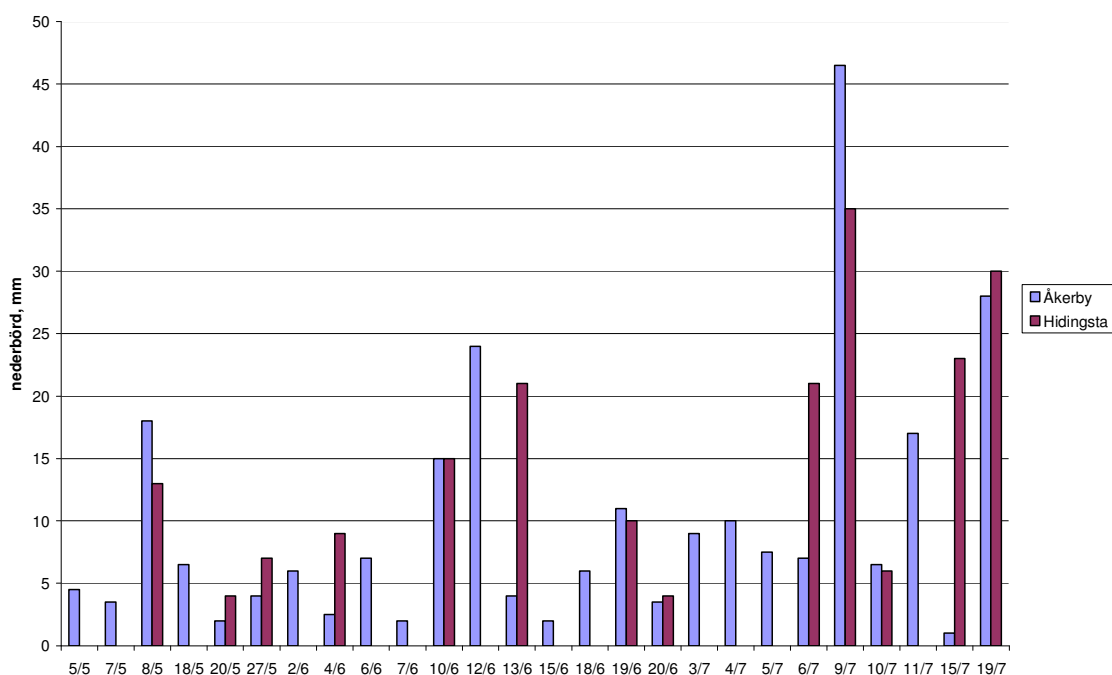
##### Fältförsök

Försöksdesignen är randomiserad block design med 2 led x 4 block med en rutstorlek på 45 m<sup>2</sup> (4,5 x 10 m). Två olika sorttyper såddes i slutet av april i fältförsök på Hidingsta i Örebro län (tabell 1), en gård där oljeväxter odlas regelbundet och där angrepp av bomullsmögel förekommer ofta. Försöket placerades i den del av fältet som gränsade mot ett fält där raps odlades för fyra år sedan. I enlighet med projektplanen har försöket inte skördats.

Tabell 1. Beskrivning av försöksplatsen

Försöksplats	Såtidpunkt	Senaste oljevästgröda år
Hidingsta, Kumla, N 59° 17'	1 maj	1998

2009 valdes SW Joplin som A- sort och RG Larissa (SSD) som B-sort. Båda sorterna är högväxande med snabb uppkomst och ger ett kraftigt och tätt bestånd, och som bedöms likvärdiga beträffande bomullsmögelangrepp (Roland, 2009). Den låg- och långsamvuxna Nex 180 (SSD) som användes 2008 har försvunnit från marknaden. I samband med sådden blandades 2,25 g sklerotier tillsammans med utsädet, vilket motsvarar 120-150 st sklerotier eller 3-4 sklerotier m<sup>-2</sup>. Nederbörden på försöksplatsen har dokumenterats (figur 1).



Figur 1. Nederbördsmängder 2009 vid försöksplatsen Hidingsta, Hallsberg och för fältet där sporfällan placerades, Åkerby, Örebro.

#### *Insamling av växtprover*

Försöken besöktes under blomningsperioden en gång i veckan för provtagning. Under 2008 togs prover var 5:e dag, och pga. av den stora provmängden att analysera, ökades provtagningsintervallet till 7 dagar. Provtagningar gjordes första gången den 16 juni och avslutades den 14 juli när odlingen var avblommad. Totalt togs prover vid fem tidpunkter. Vid varje provtagningsstillfälle klipptes tre plantor/parcell för detektion av sporer på blad. Alla blad längre än 5 cm lades i enskilda plastpåsar märkta med bladnivånummer. Samtidigt klipptes slumpmässigt 20 st blomställningar/parcell och lades i enskilda plastpåsar. Samma procedur upprepades på fyra olika provtagningsplatser i fältet. På laboratorium placerades sedan 2 kronblad från varje blomställning i enskilda 0,2 ml rör för PCR-analys. Samliga växtprover har förvarats i frys i -18° C fram till analys vid molekylärbiologiska laboratoriet på Eurofins Food & Agro Testing Sweden AB i Lidköping.

### *Burkardspore trap*

Sporfällan har installerats och körts enligt instruktionerna i "Operating Instructions" för Seven-day recording volumetric spore trap enligt tillverkaren Burkhard Manufacturing Co Ltd, Rickmansworth Hertfordshire WD3 IPJ, UK. Sporfällan suger kontinuerligt in luften mot en sakta roterande vidhäftningsyta. Som vidhäftnings yta användes Melinex-tejp täckt med silikonfett (McNett Corporation, Bellingham, WA 98229). Tejpen byttes veckovis och klipptes i delar motsvarande dygnsfångster. Tejperna har sedan preparerats för molekylär diagnostik enligt (Lacey och West, 2006). Kontakt med Jonathan S West, Rothamsted, hölls i projektets inledande skede.

### *Bestämning av sjukdomsangrepp*

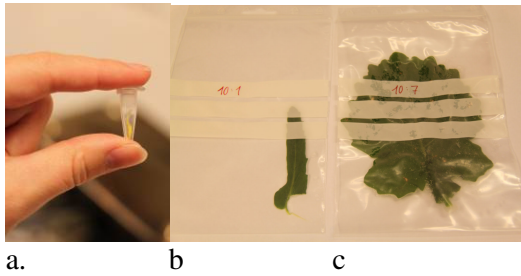
Gradering av fältförsöken gjordes i mitten av augusti när oljeväxterna var i begynnande mognad och 25 plantor undersöktes på fyra ställen 1 m in från parcellens kortsida och rad nummer 6 från höger och vänster sida. Totalt undersöktes 100 plantor/parcell. För att bedöma styrkan i infektionen har vi utarbetat ett sjukdomsindex. Plantorna graderades enligt följande klassificering; 0= frisk planta, 1= Rötan omsluter < 50 % av stjälkens omkrets, 2= Rötan omsluter 50-75 % av stjälkens omkrets, 3= Stjälkomslutande röta (stjälken grön), 4= Hela plantan död/ brådmogen. Sjukdomsindex har beräknats enligt formeln  $((X_1 \times 1) + (X_2 \times 2) + (X_3 \times 3) + (X_4 \times 4)) / 4 \times N$ , där  $X_n$  är antalet plantor i respektive klass (n) och N är totala antalet plantor per prov. Det fyra provtagningsplatserna i fältet graderades enligt ovan.

Tabell 2. Antal regndagar, total nederbörd och medeltemperatur före och under blomningsperioden på försöksplatsen Hidingsta och i Gräve, 2009

	Antal regndagar	Nederbörd mm	Medeltemperatur dygn, C°
<b>Hidingsta</b>			
Två veckor före blomning	2	15	15,8
Under blomning	2	14	18,6
<b>Gräve</b>			
Två veckor före blomning	6	13,5	15,8
Under blomning	2	11	18,6

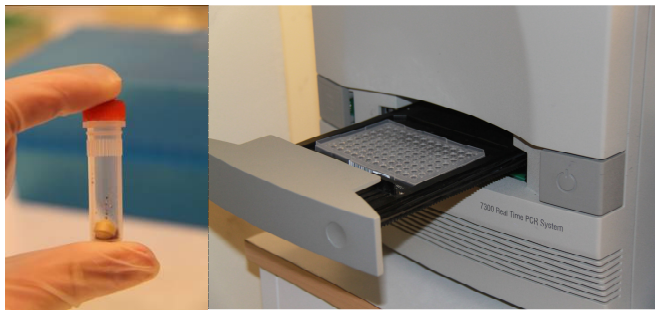
### **DNA-extraktion**

För analys av *S. sclerotiorum* DNA i växtmaterial har analysmetoderna som utvecklades i SLF-projekten VO655009 och H0760001 använts (Wallenhammar *et al.*, 2008). DNA extraheras från separata kronblad och blad och därefter detekteras *S. sclerotiorum* på dessa med realtids-PCR.



Figur 2a. Kronblad i PCR- rör samt blad från olika bladnivåer, b. blandnivå 1 (översta bladet) och c. bladnivå 7 (nedersta bladet).

För analys av *S. sclerotiorum* DNA i luftprover samlade på tejper har en ny typ av DNA-extraktion använts; FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals). Protokollet har anpassats för extraktion av DNA från tejprensor och följande modifieringar har gjorts. Tejporna har placerats i Lysing Matrix A rör med vidhäftningsytan mot rörets mitt. Extraktionslösningen CLS-Y användes och proven homogeniserade i en Hybaid Ribolyser 2x40 s på hastighet 6.0. Resten av protokollet följde tillverkarens rekommendationer. Samtliga DNA-extrakt renades därefter med Illustra MicroSpin S-300 HR Columns (GE Healthcare) enligt Wallenhammar et al. (2011).



Figur 3. Lysing Matrix A rör samt realtids-PCR-instrument.

### **Analys med realtids-PCR**

PCR-analys har körts på en stor del av det insamlade materialet. Prioriteringar har gjorts inom budgetramen för att fånga in avgörande händelser. Från varje parcell analyserades 10 kronblad från tio olika blomställningar vid respektive provtagningstillfälle, och av bladen analyserades tre olika blad för varje bladnivå.

Den realtids-PCR metod som vi hittills använt för att påvisa bomullsmögel på kronblad och blad är vidareutvecklad utifrån en konventionell PCR-metod framtagen av Freeman et al (2002). Metoden har i tidigare projekt endast använts semikvantitativt för att bestämma antal infekterade kronblad eller blad (%). För att kunna kvantifiera mängden sporer, t.ex. på ett tejpprov, måste man använda någon form av standardkurva. Under 2008, publicerades en ny metod för detektion och kvantifiering av *S. sclerotiorum* sporer i luftprover (Rogers et al 2008). Metoden bygger på ett nytt primerpar som författarna hävdar är mer specifikt och mer känsligt jämfört med det i den äldre metoden. Vi har under projektets gång försökt sätta upp samma metod i vårt laboratorium utan framgång. Under arbetets gång har vi haft mycket kontakt med Jonathan West (Rothamsted, Research, UK) som var med och utvecklade metoden. Tillsammans med honom kom vi först fram till att det troligtvis var p g a olika fabrikat av PCR reagenser som metoden inte fungerade. Eftersom detta normalt inte brukar innebära problem valde vi att istället fortsätta använda vår ursprungliga metod då den känns

mer robust. Det visade sig senare att orsaken till problemet med metoden var att primersekvenserna som publicerats inte var korrekta.

En standard har tagits fram genom att tillverka målsekvensen syntetiskt och sedan ligera in den i plasmider (cirkulärt bakteriellt DNA). Spädningsserier av plasmidextraktet kan sedan användas som standard. I Tabell 2 visas sekvensen som används och i Figur 3 ses ett exempel på en standardkurva. Analysen av standarden visade att primrar och prob kan amplifiera och detektera ner till 1 DNA-kopia. Vid analys av luftprover analyseras samtidigt standarden och på så sätt kan mängden DNA i okända prover beräknas. Standarden har levererats av Eurofins MWG Operon.

Tabell 2. Sekvensen på 288 bp som ligerats in i plasmiden som i sin tur sedan har använts som standard för *S. sclerotiorum*

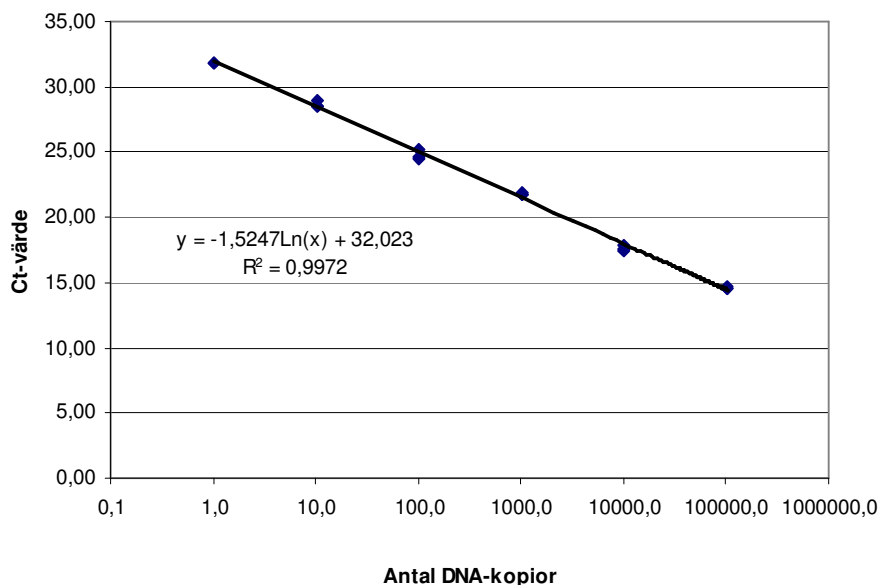
---

**Sekvens (5'-3')**

---

```
GGCGAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGTATGCTCGCCAGAGAATATCA
AAACTCTTTTTATTAATGTCGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCAT
CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGGGGGGGCAT
GCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTATTGA
GTCCATGTCAGTAAT
```

---



Figur 4. Exempel på en standardkurva för *S. sclerotiorum*. Varje tiofaldig spädning har analyserats med realltids-PCR i tre replikat. Kurvan som anpassades till mätpunkterna gav en mycket hög korrelationsfaktor ( $R^2 > 0.99$ ) och PCR-effektiviteten beräknades till ca 93 %.

### Statistisk bearbetning

Förekomst av *S. sclerotiorum* DNA på kronblad och blad vid olika datum och bladnivåer analyserades med Wilcoxon's icke-parametriska metod där varje behandling jämfördes med

varandra. Angrepp i fält analyserades med ANOVA följt av Tukey's test. Analyserna utfördes med JMP 9.0 (SAS Institute, 2010).

## Resultat

Resultaten från PCR-analyserna av kronbladen sammanfattas i tabell 3, och visar att sporer inte detekterades vid det första provtagningstillfället den 30 juni. Vid andra provtagningstillfället var nivåerna uppe i 23 % och 18 % infekterade kronblad för SW Joplin respektive RG Larissa (SSD). I SW Joplin är skillnaden statistiskt säkerställd. Under blomningen var temperaturen hög, i medeltal 26,6 °C under perioden 23 juni till 4 juli, vilket medförde att avblomningen gick snabbt samtidigt som perioden var nederbördsfattig. Max temperatur 29,5 °C noterades den 2 juli.

Tabell 3. Procent infekterade kronblad enligt PCR-analys 2009. Kronblad från två olika sorter analyserades i fyra block (I-IV)

Datum	Andel infekterade kronblad (%) <sup>1</sup>										
	Sort A SW Joplin					Sort B RG LarissaSsd					Sort A och B
	I	II	III	IV	Medel-värde	I	II	III	IV	Medel-värde	Medelvärde
30 juni	0	0	0	0	0 b <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0 b
7 juli	30	20	20	20	23 a	20	20	0	30	18	20 a

<sup>1</sup>Vid varje provtagningstillfälle har 10 kronblad från respektive block analyserats.

<sup>2</sup>Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader mellan olika datum.

I tabell 4 presenteras en sammanställning av analysresultaten som procent positiva prov för kronblad och blad. DNA av *S. sclerotiorum* kunde detekteras på bladen i relativt höga nivåer redan vid det första provtagningstillfället (Ct- värden redovisas inte här) i båda sorterna. Det framgår att vid första provtagningstillfället, innan blomningen den 16 juni, fanns DNA av *S.sclerotiorum* på bladnivå 1 och 3. Analyser gjordes inte i sort B av prover tagna den 16 juni, då förekomsten var liten i sort A (tabell 4). Nivåerna ökade generellt ju längre ner i beståndet bladen satt, och skillnaderna mellan bladnivå 1 och 5 är statistiskt skilda från 23 juni, med undantag för provtagningen i sort A den 7 juli.

Tabell 4. Förekomst av *S. sclerotiorum* DNA på kronblad och blad 2009. Procent positiva prov i medeltal för 4 block med 2-3 upprepningar visas för kronblad (n=40) samt blad (n=9-12 för varje bladnivå) för de två sorterna. Bladnivå 1= översta bladet

Datum	A. SW Joplin				B. RG Larissa SSD			
	Kronblad	Bladnivå	Bladnivå	Bladnivå	Kronblad	Bladnivå	Bladnivå	Bladnivå
		1	3	5		1	3	5
16 juni	-	8	27 b	-	-	ea	ea	ea
23 juni	-	33 y <sup>1</sup>	83 a <sup>x</sup>	100 <sup>x</sup>	-	42 a <sup>y</sup>	83 a <sup>x</sup>	91 <sup>x</sup>
30 juni	0 a	17 <sup>y</sup>	14 b <sup>y</sup>	92 <sup>x</sup>	0	0 b <sup>y</sup>	18 b <sup>y</sup>	89 <sup>x</sup>
7 juli	23 b	17	58 ab	83	18	17ab <sup>z</sup>	42 b <sup>y</sup>	83 <sup>x</sup>
14 juli	-	42 <sup>y</sup>	92 a <sup>x</sup>	100 <sup>x</sup>	-	8 ab <sup>y</sup>	92 a <sup>x</sup>	100 <sup>x</sup>

<sup>1</sup>Olika bokstäver indikerar signifikanta skillnader; a-c mellan olika datum och x-z mellan bladnivåerna inom varje sort. Ea indikerar ej analyserade prover.

En sammanställning av analysresultaten från bladanalyser från samtliga bladnivåer presenteras i tabell 5 och 6. *S. sclerotiorum* är väletablerad på lågt sittande blad från 23 juni och från den 7 juli detekteras smitta på samtliga bladnivåer i SW Joplin (tabell 5 och 6).

Tabell 5. Resultat av PCR-analys av blad på Hidingsta. Tre blad från varje bladnivå analyserades blockvis. Blad från två olika sorter undersöktes (A= SW Joplin). Resultatet visas för blad på olika bladnivåer. Gråmarkerade rutor innebär att analys inte gjorts

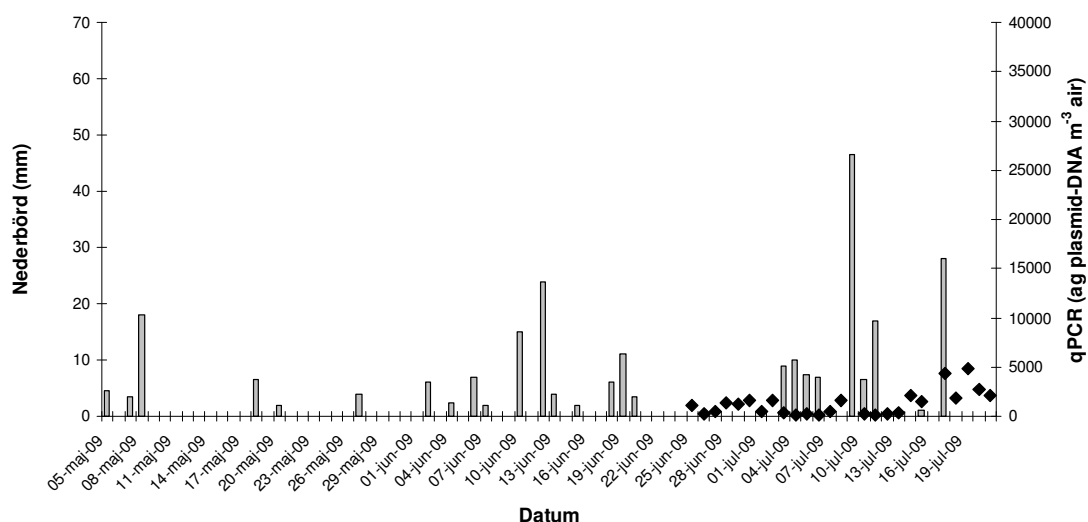
Bladnivå	Sort A Block I					Block II					Block III					Block IV				
	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli
1	---	+ -	+ -	+ -	- +	---	+ -	---	+ -	- +	+ -	+ -	---	---	- +	---	- +	---	---	- +
3	+ -	+ +	- +	+ -	+ + +	-	+ + +	+ -	+ +	+ + +	- +	+ + +	---	+ -	+ +	---	- +	---	+ +	+ + +
5		+ + +	+ + +	+ + +	+ +		+ + +	+ +	+ +	+ + +		+ + +	+ + +	-	+ + +			+ + +	+ + +	+
7								+ +	+ + +	+ +			+	+	+			+	+ +	

Tabell 6. Resultat av PCR-analys av blad på Hidingsta. Tre blad från varje bladnivå analyserades blockvis. Blad från två olika sorter undersöktes (B= RG Larissa SSD) . Resultatet visas för blad på olika bladnivåer. Gråmarkerade rutor innebär att analys inte gjorts

Bladnivå	Sort B block I					Block II					Block III					Block IV				
	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli	16 juni	23 Juni	30 juni	7 juli	14 juli
1		+ -	---	---	---		+ -	---	+ +	+ -		+ +	-	---	---		+ +	---	---	---
3		+ -	+ +	- +	+ + +		+ + +	---	+ + +	+ +		+ + +	+ -	---	+ + +		+ + +	---	+ -	+ + +
5		+ -	+ + +	+ -	+ + +		+ + +	+ +	+ + +	+ + +		+ + +	+ -	+ +	+ +		+ + +	+ +	+ + +	+ + +
7				+ +				+	+ +					+	+				+ +	+

### Luftprover från sporfälla

Provtagningen av luftprover startade först den 25 juni p g a förseningar med leveransen av sporfällan. DNA från *S. sclerotiorum* kunde detekteras (figur 5), dock i låga nivåer. Troligtvis skedde sporspridningen tidigare under säsongen.



Figur 5. Nederbörd (staplar) och luftburen mängd *S. sclerotiorum* DNA (punkter) Åkerby (2009).

## Fältförsök

Angreppsnivåerna var högre än 2008. Nederbörds mängder två veckor innan blomning var låga. På Hidingsta uppmättes totalt 15 mm under två- veckorsperioden innan blomning och i Gräve 13,5 mm (tabell 2). Motsvarande mängder 2008 var 15 mm och 25 mm. Några signifikanta skillnader mellan sorter kan inte visas (tabell 7). Däremot förekommer skillnader mellan block (tabell 8), där block 4 visar signifikant högre angreppsnivå. Detta avspeglar den variation av inokulum som finns i fält. Vi bedömer att den naturligt förekommande grundsmittan har stor betydelse. Provtagningar i fältet på de fyra olika platserna visade varierande nivåer 7, 30, 11 och 5 % angripna plantor

Tabell 7. Sortvis angreppsnivå av bomullsmögel i fältförsök Hidingsta 23 augusti uttryckt som sjukdomsindex (SI) och procent angripna plantor

Försöksled	Sjukdomsindex (SI)	Procent angripna plantor
A. SW Joplin	10,9 a <sup>1</sup>	11,0 a
B. SSD Larissa	11,9 a	12,0 a

<sup>1</sup>Olika bokstäver indikerar statistiskt signifikanta skillnader ( $p < 0,05$ ) enligt Tukey's test.

Tabell 6. Angreppsnivå av bomullsmögel i fältförsök Hidingsta 23 augusti uttryckt som sjukdomsindex (SI) och procent angripna plantor i medeltal för varje block

Block	Sjukdomsindex (SI)	Procent angripna plantor
1	9,0 b <sup>1</sup>	9,0 b
2	11,1 b	11,5 b
3	7,5 b	7,5 b
4	18 a	a

<sup>1</sup>Olika bokstäver indikerar statistiskt signifikanta skillnader ( $p < 0,05$ ) enligt Tukey's test.

I länsinventeringen som genomförs i anslutning till detta projekt där 23 fält undersöktes var i medeltal 7,1 % av plantorna infekterade (Redner, muntligen). Det är framförallt fält med återkommande oljeväxtodling som uppvisat så höga nivåer som 34 % angripna plantor, vilket bekräftar att angreppsnivån senast oljeväxter odlades på fältet har avgörande betydelse för sjukdomsutveckling, vilket också stämmer med Twengströms (1999) erfarenheter. Fält med långt odlingsuppehåll till värdväxter var fria från infektion.

## Diskussion

Infektionsprocessens förlopp har studerats genom att följa sporens kolonisering av enskilda rapsplantor från tiden två veckor innan blomning till avslutad blomning. Resultaten av 2009 års undersökningar visar att DNA av *S. sclerotiorum* fanns på bladnivå 1 och bladnivå 3 på rapsstjälken i två av blocken i sort SW Joplin innan blomning (sort B analyserades inte). Vid första provtagningstillfället av kronblad i begynnande blomning den 30 juni, påträffades inte DNA. Dessa resultat avviker från dem vi tidigare erhållit (Wallenhammar et al., 2008, Wallenhammar et al. 2010) då analyserna av kronbladen visat förekomst redan vid första provtagningstillfället i begynnande blomning. Nivåerna vid andra provtagningstillfället visade förekomst av DNA på i medeltal 23 % av kronbladen i SW Joplin och i medeltal 20 % av kronbladen i RG Larissa SSD. Nivån indikerar, enligt tidigare undersökningar att endast svaga till måttliga angrepp kommer att utvecklas. Resultaten av fältgraderingarna i slutet av augusti visade måttliga angrepp, i medeltal 11 respektive 12 % angripna plantor.



Luftproverna från sporfällan (Fig. 5) visade låga nivåer under hela analysperioden, vilket tyder på att sporspridningen skett innan fällan fanns på plats den 25 juni. Bladproverna som analyserades den 16 juni bekräftar att sporer fanns i beståndet. Luftprover kan vara ett intressant verktyg för att ge en helhetsbild av sporspridningen i tiden på en bestämd lokal.

Förekomsten av DNA på rapsstjälkens blad varierade signifikant mellan blocken. I undersökningarna 2008 fanns denna variation både på kronblad och på blad (Wallenhammar et al., 2010). Detta visar att en sjukdom med jordbunden smitta förekommer fläckvis, liknande *Rhizoctonia solani* i potatis (Gilligan et al., 1996) och klumprotsjuka i korsblommiga växter som orsakas av *Plasmodiophora brassicae* (Wallenhammar et al., 2012). Resultaten från fältgraderingar 2008 visade att SSD Nex 180 hade lägre angreppgrad, 1,25 % jämfört med SW Joplin, 3,0 % (Wallenhammar et al., 2010), vilket indikerar att beståndsutvecklingen i SSD Nex 180 påverkade mikroklimatet i beståndet eftersom inga skillnader mellan sorterna hittades i förekomst av infekterade kronblad. I årets undersökningar förekom inga signifikanta skillnader i angrepp mellan sorterna (tabell 7), vilket också stämmer överrens med de graderingar som gjorts i sortförsök (Roland, 2009). Temperatur, luftfuktighet och beståndsstruktur är faktorer som har känd påverkan på sjukdomsutvecklingen (Blad et al., 1978; Harikrisnan och Rio, 2006). Många nya vårapsorter provas, och under 2011 utgjordes hälften av hybrid sorter (Roland, 2012). Hybrid sorterna som är högväxtande, har en snabb tillväxt tidigt på våren som kan innebära en större risk för att skapa gynnsamma infektionsförhållanden på jordar med god markfukt.

Den tidiga sporspridningen och medelhöga angreppsnivån (tabell 7) vittnar om att fältsmittan varit påtaglig, trots att 11 år passerat sedan föregående odling på försöksplatsen. I länsinventeringen av 23 fält var i medeltal 7,1 % av plantorna infekterade, och det är framförallt fält med återkommande oljeväxtodling som visat så hög nivå som 34 % angripna plantor (Redner, muntligen). Som jämförelse var 4,1 % i motsvarande inventering infekterade 2008. Graderingarna som gjordes i försöksfältet 2009, utanför försöket visade angreppsnivåer som varierade mellan 5 % och 30 %.

En hållbar produktion kan uppnås först när vi kostnadseffektivt kan detektera och förutsäga risken för angrepp i varje enskilt oljeväxtfält, där bekämpning med de preparat som finns att tillgå måste utföras förebyggande. Med ett rapspris på ca 4 kr/ kg finns det utrymme att betala för en analys. Våra resultat visar att förekomst av smitta går att bestämma genom att bestämma DNA på rapsstjälkens blad, vilket till vår kännedom inte har visats tidigare. Vi har visat att inokulum som orsakar infektion först koloniserar bladen, och att det är signifikant större förekomst på de nedersta bladen på rapsstjälken jämfört med de översta bladen under i stort sett hela provtagningsperioden. Att använda kronbladen som detektionsmetod framstår som en osäker metod och har heller inte fått något genomslag trots flera tidigare försök (Morall et al., 1991, Wallenhammar et al., 2007). Med en utvecklad detektionsteknik där lågt sittande blad på rapsstjälken analyseras, i kombination med en sporfälla där proverna analyseras omgående, kan den precision erhållas som krävs för att erbjuda rapsodlarna ett beslutsstöd med hög säkerhet. Undersökningar har fortsatt i SLF-projekt H0960195 under 2010 och 2011 då en validering genomförts. Ett verktyg för ökad precision i riskbedömningen kommer att presenteras under 2013.

## **Publikationer**

### **Konferensabstract**

Wallenhammar, A-C, Almqvist, C, Redner, A. and Sjöberg, A. 2009. Improved risk assessment of Sclerotinia stem rot in oilseed rape using real-time PCR. 14<sup>th</sup> International

Sclerotinia Workshop, Wilmington, North Carolina, USA. 31 May- 4 June 2009. *Oral presentation.*

### Övrig resultatförmedling till näringen 2009

Uddevallakonferensen, 19 januari. Muntlig presentation ca 100 deltagare,  
Sveakonferensen, Brunnby, 15 januari; Muntlig presentation ca 60 deltagare

### Referenser

- Anonym a. 2010. Riskvärdering för bomullsmögel i oljeväxter. Hämtat från <http://www.ffe.slu.se/sve> 3 november 2010.
- Blad, B.L., Steadman, J.R. and Weiss, A. 1978. Canopy structure and irrigation influence white mold disease and microclimate of dry edible beans. *Phytopathology* 68, 1431-1437.
- Gilligan, Ca, Simons, SA, Heide, G.A. 1996. Inoculum density and spatial patterns of *Rhizoctonia solani* in field plots of *Solanum tuberosum*: Effects of cropping frequency, *Plant Pathology* 45, 232-244.
- Harikrishnan, R. & del Río, L.E. 2006. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. *Plant Disease* 90, 946-950.
- Helltoft Jensen, P., Cordsen Nielsen, G., Munk, L. 2011. Forecasting Sclerotinia stem rot in winter rapeseed. In proc: NJF semonar 446. Risk assessment/ risk management, forecasting pests and diseases of field crops in a changing climate- Control strategies for pests, diseases and weeds. Kristianstad 30 November-1 december 2011.
- Koch, S., Dunker, S., Kleinhenz, B., Röhrig, M och von Tiedermann, A. 2007. SkleroPro-acrop loss- related forecasting model for chemical control of Sclerotinia stem rot in winter oilseed rape in Germany. The 12<sup>th</sup> International Rapeseed Congress. Sustainable Development in Cruciferous Oilseed Crops Production, Wuhan, China, March 26-30, 2007. 102-105.
- Lacey, M-L., West, J.S. 2006. The Air Spora. A manual for catching and identifying airborne biological particles. 156 sid.
- Morall, R.A.A, Turkington, TK., Kaminski, D.A., Thomson, J.R., Gugel, R.K. and Rude, S.V (1991). Forecasting Sclerotinia stem rot of spring rapeseed by petal testing. Proceedings 8<sup>th</sup> International rapeseed Congress, Saskatoon, Canada, 483-488.
- Roland, J. 2009. Våröljeväxter. Försöksrapport 2008 för Mellansvenska försöksarbetet och Svensk Raps. 144-148.
- Roland, J. 2012. Våröljeväxter. Försöksrapport 2011 för Mellansvenska försöksarbetet och Svensk Raps. 157-160.
- Twengström, E. (1999) Epidemiology and forecasting of Sclerotinia stem rot on spring sown oilseed rape in Sweden. Doctoral Thesis, *Agraria* 181, 11-12.
- Wallenhammar, A-C , Almquist, C, Redner, A. and Sjöberg, A. 2008. Improved risk assessment of Sclerotinia stem rot in oilseed rape using real- time PCR. Conference on Applied Aspects of Aerobiology at Rothamsted Research, Harpenden, Herts, UK 19 November 2008. *Aspects of Applied Biology* 89
- Wallenhammar, A-C., Almquist, C., Redner, A. 2010 Studier av infektionsprocessen av Sclerotinia sclerotiorum I vårraps 2008. Slutrapport projekt H0860030 Stiftelsen Lantbruksforskning.
- Wallenhammar, A-C, Almquist, C. and Jonsson, A. 2012. In-field distribution of *Plasmiodiophora brassicae* measured using quantitative real-time PCR . *Plant Pathology*, 61, 1, 16-28.