

## **Metodutveckling för detektion av svårbekämpade jordbundna sjukdomar för optimering av platsspecifik produktion av vete, ärter och oljeväxter**

### **Nya produktionsmål - ökad belastning på växtföljder**

Produktionen av spannmål har efter marknadens signaler ökat kraftigt, helt i linje med den internationella trenden där en hårdnande konkurrens drivit fram en stor veteareal. Vete angrips av ett komplex av rotsjukdomar som orsakas av flera olika patogena svampar, där skador av rotdödare *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* uppmärksammats mest. Svåra skador har drabbat höstvede och vårvete i Mellansverige

Planerad inblandning av förnyelsebara komponenter i bensin och diesel ökar också behovet av oljeväxtodling. Det är värt att notera att trots att odlingen varit relativt ringa under senare år så noteras avsevärda problem med sjukdomar kopplade tillväxtföljd, så som bomullsmögel, klumprotsjuka och kransmögel. Sjukdomar som klumprotsjuka och bomullsmögel kan värdväxla med andra växter och överlever i marken som vilsporer respektive vilkroppar. Oljeväxtodlingen har drabbats av stora skador av klumprotsjuka och vissnesjuka i höstraps. Inom EU finns ett mål att öka självförsörjningsgraden av protein. I Sverige ligger det i dagsläget närmast till hands att utnyttja drank från etanol, men också att försöka öka ärtodlingen för ett högvärdigt protein till gris och kyckling. Inom ärtodlingen förekommer stora skador av ärtrotröta. För att säkerställa skörden av konservärter kräver förädlingsindustrin ett obligatorisk jordtest, som sedan många år utförts med sk. biotest (Olofsson, 1967), varvid kraftigt infekterade fält sorterar bort. För klumprotsjuka används ett liknande test i mindre omfattning, men för rotdödare saknas däremot idag biotestmöjligheter.

### **Platsspecifika möjligheter - angreppen varierar mellan och inom fält**

Det är känt att förekomst och angrepp av markburna patogener varierar mellan år inom och mellan fält och att de kan värdväxla med ogräs etc. Det är svårt att exakt förutsäga skadebilder enskilda år, men med stöd av jordtester kan den potentiella risken förutses. De biotester som utvecklats ger index som svar till brukaren (ärtrotröta) eller avråder från odling eller tillråder odling av delvis motståndskraftiga sorter (klumprotsjuka). Vid låga angreppsnivåer är variationen ofta större jämfört med vid höga nivåer. Orsaken till variationen i angrepp (eller hämning av angrepp förutsatt att patogenen finns i fält) beskrivs vara av abiotisk eller biotisk karaktär. De abiotiska faktorerna anses vara kopplade till typ av lermineral eller förekomst av organiskt material. De biotiska bedöms ofta vara olika slags bakterier. En intressant frågeställning är också sambandet mellan förekomst av patogener och markparametrar. I Sverige och Danmark noteras ofta att angrepp av exempelvis rotdödare är kraftigare på lättare jordar och klumprotsjuka kopplas ofta till pH. Variation i pH också kan vara stora på ett fält. Idag finns det kommersiella biotester och därtill kopplad rådgivning tillgängligt för ärtrotröta och klumprotsjuka men saknas för exempelvis rotdödare i vete. Att de tillgängliga metoderna inte används för att göra inomfältskaraktiseringar beror främst på de höga kostnaderna per prov (>1000 kr/prov). Dagens biotestmetoder kräver nämligen mycket handarbete vid inkubering och avläsning samt tillgång till god växtpatologisk kompetens.

### **Precisionsodlingen – möjlighet till att systematisk ta hänsyn till patogenläget**

Kommersialisering och användning av molekylära metoder för rutindiagnos av jordbundna patogener i lantbruket har hittills varit mycket begränsad. Kombinationen av precisionsodlingsteknik och rimligt dyra analyser skulle öppna ett nytt fält för att effektivisera

odlingsåtgärderna. På grund av att patogenerna är långlivade i marken går det efter en kartering att göra prognoser för när det kan vara fritt fram för en känslig gröda. Samtidigt erhålls också ett redskap som kan användas för att säkerställa en förändring efter odling av en känslig gröda eller andra störningar. En förutsättning för att komma igång med detta är emellertid också att variation inom och mellan fält beskrivs och att det finns tillförlitliga biotester att validera de molekylärbiologiska metoderna mot så att den potentiella risken kan bedömas och nyttan skattas.

## Målsättningen med projektet

Målsättningen med detta projekt var:

- att optimera DNA-baserade metoder för effektiv kvantitativ PCR-bestämning av de markburna patogenerna *Aphanomyces euteiches* (ärtrottröta), *Gaeumannomyces graminis var. tritici* (rotdödare i vete) och *Plasmodiophora brassicae* (klumprotsjuka i oljeväxter)
- att validera PCR-bestämningar mot biotester för bedömning av odlingsåtgärder
- att inventera och fastställa variationer inom fält
- att utvärdera samband mellan förekomst av patogener och markparametrar såsom pH, innehåll av makro- och mikronäringsämnen, lerhalt m.m i både matjord och alv

## Material och metoder

### Uppsättning och utvärdering av analysmetoder med PCR-teknik

Utgångspunkten för arbetet var i litteraturen beskrivna metoder som sedan har anpassats till tillgänglig PCR-teknologi och den senaste kunskapsutvecklingen.

#### Detektion av *P. brassicae* med realtids-PCR

Ett flertal primerpar designades och undersöktes med avseende på bl.a. specificitet och slutligen valdes ett primerpar (PbF och PbR) och en prob (PbP) som enligt sökningar i sekvensdatabaser visade sig vara teoretiskt specifika för *P. brassicae*. DNA extraherades från torkade och malda jordprov med ett kommersiellt extraktionskit (Fast DNA SPIN Kit for Soil, MP Biomedicals), med ett något modifierat protokoll för att så optimalt som möjligt extrahera DNA från *P. brassicae* vilosporer. Eftersom jord innehåller många ämnen som kan störa PCR-reaktionen, t.ex. humusämnen, har samtliga jordextrakt även renats minst två gånger innan analys beroende på jordart.

Protokollet för PCR-analysen har optimerats enligt de rekommendationer som finns (Applied Biosystems) för att få en robust metod med så hög PCR-effektivitet som möjligt. För kvantitativa PCR-analyser bör effektiviteten ligga mellan 90 och 110%, där 100% innebär att det sker en fullständig fördubbling av PCR-produkten i varje temperaturcykel. Mängden *P. brassicae*-specifikt DNA har kvantifierats genom att jämföra resultaten från okända prov med en standardkurva som konstruerats utifrån klonade plasmider (cirkulärt bakteriellt DNA) innehållande målsekvensen. Se vidare Wallenhammar et al 2011.

#### Detektion av *A. euteiches* med realtids-PCR

Under 2006 designades ett primerpar (AeF och AeR) och en prob (AeP) som helt specifikt amplifierar och detekterar ett fragment på 102 bp i sekvensen för ribosomalt DNA hos *A. euteiches*. Denna metod visade sig dock påverkas en hel del av orenheter i DNA extraherat från vissa typer av jordar. Därför togs ett nytt primer/prob-set fram (2007) och vissa optimeringar av PCR-reaktionen har även gjorts för att få en mer robust metod. Sekvenserna för ribosomalt DNA för *A. euteiches* och de mycket närbesläktade *A. cochlioides* och *A. cladogamus*, som också förekommer i jord, jämfördes för att finna regioner unika för *A.*

*euteiches*. Ett antal primerpar designades i samarbete med Fredrik Heyman, SLU, Uppsala, och utvärderades med traditionell gelbaserad PCR och med SYBR Green (fluorescerande färg). Primerparet Ae169F och Ae169R valdes till slut och en fluorescerande prob (Ae169MGB) designades för att detektera fragmentet på 96 bp. DNA har extraherats från jord med samma extraktionskit som klumprotssinfekterad jord (FastDNA SPIN Kit for Soil). Protokollerna har under projektet optimerats för att på bästa sätt extrahera DNA från oosporer av *A. euteiches*. Kitet bygger på mekanisk lysning av celler vilket har visat sig fungera bra på oosporer som generellt sett är mycket svåra att lysa. Under hösten 2006 förbättrades kvantifieringen av *A. euteiches* genom att ta fram standardkurvor baserade på plasmider på samma sätt som gjorts för *P. brassicae*. Själva PCR-reaktionen har även skalats ner och utförs nu i en mindre volym jämfört med tidigare. För att ytterligare förbättra metoden och få den mer tålig mot inhiberande ämnen i jordextrakten har försök gjorts med olika typer av tillsatser till PCR-reaktionen. Metoden återfinns i Heyman 2008.

### **Detektion av *Gaeumannomyces graminis* med realtids-PCR**

Arbetet med att ta fram en kvantitativ realtids-PCR-metod för detektion av *Gaeumannomyces graminis* påbörjades under 2007. Först utvärderades tre olika primerpar, ett som endast detekterar *G. graminis* var. *tritici* (Freeman et al. 2005) samt två som detekterar både var. *tritici* och var. *avenae*, på ett antal renkulturer av *G. graminis* var. *tritici*, var. *avenae* och var. *graminis* samt på rötter med misstänkt infektion av rotdödare. Primerparens specificitet var dessvärre inte tillfredsställande vilket kan bero på att det ribosomala DNA't inte bara innehåller en viss sekvensvariation mellan de olika varianterna utan även mellan olika isolat av *G. graminis* var. *tritici*. Som alternativ till det ribosomala DNA't finns även genen för betatubulin sekvenserad och inlagd i genbanken (NCBI). Utifrån denna sekvens designades fem nya primerpar som utvärderades på renkulturer, rötter och jordprov. En prob designades till det primerpar som fungerade bäst. Detta primerpar detekterar både var. *tritici* och var. *avenae*. 2009 fick vi även tillgång till ett välkarakteriserat *G. graminis* var. *tritici* isolat från Frankrike (Willoquet et al. 2008) samt tre svenska isolat som var klassade som *G. graminis* eller troligtvis *G. graminis* (Hanna Friberg).

Kvantifieringen av rotdödare i okända jordprover utfördes på samma sätt som för de två andra patogenerna men för denna patogen beställdes standarden från ett företag som tillverkar syntetiska gener (MWG Operon) vilket både är mindre tidskrävande och billigare jämfört med att tillverka standarden själv.

### **Biotest och korrelation med PCR-metoder**

För att undersöka sambandet mellan DNA-mängd och sjukdomsangrepp undersöktes även jordproverna med s.k. biotester.

**Ärtrotröta:** Test utfördes av Findus R&D AB enligt deras standardförfarande. Jordprov samlades in och ärter odlades sedan i krukor i växthus under kontrollerade förhållanden. Efter 5-6 veckor avlästes symptomen som missfärgade rötter. Skadorna klassificerades enligt en indexmetod.

**Klumprotssjuka:** Test utfördes enligt metod utarbetad av Wallenhammar (1996) där salladskål odlas som indikatorväxt i krukor i växthus under kontrollerade förhållanden. Skadorna klassificerades enligt en indexmetod. Biotestet utfördes på Naturbruksgymnasiet Uddetorp, Skara.

**Rotdödare i vete:** Test utfördes enligt metod utvecklad av Wallenhammar och Pettersson (2003) där skadorna klassificeras enligt den indexmetod som används av Lantbrukets Rådgivningscenter, Danmark, och av Växtskyddscentralerna. Biotestet utfördes på Naturbruksgymnasiet Uddetorp, Skara.

## Variation i patogenförekomst i fält

För att undersöka variation inom fält togs jordprover ut från ett antal fält främst i Mellansverige men även prover från Skåne och Norrland har analyserats när det gäller förekomst av ärtrotträta. Grundprincipen för provtagningen var att proverna togs ut på samma sätt som vid punktprovtagning i den traditionella kemiska markkarteringen och därmed enligt sk. god markkarteringssed (Riktlinjer för gödsling 2010, SJV). Minst 10 delstick till 20 cm djup (matjord) inom en radie av ca 3 m och en slutvolym på ca 0,5 l. Provpunkten registrerades med en GPS-utrustning och på några fält upprepades provtagning på samma punkt under flera år. För att kunna göra biotest på jordproven togs en större provmängd ut, ca 2 kg, med samma borrh inom samma ”punkt” med en radie på ca 3 m. Borret rengjordes noggrant med diskborste så att all synlig jord avlägsnades mellan provtagningsplatserna. Jordproverna torkades i provlådan av papper i rumstemperatur och sönderdelades med gummiklubba efter att de överförts i en kraftig plastpåse. I några fall gjordes analyser på färska icke torkade prover. Under projektiden har merparten av proverna arkiverats och en mindre provbank har därmed skapats.

## Markkemiska analyser

Ett delprov togs ut från de torkade arkivproven och skickades till Lantmännen AnalyCen AB (från 2007 Eurofins Food & Agro AB) i Kristianstad för analys av pH-värde, P-Al, K-Al, mullhalt och lerhalt samt halten av aluminium (Al), järn (Fe), kalcium (Ca), magnesium (Mg) och natrium (Na).

## Resultat och diskussion

### Utvärdering av analysmetoder

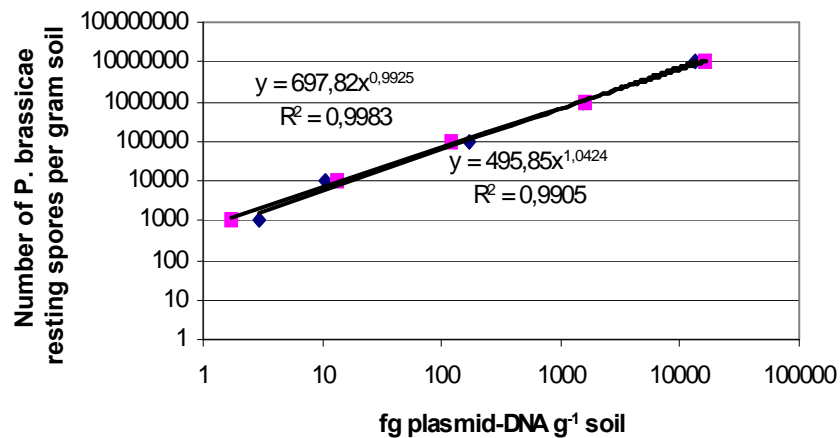
#### Detektion av *P. brassicae* med Realtids-PCR

Målsekvensen för detektionen valdes mycket medvetet eftersom den finns belägen i ett insert, som inte finns hos någon annan av plasmodiophoridaerna *Polymyxa graminis*, *Polymyxa betae*, *Ligniera sp.* eller *Spongospora subterranea*. Analys av 15 andra växtpatogener och svampar visar också på en mycket hög specificitet då endast DNA från *P. brassicae* detekterades med metoden.

Att utnyttja plasmider för kvantifiering har tidigare bl.a. använts för en annan obligat biotrof, *Polymyxa graminis* och är en mer robust strategi jämfört med att t.ex. kvantifiera mot antalet vilosporer (personlig kontakt, Elaine Ward). Spädningsserier av plasmidextrakt resulterade i en PCR-effektivitet på ca 99 % ( $R^2 > 0.99$ ). Liknande spädningsserier av DNA extraherat från en infekterad jord gav en effektivitet på 95 %. Metoden lämpar sig alltså mycket väl för kvantitativa analyser.

En jord-i-jord spädningsserie av en artificiellt infekterad jord har analyserats med metoden. Extraktion och analys utfördes vid två separata tillfällen och linjär detektion erhöles mellan  $10^3$  och  $10^7$  vilosporer per gram jord (Figur 1). Jordproverna har erhållits av Dr. Hanna Friberg (SLU, Uppsala) och har infekterats med framrenade *P. brassicae* vilosporer (Friberg 2005). Även 500 sporer per gram jord kunde detekteras, men då var detektionen inte längre linjär.

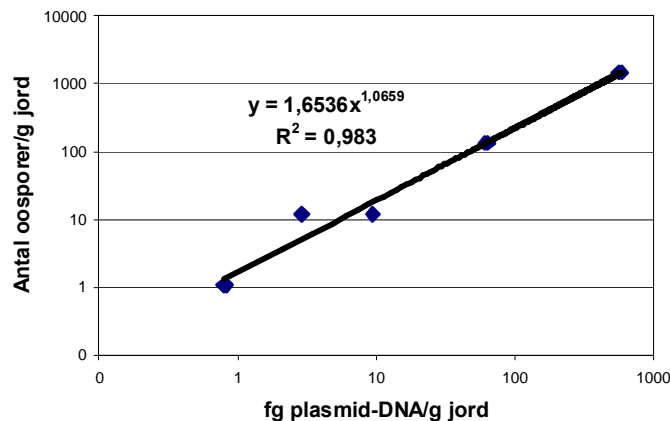
Reperterbarheten undersöktes genom att 10 invägningar av ett infekterat jordprov analyserats vid ett och samma tillfälle. Standardavvikelsen för just denna jordtypen var 22.5% vilket är en bra nivå jämfört med andra metoder för detektion i jord.



**Figur 1.** Jord-i-jord spädningsserie av en artificiellt infekterad jord. Extraktion och analys upprepades vid två olika tillfällen.

### Detektion av *A. euteiches* med realtids-PCR

Precis som för klumprotsjuka har en jord-i-jord spädningsserie av en artificiellt infekterad jord analyserats. Detektionen var linjär och ner till 1 oospor per gram jord kunde detekteras med metoden (Figur 2). Den låga detektionsgränsen konfirmerades genom att analysera jordprov som efter invägning i extraktionsrör (350 mg torkad jord per prov) tillsats en känd mängd zoosporer. Försöket visade att 13 respektive 1.3 zoosporer per prov kunde detekteras i 10 av 10 respektive 9 av 10 upprepningar.



**Figur 2.** Jord-i-jord spädningsserie av en artificiellt infekterad jord.

Eftersom detektionsnivån har utgjort ett visst problem för detektion av *A. euteiches* i naturligt smittade jordar har en hel del arbete fokuserat på att förbättra metoden genom att använda olika typer av anrikningmetoder. Under våren 2007 genomfördes ett examensarbete med en student från Högskolan i Skövde (Jonas Alneman) där en del av arbetet utgjordes av dessa experiment. Bl.a. testades olika typer av densitetscentrifugeringar samt filtreringar för att anrika oosporer ur en större mängd jord. Försöken resulterade dessvärre inte i en förbättring av metodens detektionsgräns och ytterligare metodutveckling kommer krävas för att metoden skall fungera optimalt på naturligt smittade jordprover.

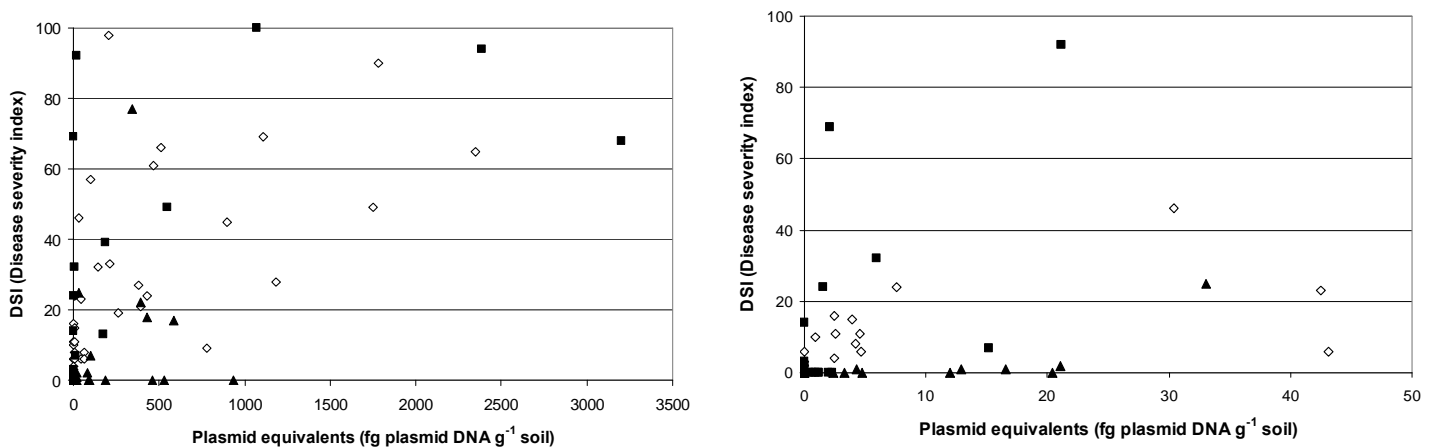
## Detektion av *Gaeumannomyces graminis* med realtids-PCR

När det gäller *G. graminis* var *tritici* (Ggt) har specificiteten varit en stor svårighet. För analys av fältprover valdes den metod (det primerpar) som fungerade bäst. Metoden detekterar 2 av 3 testade Ggt isolat (från CBS), 1 av 1 testade Gg var *avenae* isolat (CBS) samt 1 av 2 testade Gg var *graminis* isolat (CBS). Även ett Ggt isolat från Dijon, Frankrike (Hanna Friberg, SLU) blev positivt med analysen. Analyser av referensprover från Sverige (rötter och jordar) visar på att inklusiviteten är bra, dvs prover med kraftiga angrepp ger också höga utslag i realtids metoden.

## Fältanalyser

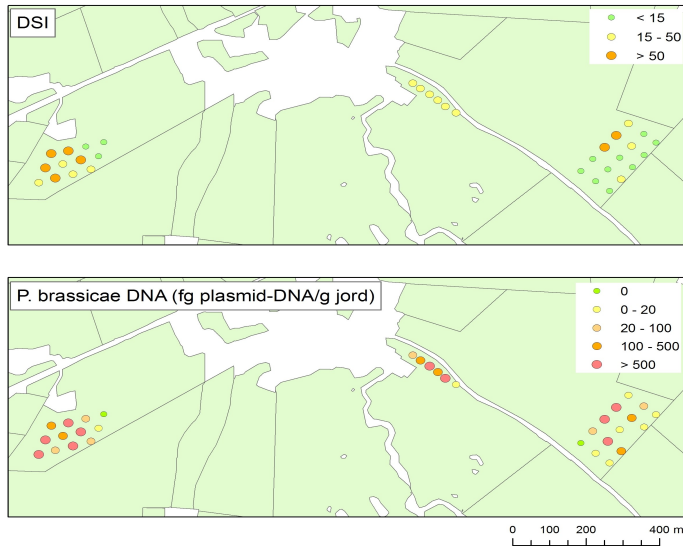
### Klumprotsjuka

Under 2006 togs totalt 60 jordprover från sex olika fält med misstänkt/konstaterad klumprotsjuka på Stockagården, Västergötland, och Venebergs gård, Halland. Samtliga jordprover biotestades under augusti till oktober 2006 och därefter kvantifierades mängden *P. brassicae* DNA i jorden med den realtids-PCR-metod som utvecklats och beskrivits. Karakterisering av proverna från dessa fältinventeringar har också gjorts och omfattar pH-värde, innehåll av P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mo, mfl. Resultatet från denna karakterisering utvärderas på olika sätt. Under 2007-2008 upprepades provtagningen på några utvalda provpunkter. 2007 provtogs ytterligare ett fält (Prästorp, Östergötland) och totalt analyserades 28 prover med PCR och biotest.



**Figur 3 A och B.** Sambandet mellan angrepp av klumprotssjuka på testplantor i biotest (sjukdomsindex, DSI) och halt av DNA från *P. brassicae* bestämd med PCR-teknik ( fg DNA/g jord). Figur 3B visar ett utsnitt av figuren för prover med PCR-värden under 50 fg plasmid / g jord.

Resultatet från biotesten har använts för att validera realtids-PCR-metoden och i figur 3A och B illustreras sambandet mellan metoderna. Halten av DNA varierar avsevärt mellan proverna, mellan 0-35000 fg DNA/g jord. Testplantorna uppvisar tydliga angrepp, ca DSI 20 (Disease Severity Index), redan vid så låga förekomster av som 5-10 fg DNA/g jord. Tidigare undersökningar indikerar att det vid index på 15-20 är rekommendabelt att använda resistent sorter om man vill undvika skördeförstör (Wallenhammar m fl, 2000). Används mindre motståndskraftigt odlingsmaterial kan uppföringen gå snabbt. Våra resultat visar att det går att använda PCR-teknik för att hitta fält med stor risk för angrepp av *P. brassicae* såväl som fält fria från *P. brassicae* (under detektionsnivån). En mycket stor variation, mellan 100 och 1000 gånger, i DNA-mängd observerades inom ett och samma fält på fälten på Stockagården samt på ett av fälten på Veneberg. För fälten på Stockagården illustreras detta i figur 4. Index varierar naturligtvis också kraftigt inom och mellan fält.



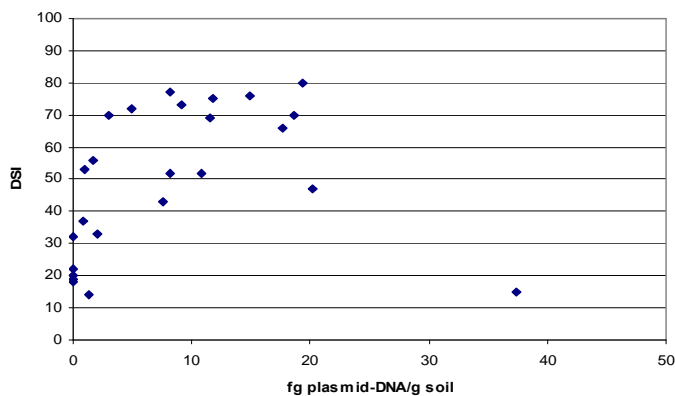
**Figur 4.** Bilden visar resultatet från biotest och PCR-analys av 33 prover från tre fält på Stockagården, Västergötland.

### Ärtrotträta

Förekomsten av ärtrotträta har inventerats på tre fält, ett fält på Hästhalla utan för Skara i Västergötland och två fält utanför Linköping i Östergötland. Samlingsprover från fält i Norrland (NJF), Västergötland (Toppfrys) och Skåne (Findus AB) har också analyserats. Sambandet mellan PCR-bestämning och biotest har varit tillfredställande (figur 6) utom i vissa prover med låga index från Findus (data ej visad).



**Figur 5.** Inomfältvariation av (*A. euteiches*) på Ånestad. A: Disease Severity Index (DSI). B: PCR (fg plasmid-DNA g<sup>-1</sup> soil). (Karta: Mats Söderström)



**Figur 6.** Samband mellan sjukdomsindex (DSI) från biotest och PCR-bestämning. Prover tagna på två fält utanför Linköping (2007).

## Rotdödare

Biotest för bestämning av rottdödare i jord utvecklades och utvärderades under hösten 2007 (figur 7). Både vårvete och korn användes som fångstplanta, och det var ingen skillnad i känslighet mellan arterna. Ett fält i Örebro län och ett fält i Västergötland har karterats och analyserats med biotest och PCR.

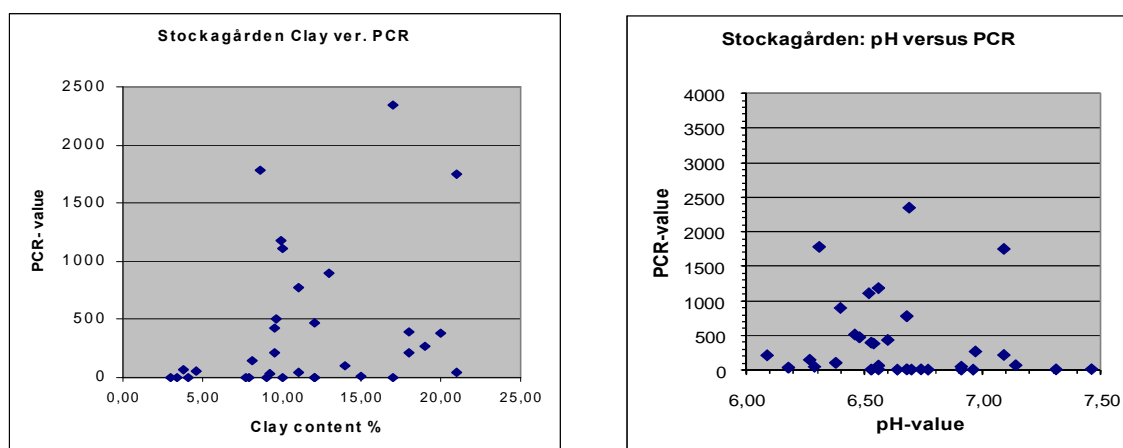


**Figur 7.** Bilden visar de biotester för rottdödare som startades under sep 2007. Försöken utförs i ett växthus på Naturbruksgymnasiet Uddetorp strax utanför Skara.

## Samband med markkemiska parametrar

Sambanden mellan kemiska parametrar förekomst var låga även för parametrar med etablerade samband som exempelvis pH-värde och förekomst av klumprotsjuka (figur 8).

**Figur 8.** Samband mellan förekomst av patogen ( PCR) och lerhalt samt pH-värde i prover från Stockagården.



## Slutdiskussion

Målsättningen var utveckla och optimera effektiva kvantifieringsmetoder baserade på sk PCR-teknik för bestämning av några viktiga jordburna patogener, att stämma av dem mot biotester och att använda dem för att studera variation i fält. Utvecklingen av metoderna har varit så framgångsrik att det idag finns DNA-baserade metoder för att kvantifiera förekomsten av patogenerna *P. brassicae*, *A. euteiches* och *G.,graminis*, i jord. Specificiteten är tillfredställande för *P. brassicae* och *A. euteiches* men måste utvecklas om man vill skilja underarterna inom rottdödare åt.

Detektionsgränsen för *P. brassicae* är motsvarar 500-1000 sporer per gram jord och ligger på den nivå av sporer som anses vara det som krävs för att risken för signifikanta skador är överhängande. Det innebär att metoden borde kunna börja användas även i praktiken och så är också fallet då ett kommersiellt lantbrukslaboratorium börjat erbjuda



analysen. När det gäller ärtrottröta är detektionsgränsen mycket låg. En (1,3) oospor av ärtrottröta kan detekteras om den finns i den invägda jord som extraheras. Problemet är att det behövs färre sporer än några stycken per gram för att få signifikanta index i biotesten och skador på fältet. Vid låga index (=låga förekomster) så spelar slumpen oss ibland ett spratt och gör att vi inte för någon detektion i prover på 0,35g jord, d.v.s. en falsk negativ. Arbetet med att sänka detektionsgränsen har inletts och förväntas fortsätta i den följande TEMA-forskningen

Sambandet mellan biotest och förekomst av DNA av *P. brassicae* tydliggör några problem och pekar på några intressanta frågor och möjligheter ( figur 3ab).. Vid nivåer < 5 fg plasmid-DNA g<sup>-1</sup> (motsvarande några tusen sporer ) fick vi få kraftiga angrepp i biotesten vilket stämmer väl med iakttagelser i litteraturen. Med >1000 fg plasmid-DNA g<sup>-1</sup> jord (motsvarande några hundra tusen sporer per gram jord) fick vi alltid tydliga angrepp i biotesten, vilket stöder att angreppen ökar med ökande halt. Ett problem är den stora variationen i sjukdomsindex som förekommer för liknande DNA-nivåer. Eftersom repeterbarheten är stor i PCR-analysen och sämre i biotesten speglar denna variationen instabiliteter i biotesten som beror på markegenskaper som t ex varierande biologiska/kemiska förutsättningar i marken som stör etablering av både testplantor och patogenen biotesten. För fördjupad diskussion om svagheter och fördelar med PCR hänvisas till Wallenhammar et al. (2011). Viktigt att notera är att metodikens repeterbarhet från fält in till slutbestämning verkar var tillfredställande.,dvs. jordprover tagna parallellt inom samma punkt vid samma tidpunkt ger en spridning som möjliggör att skilja prover från samma fält.

Många har noterat att i vissa delar av fält kan kraftigare angrepp av patogener som ärtrottröta och klumprotsjuka förekomma. De bildar sporer som antas kunna simma mot värdväxternas rötter. Därför förväntas angreppen bli kraftigare i mer låglänta eller packade områden där vattenhalten blir högre än på andra delar av fälten. Låga kalciumhalter och låga pH-värde har av forskare också kopplats till kraftiga angrepp av både ärtrottröta och klumprotsjuka men den kemiska datan från inomfältssvaritionsproverna stödjer inte uppenbart dessa iakttagelser. En orsak till svaga samband mellan kemiska parametrar och förekomst har förmodligen sin grund i heterogena förhållanden i marken där det kan finnas nischer gynnsamma för patogenerns överlevnad och angrepp. Detta kan gälla i jordar där analyser av väl omblandade och homogeniserade jordprover indikerar ogynnsamma förhållanden och förhindrar upptäckten av ”förväntade samband” som mellan pH-värde och förekomst av klumprotsjuka. Samtidigt är det välkänt att både textur och kemiska förutsättningar i marken ger effekter på jordburna patogenerns förmåga till angrepp. Därför är det ett viktigt område för framtida utredningar och undersökningar av effekter av förändringar i markkemiska förutsättningar.

I förlängningen av välfungerande metoder för karakterisering av förekomst av patogener ligger en ökad förståelse för spridningsbiologi och epidemiologi, men också mer agronomiskt intressanta möjligheter att följa upp effekter av bekämpningsåtgärder både i fält och under mer kontrollerade fältförhållanden.

## Publikationer m.m

Heyman F., Almquist C., Jonsson A., Lindahl B., Stenlid J. 2008. Evaluation of a quantitative PCR method for detection and quantification of *Aphanomyces euteiches* in soil samples. Part of Fredrik Heymans Disseration “Root-rot of Pea caused by *Aphanomyces euteiches*” **Doctoral Thesis SLU 2008.**

Wallenhammar, A-C, Almquist, C., Söderström, K., Jonsson, a. In-field distribution of *Plasmidiophora brassicae* measured using quantitative real-time PCR, **Plant Pathology**. Article first published online: 25 May 2011, DII:10.1111/j.1365-3059. 2011.02477.

## Konferenser

Wallenhammar A-C., Jonsson A. and Almquist C. 2006. Development of methods for detection of in-field variation of the soil-borne pathogens *Plasmodiophora brassicae* and *Aphanomyces euteiches*. In Abstracts for London Clubroot Meeting, 18 September, London, UK.

Wallenhammar A-C., Jonsson A. and Almquist C. 2006. Development of methods for detection of in-field variation of the soil-borne pathogens *Plasmodiophora brassicae* and *Aphanomyces euteiches*. In Proceedings of NJF Seminar on Precision Agriculture, 10-11 November, Lillehammer, Norway.

Almquist C., Wallenhammar A-C., Jonsson A. 2008. Quantitative PCR detection for mapping in-field variation of *Plasmodiophora brassicae* and *Aphanomyces euteiches*. Journal of Plant Pathology 90(2, suppl): 398. 9<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology, 24-29 August, Torino, Italy.

Jonsson, A., Almquist, C and Wallenhammar, A.-C., PCR detection for mapping in-field variation of soil-borne pathogens. International Organisation for Biological and Integrated control (IOBC) June Uppsala 2009 (Oral presentation) Jonsson A., Almquist C., Wallenhammar A-C., 2009. PCR detection for mapping in-field variation of soil-borne pathogens. ECPA (European Conference on Precision Agriculture) Wageningen University, July 6 to July 2009. (Poster)

## Resultatförmedling

Inledningsvis och under projekts gång har det diskuterats med Fredrik Heyman (SLU), växtskyddskonsulent Cecilia Lerenius (SJV), Ingmar Gruveus (HS), Lars Persson, Marianne Wikström, Rolf Stegmark (Findus R&D) och Henrik Carlsson (Toppfrys). Andra kontakter under projektets gång har varit Maria Svensson (HiS), Hanna Friberg (SLU), Jenny Schelin (LU).

Resultaten har presenterats vid följande konferenser, seminarier och möten

- 
- |             |  |
|-------------|--|
| <b>2006</b> | Sept: International Clubroot Working Group, London, England. (F)<br>Nov: NJF seminarium precisionsodling i Lillehammer, Norge. (F)   |
| <b>2007</b> | Jan: Regional växtodlings- och växtskyddskonferens, Uddevalla. (F)<br>Maj: Presentation för Teknisk Mikrobiologi vid besök på Lunds Universitet. (F)<br>Juni: Presentation för fakultetsledning NL-fakultet SLU vid möte på Lanna. (F)<br>Okt: Presentation för SJV växtskyddsansvariga vid möte på SLU, Skara<br>Dec: Regional växtodlings- och växtskyddskonferens i Linköping. (F)  |
| <b>2008</b> | Jan. Regional växtodlings- och växtskyddskonferens, Uddevalla. (F)<br>Maj: Presentation för Hortikultur från Alnarp vid besök på SLU, Skara. (F)<br>Juli. ICPA, International Conference on Precision Agriculture, Denver, Colorado, USA. (P)<br>Aug: International Clubroot Working Group, Turin, Italien (P)<br>Aug. ICCP, International Congress of Plant Pathology, Turin, Italien (P)<br>Okt: Presentation för rådgivare och lantbrukare vid möte på Stockagården, Götene. (F)<br>Dec: Temadag om proteingrödor, UMB, Ås, Norge (F) |
| <b>2009</b> | Jan: Regional växtodlings- och växtskyddskonferens, Uddevalla. (F)<br>Jan: Regional växtodlings- och växtskyddskonferens, Västerås. (F)<br>Juni: IOBC, International Organization for Biological and Integrated Control, Uppsala, (F)<br>Juni: ECPA, European Conference on Precision Agriculture, Wageningen, (P)   |
- 

(F)= föredrag; (P)= Poster

I augusti 2009 startades det TEMA-iska forskningsprogrammet BioSoM (Biologiska Markkartering) vid NL-fakulteten. En viktig grund för den tematiska satsningen var resultaten från projekten de två projekten med stöd från SLF och SFO