

Blandade sorter och inducerad bladlusresistens i korn

Bakgrund och genomförande i stort

Hypotesen är att allelopatiske interaktion/konkurrens mellan växtindivider inverkar på samspelet med såväl herbivorer som deras naturliga fiender. Tritrofiska effekter av allelopati har vi benämnt allelobios. Modellsystemet består av kornsorter, havrebladlöss och sjuprickig nyckelpiga som representant för polyfaga predatorer. Under projektets första sex månader koncentrerades arbetet på slutförandet och redovisning av redan gjorda experiment i fält och växthus avseende samspelet mellan fyra sorter som ingått i tidigare undersökningar, och ett sortiment av fyra tidigare rapporterat bladlusresistenta korngenotyper. Tiden därefter har ägnats inventering av kapacitet att inducera och/eller ta emot allelobiotisk provokation hos ett bredare sortiment av *Hordeum* genotyper och moderna kornsorter i samverkan med växt- förädlare. Tillfredsställande förhållanden – bladlusförekomst - för fältförsök gavs 2003 och försök genomfördes i samarbete med hushållningssällskapen när bladlusförekomsten varit tillfredsställande. Annars har arbetet bedrivits i växthus.

Den experimentella designen har ägnats uppmärksamhet för att möta den stora temporala och rumsliga dynamik som utmärker ett bladlusangrepp i stråsäd. Detta gör att den statistisk analysen av data från bladluspopulationers utveckling under fältbetingelse är kontroversiell och någon allmänt accepterad metod finns inte. Om bladlösen räknas flera gånger i samma parcell under viss tidperiod kan data analyseras med en ANOVA - *repeated measures* metod men denna strategi/metod ger begränsad information och oftast betraktas den som otillräcklig för en kritisk diskussion av orsakssamband. Bearbetningen av fältdata har därför sett i nära samarbete med Professor Ulf Olsson som är statistiker.

Material och metoder

Bladlöss för laboratorieexperiment

I samtliga växthusförsök användes havrebladlöss *Rhopalosiphum padi* från en koloni i växthus som härstammar från vårmigranter som hämtades i slutet av maj 2001 från ett kornfält i Ultuna. För att förhindra förekomst av mjöldagg som kan negativt påverka tillväxt av bladlöss användes växelvis havre och korn.

Växt material

Som uppföljning av tidigare undersökningar användes 19 moderna korn sorter för att screena allelobiotisk kapacitet. Ytterligare 19 korn genotyper (*Hordeum*) screenades för att belysa nedärvningsmönster av allelobiotiska egenskaper. De valdes för att representera fyra grupper; (1) fyra vanligt odlade kommersiella europeiska sorter av *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*, (2) sex genotyper av *H. v. vulgare* med ursprung från icke-europeiska länder (3) sex genotyper/collector av *H. vulgare* ssp. *spontaneum* (4) tre dubbelhaploida (DH) linjer. I första hand valdes genotyper (Tabell 1) med utgångspunkt från tillväxtförsök med bladlöss – antibios (aphid growth, AG) med syftet att få med både

resistent och mottagliga genotyper från grupperna (1), (2) and (3). I växförädlingsprogram inriktat mot bladlöss har *H.v. spp. spontaneum* genotyp nr. 5 nyligen använts för att öka bladlusresistens i förädlingsarbetet. DH linjerna valdes så att de gav sämre bladlustillväxt än andra DH linjer. I kombination med genotyperna från dessa fyra grupper användes sorten Kara som mottagare och sorten Alva som promotor.

Tabell 1. Tillväxtresistens för bladlöss (aphid growth, AG)

<i>Hordeum</i> typer och grupp	Genotyper	Relativtal av bladlusvikt
1. <i>H. v. spp. vulgare</i>	Scarlett	1.175
	Barke	1.035
	Lina	1.000
	Haisa	1.036
2. <i>H. v. spp. vulgare</i>	CI 16145	0.980
	CI 1470	0.924
	CI 11506	1.136
	CI 11245	1.037
	BCC 38	0.822
	BCC 11	0.651
3. <i>H. v. spp. spontaneum</i>	H.sp. 3	1.013
	H.sp. 1	0.997
	H.sp. 6	0.895
	H.sp. 40022	0.683
	H.sp. 39759	0.666
	H.sp. 5	0.571
4. Återkorsningar	5172-28:4	0.846
	5175-50:20	0.801
	5172-39:9	0.779

Effekter på bladlöss av exponering av kornplantor för flyktiga ämnena från andra plantor

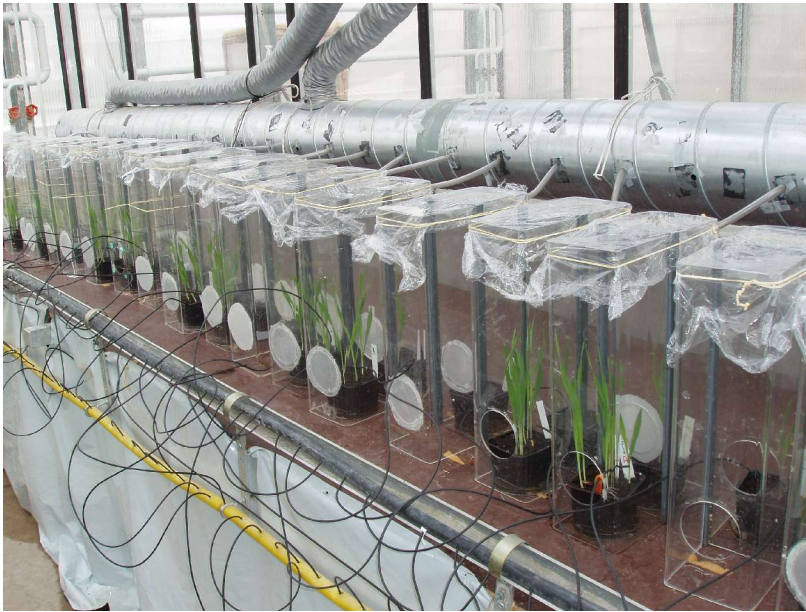
För att exponera plantorna i växthusförsöken användes tvillingburar system (Figur 1). Två olika kontroller har använts, (1) exponering för flyktiga ämnena från samma sort (själv-inducering) och (2) blank utan exponering för växtdoft (icke exponerad kontroll). För att spåra effekten på bladlössens växtacceptans (aphid host acceptance, AHA) användes ett icke-val test för bladlössen (gjordes i Uppsala, Inst. f. entomologi, SLU). Antibiosresistens (AG) uttryckt som relativtal av viktökning av nymf på testad korngenotyp i jämförelse med nymfviktökning hos sort Lina gjordes i Svalöf, Weibull AB (SW).

Fältförsök

I tidigare växthusförsök med fyra icke bladlusresistent kornsorter (Kara, Frida, Hulda och Alva) har vi funnit att bladlusacceptansen påverkas när vissa av dem kombineras i tvåkammarburar eller odlas tillsammans. Ett pilotförsök i fält med uppmuntrande resultat gjordes 2002 under förhållanden som liknar praktisk odling.

År 2003 lades ytterligare två odlingsförsök ut i fält. I ett försök testades fyra moderna kornsorter (Orthege, Otira, Pasadena och Cicero) och i det andra testades blandningar av

Figur 1. Tvillingburar system för plant exponering.



två bladlusresistenta linjer (CI 16 145 & CI 14709) och två mottagliga sorter (Kara & Alva). I utsädet blandades sorterna i 1:1 proportioner.

Försöket med moderna kornsorter bestod av 10 behandlingar, dvs. renbestånd av fyra sorter och de sex möjliga tvåsortblandningarna. I det andra försöket testades de två resistenta och två icke resistenta kornsorterna i de kombinationer som varit mest lovande i laboratorieundersökningar (se lägerrapport) - totalt 7 behandlingar varav fyra sorter i renbestånd och tre tvåsortblandningarna.

Båda försöken lades ut med konventionell jordbearbetning och gödsling i 6 block med samtliga behandlingar. Inga bekämpningsmedel användes och ogräs togs bort manuellt från parceller och osådda mellangångar. Avståndet mellan de 26,4 m² stora parcellerna var 0,4 meter.

Bladlusförekomst skattades två gånger per vecka och skördeprover togs på avkastning och tusenkornvikt. För att uppskatta bladlusförekomsten räknades antal bladlöss per 10 strå per parcell vid varje observationstillfälle. Fältförsöket omgavs av en 8 m skyddszon med kornsorten Pasadena.

Mjöldaggsangrepp noterades och bedömdes som procentuellt andel av plant yta övertäckt av mjöldagg sporer.

Resultat

1. Allelopatiskt inducerad resistens hos moderna kornsorter

Vi har tidigare funnit att bladlusacceptansen påverkas när vissa kornsorter kombineras i tvåkammarburar eller odlas tillsammans. Som uppföljning av dessa undersökningar användes 19 moderna kornsorter för att testa deras allelobiotiska egenskaper.

Bladlusetablering (AHA tester) minskade i 8 av 96 testade kombinationer. Mest aktiva att svara på exponeringar var sorter Prestige, Sebastian och Scandium, bäst att inducera var sorter Barke, Isabella, Christina och Frieda. Resultaten bekräftar de tidigare resultaten och visar att de allelobiotiska egenskaperna, mottaglighet och induceringsförmåga, är genotypberoende och finns företrädda även i moderna kornsorter.

2. Allelobiotisk resistens hos tidigare rapporterat bladlusresistent sortmaterial av korn.

Opåverkade plantor av fyra CI-linjer med tidigare dokumenterad tillväxtresistens för bladlöss (AG-resistens) visade inga signifikanta skillnader i bladlössens värdväxtacceptans (AHA) och olfaktometerförsök (doftacceptans).

Efter korsvis exponering mellan genotyperna i tvåkammarmörar återfanns signifikant minskad bladlusmottaglighet i 7 av de 16 möjliga kombinationerna. CI 16145 svarade med signifikant reducerad bladlusmottaglighet på flyktiga föreningar från 2 av 3 CI linjer medan CI 1470 svarade med signifikant minskning från endast en linje. Resultaten med CI 16145 är i linje med tidigare resultat (se läger rapport; Björkman examensarbete).

Två av de fyra sorterna visade självinducerade effekter i form av minskning eller ökning av bladlusacceptans. Sorter med högre inbyggd konstitutionell resistens mot bladlöss (mätt som RGR) visade liten eller obefintlig *inducerbar* resistens, medan genotyper med lägre resistens (mätt som RGR) i större utsträckning kunde förändra sin resistens genom att reagera på flyktiga ämnen från en annan planta (inducerad resistens).

Resultatet antyder att det finns ett begränsat resursutrymme att möta biotisk stress.

3. Förmåga att svara på allelobiotisk provokation – övriga Hordeum genotyper

Resultaten av AHA testerna med övriga *Hordeum* genotyper exponerade för flyktiga föreningar av Alva har summerats i Tabell 2. Jämfört med icke exponerade plantor minskades bladlusetableringen i 8 av de 19 testade *Hordeum* genotyperna. I genotypgrupperna 1 och 2 bestående av bladlusmottagliga resp. bladlusresistenta linjer av *H. vulgare* var ca 50% av linjerna svarade på allelobiotisk provokation. I genotypgruppen 3 av *H. v. spp. spontaneum* genotyper två av de tre vilda linjerna med bladlusresistens (AG) visade signifikant reduktion av bladlusetablering (AHA) när de exponerades för flyktiga föreningar från Alva. Två av de visade självinduktion och minskad bladlusetableringen när de exponerades för flyktiga föreningar från samma linjer. Denna självinducerande effekt uppvisades inte av de genotyper av *H. v. spp. spontaneum* som klassats som mottagliga i AG-tester. De reagerade inte heller för exponering för flyktiga föreningar från Alva. Möjligen kan de genotyper som svarade betraktas representerande en ekotyp där anpassning till samexistens med växter av samma art är särskilt viktig. Två av de tre testade dubbelhaploida linjerna reagerade med signifikant minskad bladlusacceptans efter exponering för flyktiga föreningar från Alva. Detta indikerar att denna kapacitet kan nedärvas och kan överföras till moderna kornsorter.

Tabell 2. Testade *Hordeum* genotypers förmåga att svara på flyktiga ämnena från sorten Alva (AHA aphid host acceptance), och att inducera allelobiotiskt resistens i sorten Kara.

Hordeum typer och grupper	Genotyper	Förmåga att svara på allelobiotisk provocation			Provocerade allelobiotisk förmåga	
		Alva exponering	Exponerad Kara	Icke exponerad Kara	Self-exponering	Icke-exponering
1. <i>H. v. vulgare</i>	Scarlett	6,60 ^b	7,90 ^a	7,35 ^{ab}	7,35 ^a	7,35 ^a
	Barke	6,79 ^a	7,38 ^a	7,17 ^a	6,50 ^a	7,30 ^a
	Lina	5,75 ^b	7,58 ^a	7,38 ^a	7,70 ^a	8,10 ^a
	Haisa	7,15 ^a	6,60 ^a	7,35 ^a	7,05 ^a	8,10 ^a
2. <i>H. v. vulgare</i>	CI 16145	5,05 ^b	6,00 ^{ab}	6,50 ^a	7,20 ^a	6,70 ^a
	CI 1470	7,90 ^a	8,30 ^a	7,85 ^a	6,20 ^b	7,80 ^a
	CI 11506	7,50 ^a	6,60 ^b	6,05 ^b	7,00 ^a	7,80 ^a
	CI 11245	7,15 ^a	7,05 ^a	6,75 ^a	6,55 ^a	7,80 ^a
	BCC 38	6,95 ^a	7,05 ^a	6,90 ^a	6,80 ^a	7,35 ^a
	BCC 11	6,00 ^b	6,38 ^b	7,92 ^a	6,90 ^a	7,35 ^a
3. <i>H. v. spontaneum</i>	H.sp. 3	6,60 ^a	6,35 ^a	7,05 ^a	6,65 ^a	7,80 ^a
	H.sp. 1	7,00 ^a	7,95 ^a	7,50 ^a	6,90 ^a	7,85 ^a
	H.sp. 6	7,05 ^a	6,70 ^a	7,15 ^a	7,30 ^a	7,60 ^a
	H.sp. 40022	6,20 ^b	7,00 ^{ab}	7,90 ^a	6,25 ^b	7,80 ^a
	H.sp. 39759	7,15 ^b	6,15 ^c	8,15 ^a	7,25 ^a	7,85 ^a
	H.sp. 5	5,25 ^{ab}	4,55 ^b	6,20 ^a	6,80 ^a	7,60 ^a
4. Återkorsningar	5172-28:4	6,60 ^b	8,30 ^a	8,35 ^a	7,55 ^a	8,10 ^a
	5175-50:20	5,35 ^b	7,10 ^a	6,75 ^a	7,40 ^a	7,30 ^a
	5172-39:9	7,30 ^a	8,15 ^a	8,25 ^a	7,81 ^a	7,86 ^a

4. Provocerande allelobiotisk förmåga bland *Hordeum* genotyper

Sorten Kara användes i experimenten som testgenotyp för provocerande egenskaper. Resultaten av experimenten med samtliga testade *Hordeum* genotyper sammanfattas i Tabell 2. Signifikant minskning av bladlusacceptansen (AHA) uppstod endast när Kara exponerades för 2 genotyper, CI 1470 och *H. vulgare* spp. *spontaneum* 40022. Resultaten visar att den Kara inducerade responsen är föga spridd bland de testade genotyperna. Möjligen kan detta tolkas som stöd för antagandet att det finns en uttalad genotypspecifitet i förhållandet mellan provocerande och provocerad genotyp som man missar genom att bara använda en mottagande genotyp.

5. Sambandet mellan allelopati och biomassa-allokering

Del av anslagsramen har även använts för att slutföra experiment samt att sammanställa och bearbeta redan befintliga data rörande inverkan av allelopatiska mekanismer (flyktiga föreningar) på biomassafördelningen hos exponerad växt. I experimenten har två kornsorter, Alva och Kara, matchats i ett tvåkammarsystem med styrt luftflöde. Fördelningen av biomassa har följts genom vägning av olika växtdelar vid fem olika tillfällen. Experimenten visar att allelopatisk exponering av Kara från Alva inte påverkar den relativa tillväxthastigheten (RGR) men ger en signifikant påverkan av fördelningen av biomassa till rötterna på bekostnad av blad. Ur materialet kan man även härleda en förändring av "specific leaf area" (SLA) som följd av allelopatisk påverkan. Den påvisade förändringen av translokationsmönstret bidrar till förståelsen av hur mekanismer som är

relaterade till värdväxtkvalitet påverkas av allelopati. Ytterligare studier är påbörjade för att knyta observationerna in i ett fullständigare nät av inducerad växtrespons.

6. Allelobios, bladlöss och avkastning i fältförsök.

a) Bladlusförekomst

Data från alla tre fältförsöken (pilotstudie 2002 samt försöken 2003) antyder att bladlusförekomsten i de ”blandade” parcellerna genomsnittligt är lägre än de ”sortrena”. Starkast var effekten i blandningen CI 1470 och Alva. Bara en kombination med de fyra moderna korsorter har visat likartad trend.

Skillnader kan bekräftas statistiskt beroende av hur man betraktar avräkningar från samma parcell. Betraktas de som skilda observationer ökar antalet frihetsgrader och skillnaderna blir signifikanta. Betraktas de som replikat minskar antalet frihetsgrader och signifikansen försvinner.

b) Avkastning

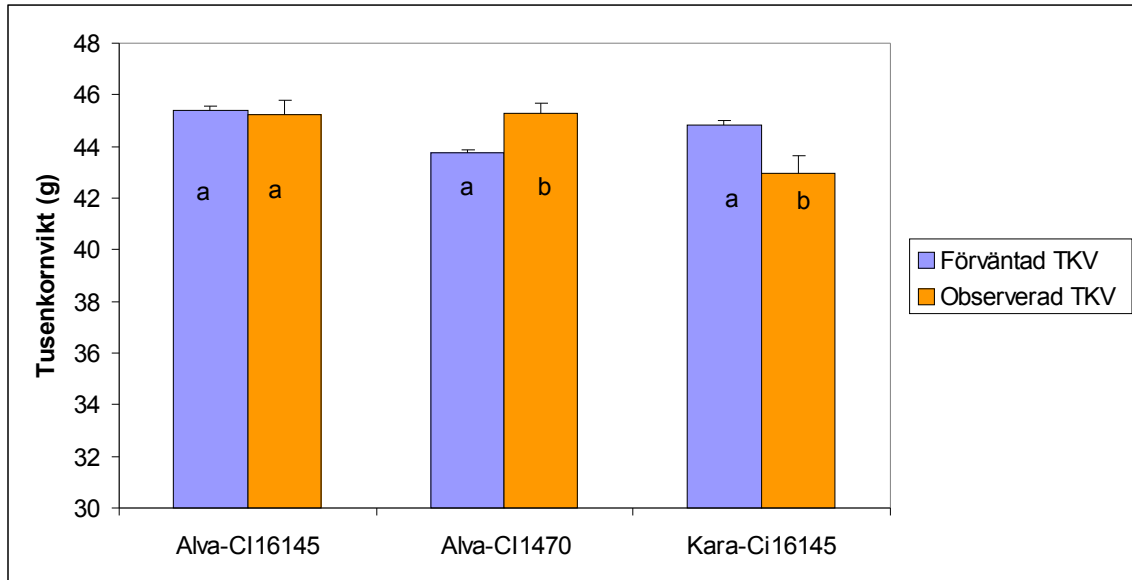
Enligt Fältforskningsenheten SLU för åren 1975-85 har de fyra valda korsorterna (Alva, Kara, Hulda och Frida) jämförbar kärnavkastning. Vårt pilotförsök ger likartat resultat men två av de fyra sorterna visar något högre kärnavkastning än de två andra men skillnaden är inte signifikant.

De nya moderna sorterna har visat stora skillnader i kärnavkastning och därför förväntade värde, medelvärde av kärnavkastning av enskilda tvåkorsorter, har använd i jämförelse med observerad kärnavkastning. Tre av sex kombination av tvåsortblandningar har visat högre avkastningsvärde och två mindre, men de skillnaderna är inte signifikant från de förväntade värdena.

Skillnad i kärnavkastning mellan sorterna Kara och Alva, och CI-linjer är betydligt högre än mellan de testade moderna korsorterna. Den observerade kärnavkastningen hos kombination Kara-CI16145 är signifikant mindre i jämförelse med förväntade kärnavkastning. Detta kan bero på att CI16145 är sexradskorn med kraftig biomassa och tillväxt. Samma trend har också visat Alva i kombination med CI16145. Kombinationen Alva-CI170 har visat nästan signifikant ökning av observerad kärnavkastning än förväntat. Tusenkornvikt av kombination Kara-CI16145 var signifikant mindre medan i kombination Alva-CI170 var signifikant högre (Fig. 2).

Detta är i linje med litteraturen som, när det gäller kärnavkastning, pekar på att blandningar av vissa sorter har en stabiliseringseffekt genom att uppnå samma avkastningsnivå som den med den högsta avkastningsnivån, eller även lite högre. Vilka mekanismer kan vara inblandade i detta är hittills okänt. Kanske har stabiliseringseffekten uppstått på grund av att de blandade parcellerna håller färre bladlöss i genomsnitt än de parcellerna med bara en sort. För att komma till ökad förståelse behövs att flera sortkombinationer testas. Bara en av sex tvåsortkombinationer är i nivå med de lägre avkastande sorterna. Skillnaderna i kärnskörd är inte statistiskt signifikanta. I fältförsöket har även observationer av förekomsten av sjuprickig nyckelpiga gjorts. Resultaten är intressanta men signifikanta skillnader finns inte.

Figur 2. Effekterna av sortblandning på tusenkornvikt (TKV) av de testade kombinationerna när förväntade värde, medel värde av TKV av de renodlade sorter, jämfördes med observerade TKV av testade tvåsortblandning.



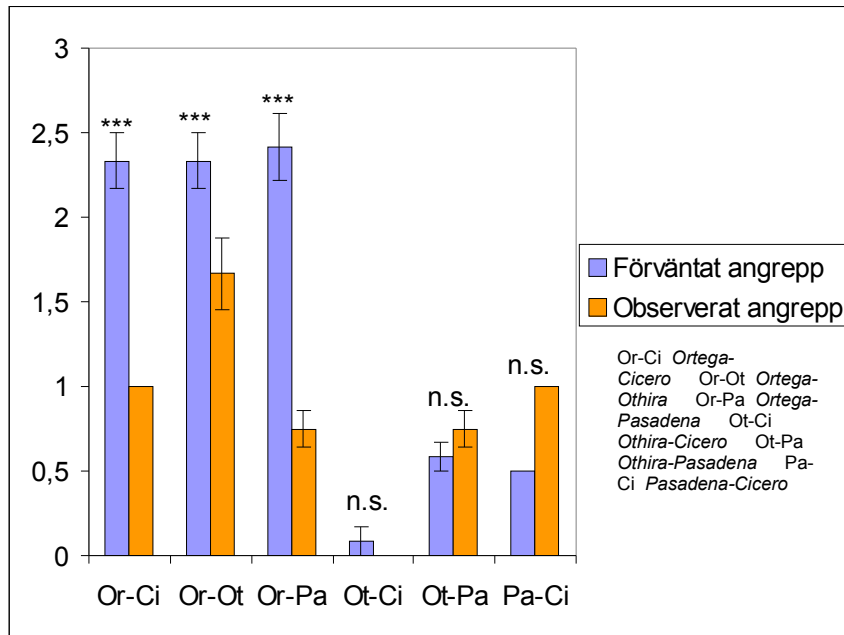
7. Mjöldagg

Mjöldaggsförekomsten skattades i fältförsöken 2003 och resultaten skiljer sig något från det förväntade med hänsyn till mottaglighet för angrepp. Orthegea och Pasadena har lägre resistens mot mjöldagg än de andra två medan Pasadena har betydlig högre resistens (Fältforskningsenheten SLU för åren 2001-2005) än i vårt försök.

I tvåsortblandningarna med Orthegea är mjöldaggsangrepp signifikant lägre än förväntade angrepp, medan mjöldaggsangrepp i de andra tre kombinationerna var på samma nivå som förväntade angrepp (Fig. 3).

I andra fältförsök har CI16145 visat god resistens mot mjöldagg medan CI1470 var mest mottaglig. Sorterna Alva och CI1470 var mest mottagliga i renbestånd, visade i blandning signifikant minskning av mjöldagg angrepp i jämförelse med renbestånd.

Figur 3. Förändring av mjöldagg angrepp sortblandning i jämförelsen med förväntat angrepp i de två testade sortblandningarna. (n.s. ej signifikant; *** signifikant skillnad)



Diskussion och sammanfattning

I ett generellt perspektiv stärker de erhållna resultaten tidigare undersökningar avseende allelotiskt betingad inducerad resistens mot bladlöss. Resultaten kan sammanfattas på följande sätt:

1. *Förekomst av allelobiotiska egenskaper.* De allelobiotiska egenskaperna förekommer i modernt sortmaterial men förefaller vara vanligare i de mer primitiva genotyper som använts som utgångsmaterial i förädlingen. Resultaten och sortmaterialens genetiska bakgrund stödjer hypotesen att de inducerande och inducerbara kapaciteterna är genetiskt skilda egenskaper. I ett evolutionärt perspektiv skulle det alltså vara lika viktigt att uppfatta ett sannolikt konkurrensutsatt framtidsperspektiv som att med flyktiga föreningar annonsera sin närvaro. En betydelsefull fråga som kvarstår är i vad mån det krävs en matchning mellan den inducerande och den inducerade genotypen. Befintliga data ger inte underlag för hypoteser.

2. *Samspelet mellan allelobiotiskt inducerad och konstitutionell resistens* är en kontroversiell fråga eftersom de flesta undersökningar/screeningar av sortmaterial är gjorda på ett sätt som inte utesluter allelobiotiska effekter. Resultaten stödjer hypotesen att de inducerande och inducerbara kapaciteterna är genetiskt skilda egenskaper och visar att det finns ett positivt samspel mellan allelobiotiskt inducerad och konstitutionell

bladlusresistens. Genotyper med antibiotisk resistens dvs. sämre bladlustillväxt på plantan har alltså större utrymme för utveckling av allelobiotiskt inducerad resistens och kan alltså förstärka befintlig resistens. Observationerna rörande mjöldaggsangrepp är att se som spridda iakttagelser men kan möjligen tas till intäkt för pilotstudier av i vilken mån de positiva effekterna av sortblandningar som varit kända länge inte enbart att hänföra till kombinationen av resistensgener.

3. *Effekter på växtens biomassaallokering.* Allelobiotisk respons yttrar sig främst genom gynnad rottillväxt medan den relativa tillväxthastigheten av plantan som helhet inte påverkas. Betydelsen av stimulerad rottillväxt kan möjligen ses i ett längre tidsperspektiv där rotmassans betydelse som revirmarkering kan öka individens konkurrenskraft i ett senare skede då konkurrensen mellan växtindividerna om tillgängliga markbundna resurser som vatten och näringsämnen blir hårdare.

Publikationer av projekt

Ninkovic, V. 2003. Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. *Journal of Experimental Botany*, 54, 1931-1939.

Ninkovic V. & Pettersson J. 2003. Searching behaviour of seven-spotted ladybirds, *Coccinella septempunctata* – effects of plant-plant odour interaction. *OIKOS*, 100, 65-70.

Pettersson J., Ninkovic V., Glinwood R., Birkett M.A. & Pickett J.A. 2005. Foraging in complex environment – semichemicals support searching behaviour of the seven spot ladybirds. *European Journal of Entomology*, 102, 365-370.

Manuskript in progress

Effects of allelobiotic interaction of barley cultivars and aphids olfactory responses.

Relationships between allelobiosis and antibiosis.

Associated learning of colour and odour in the seven-spotted ladybird *Coccinella septempunctata*.