

Slut rapport till SLF för det ettåriga projektet V0633026

Säker ärtodling - en tillgång i växtföljden

Projektdeltagare:

Sökande och projektledare var initialt Desirée Börjesdotter

Paula Persson (växtpatologi) projektdeltagare som övertog projektledarskapet 2009 (efter att Börjesdotter bytt arbetsgivare), inst. för växtproduktionsekologi, SLU

Kerstin Berglund (markfysik) Inst f mark och miljö, SLU

Anna Mårtensson (markbiologi), Inst f mark och miljö, SLU

Shakhawat Hossain, doktorand, Inst för växtproduktionsekologi, SLU

Efter en fördröjning i starten blev projektet en del av ett större fyraårigt program SAFEPEAS säker ärtodling – en nyckelfaktor i ekologiskt jordbruk som inkluderar ett doktorandprojekt ”Impact of Brassicaceae cover crops on the management of pea crops and *Aphanomyces* root rot” som genomförs av doktorand MSc Shakhawat Hossain. Programmet finansieras förutom av SLF av SLU EkoForsk och pågått i drygt tre år. Shakhawat forskarutbildning avslutas med disputation i november 2012.

I projektet studeras hur odling och inblandning av Brassicaceae fånggrödor med olika glykosinolathalt påverkar etablering av ärtplantan samt patogenen *Aphanomyces euteiches*, dess tillväxt och utveckling av ärtrotträta.

Hittills vunna resultat och plan för slutdelen av programmet SAFEPEA

Inledning

Växter inom familjen Brassicaceae innehåller glukosinolater. Då växtcellen skadas hydrolyseras glukosinolaterna tillsammans med enzymet myrosinas, som också finns i cellerna, till flyktiga och/eller vattenlösliga ämnen som kan påverka jordburna växtpatogener. Ärt är en viktig proteingröda i svensk jordbruksproduktion och den fråga projektet ställer är: Kan en Brassica mellangröda före ärt hämma den allvarliga jordburna sjukdomsalstraren *Aphanomyces euteiches* och därmed ärtrotträta och dessutom stärka ärtgrödan?

Programmet är upplagt i fyra delar som har följande mål

1. Hitta en lämplig art inom familjen Brassicaceae som hämmar patogenen *Aphanomyces euteiches* och utvecklingen av ärtrotträta.
2. Identifiera det flyktiga ämne som hämmar *Aphanomyces* och vid vilken dos totalhämmning av patogenen sker.
3. Identifiera den tidpunkt, efter inkorporering av Brassicabiomassa, då det är lämpligt att så ärter.
4. Undersöka effekterna av inkorporerad Brassicabiomassa på kvävefixerande bakterier och utvecklingen av bakterieknölar.

Växthusförsök

Arbetet startade med ett antal växthusförsök där olika växtarter analyserades för sin hämmande effekt på ärtrotträtepatogenen *A. euteiches*. Plantorna fick växa i 8 veckor

(figurerna 1 och 2) i jord som vid start blandats med tjockväggiga oosporer av *A. eutheiches*, dvs. den sporform som naturligt finns i jord.



Figur 1. Mellangrödor 3 veckor.



Figur 2. Mellangrödor 8 veckor, vid skörd.



Nedbrukning av mellangrödan
efter 8 veckor

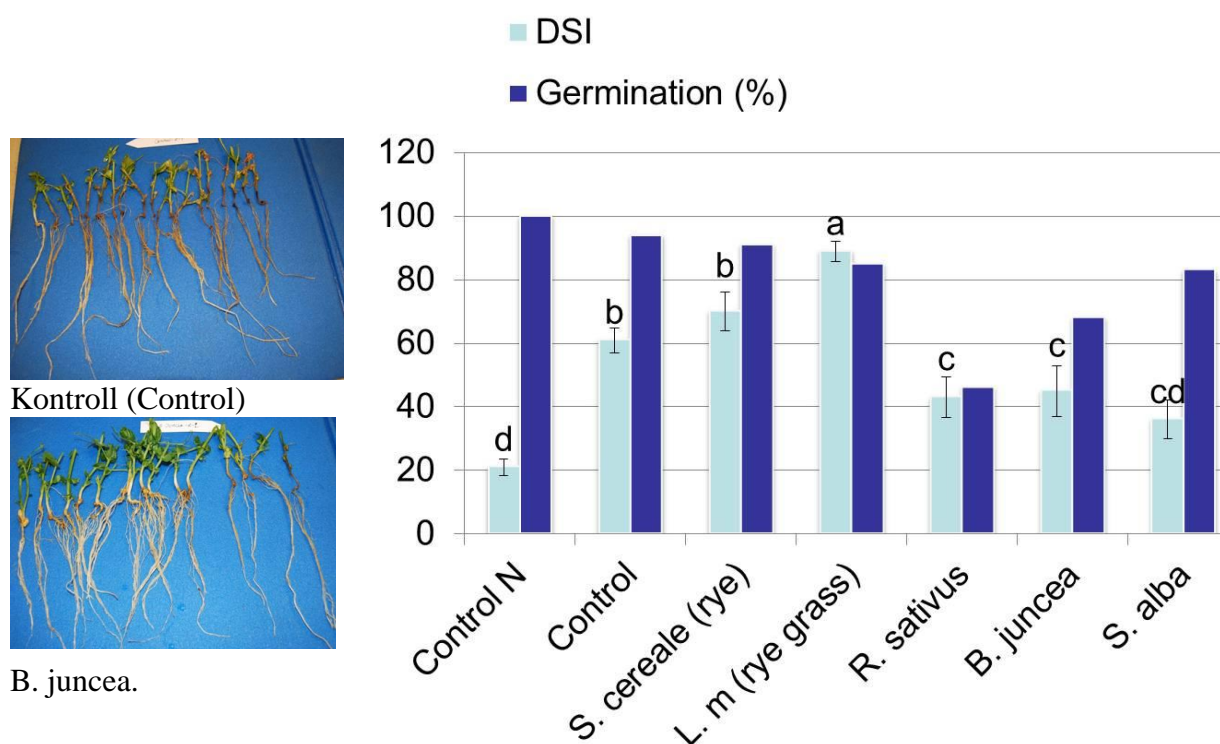


Figur 3. Grödmaterialet skars av vid jorดยtan och hackades maskinellt. Rötter och jord sönderdelades med kniv manuellt och blandades med den ovanjordiska finhackade biomassan varpå blandningen lades tillbaka i boxen.

Efter nedbrukning (figur 3) av växtmaterialet analyserades påverkan på *A. eutheiches* med ett biotest. Ärtfrö av rottrötemottaglig sort såddes och utvecklade ärtrottröta noterades efter fyra veckor genom att ett sjukdomsindex DSI registerades för varje planta (figur 4).



Figur 4. Ärtrottröta *Aphanomyces eutheices* och biotest på ärt.



Figur 5. Sjukdomsindex (DSI, %) och grobarhet (germination, %) i biotest med ärt efter nedbrukning av färsk biomassa i torvjord.

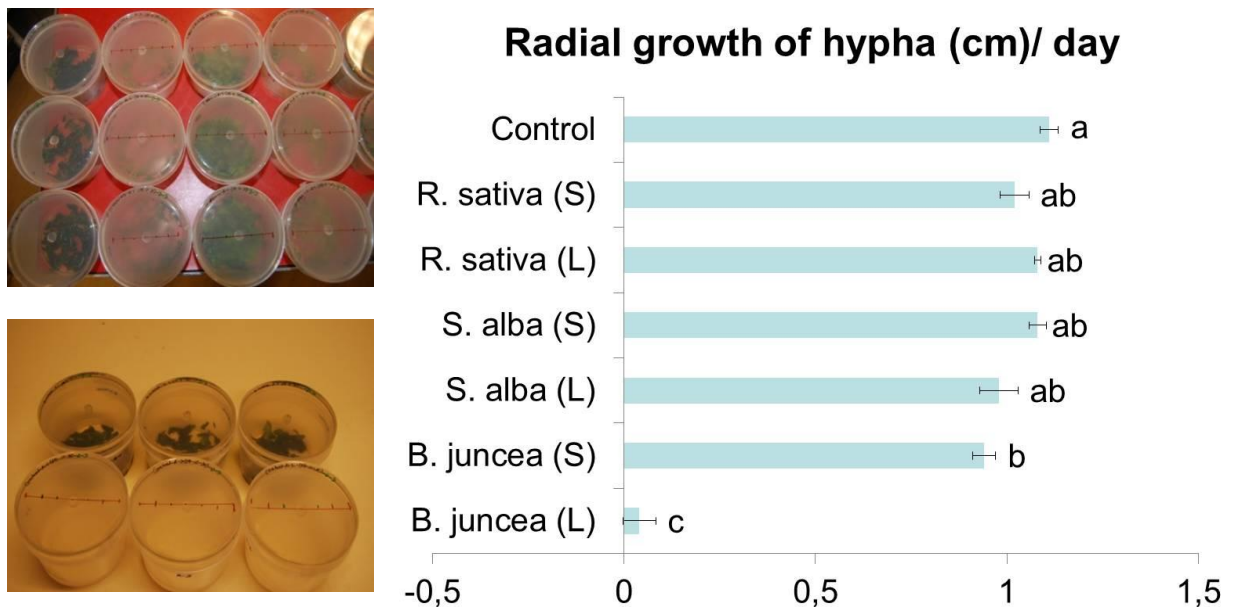
Resultaten (figur 5) visar på stora skillnader i sjukdomsindex i biotest med ärt efter nedbrukning av råg (*Secale cereale*), westerwoldiskt rajgräs (*Lolium perenne*), oljerättika (*Raphanus sativus*), sareptasenap (*Brassica juncea*) och vitsenap (*Sinapis alba*) i torvjord. Efter nedbrukning av färsk biomassa noterades en hämning av ärtrottröta då biomassa från plantor inom familjen Brassicaceae blandats i jorden. Försöket visade också att främst oljerättika och sareptasenap hade en hämmande inverkan på groningen av ärtfröna.

För att kunna arbeta med ett mer ensartat och upprepningsbart växtmaterial övergick vi i de fortsatta studierna till att använda torkad, malad biomassa, vilken då man torkar plantmaterialet i maximalt plus 40°C behöll intakta växtceller och innehåll av glukosinolater.

Laboratoriestudier

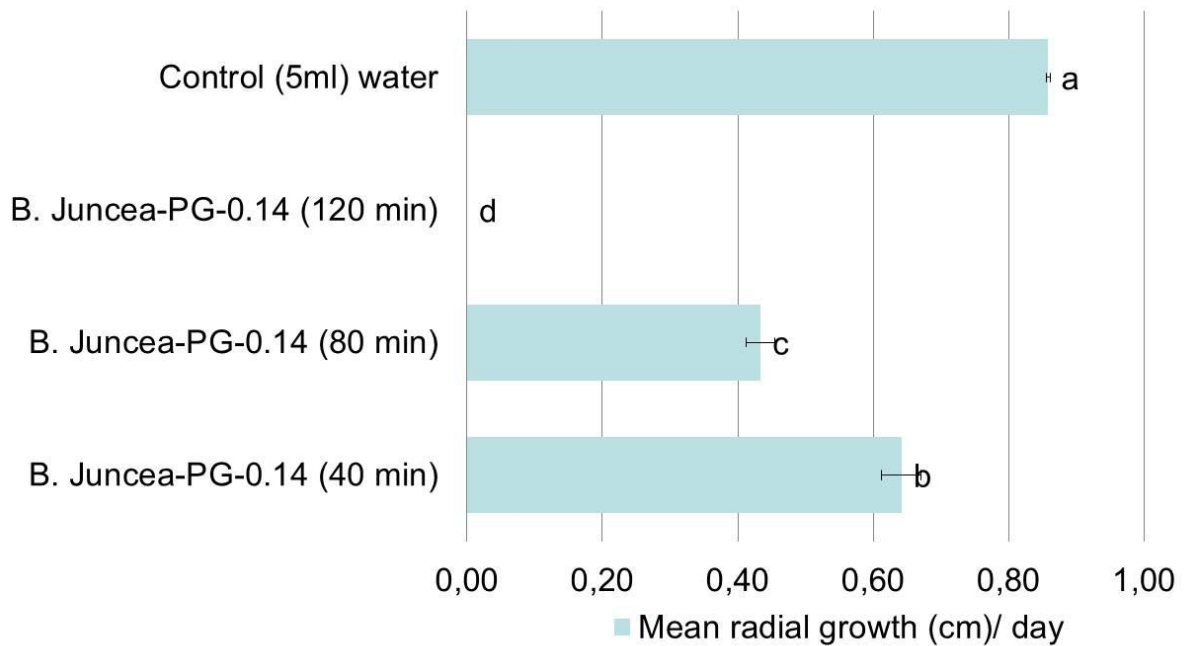
För att studera den direkta hämningen på ärtrottröte-svampen genomfördes laboratoriestudier. *A. eitheiches* ympades på ett agarsubstrat i en petriskål (figur 6). En bestämd mängd torkad biomassa (från blad (L) respektive stjälk (S)) med tillsats av vatten placerades i botten av en plastkopp. Petriskålen med svamp sattes på som lock och förseglades med parafilm. Dagliga mätningar av svamptillväxten registrerades. Resultatet nedan demonstrerar att *B. juncea* (sareptasenap) från blad (L) gav den kraftigaste tillväxthämningen.

Ytterligare laboratorieexperiment visade att exponeringstiden för att totalt hämma svampen med *B. juncea* var 120 minuter (figur 7).



Figur 6. Effekt av torkad biomassa från blad (L) respektive stjälk (S) på den direkta hämningen av ärtrottrötesvampen *Aphanomyces eitheiches* tillväxt (radial growth of hypha), cm/dag.

Exposing time effects on hyphal growth of *A. euteiches*

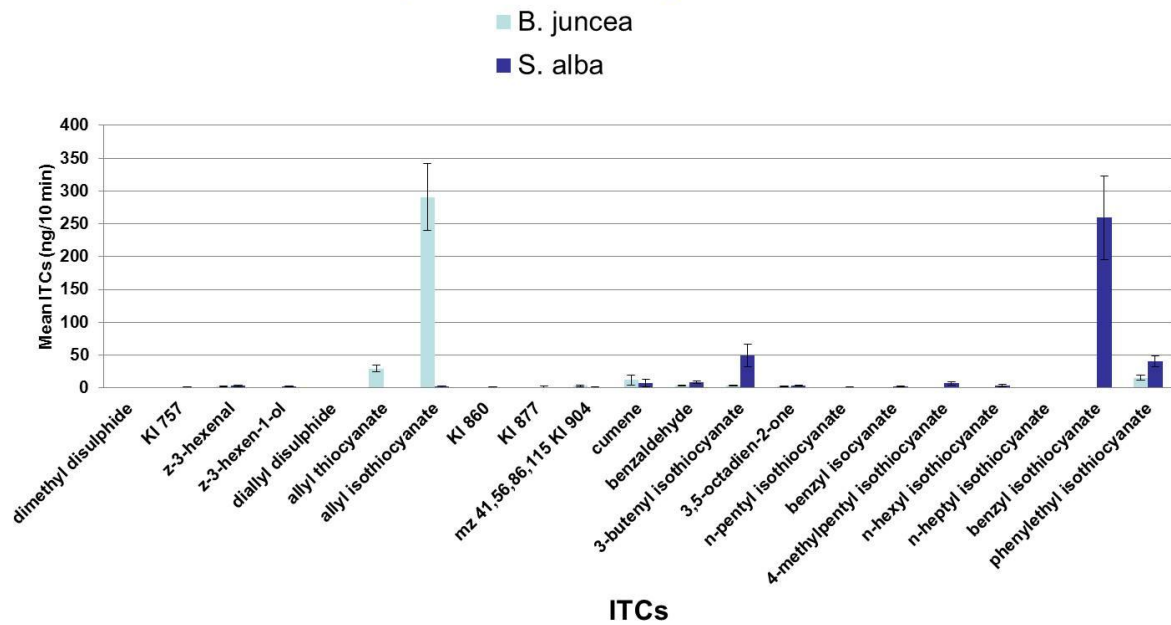


Figur 7. Exponeringstidens inverkan (torkad biomassa) på den direkta hämningen av ärtrottrötesvampen *Aphanomyces euteiches* tillväxt (mean radial growth), cm/dag.

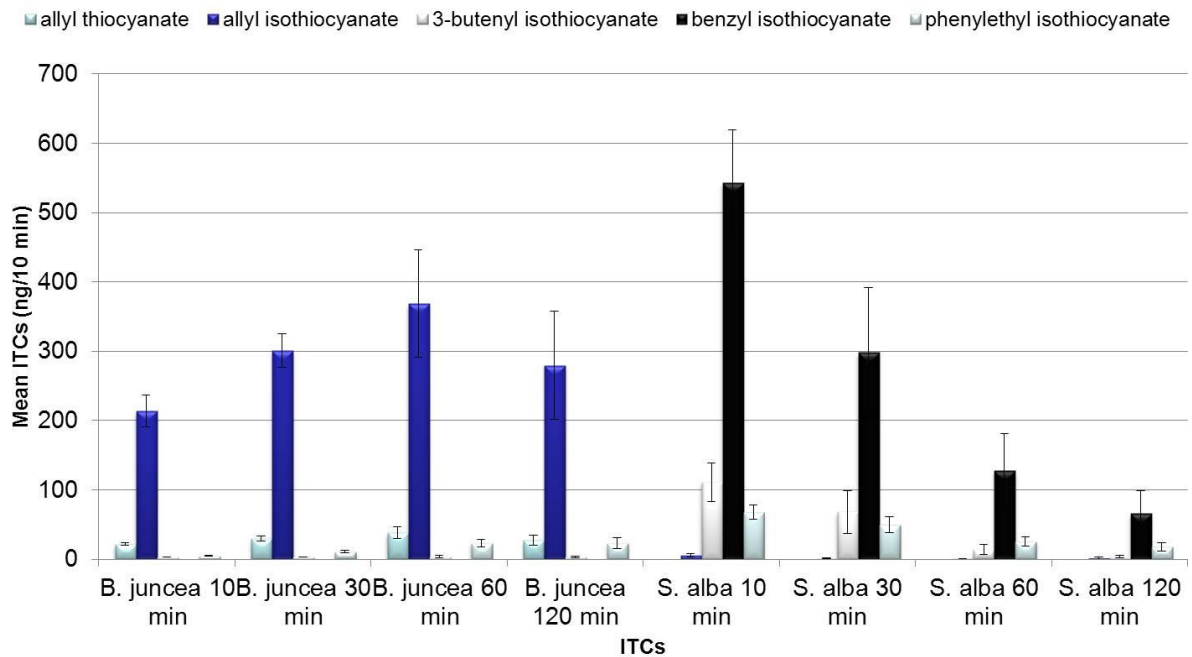
Kemiska analyser av volatila ämnen

Kemiska analyser av de volatila ämnen som produceras vid hydrolys av glukosinolater dvs de ämnen som påverkar svampen, har genomförts med gaskromatografi. Resultaten visar att de två växtmaterial som jämfördes, *Brassica juncea* och *Sinapis alba* har helt olika profiler. Detta är sannolikt en av orsakerna till de båda växtmaterialen olika hämningsförmåga av *A. euteiches*. Intressanta resultat visade också analyser över tiden. *B. juncea* producerar under två timmar en jämn ström av volatiler medan *S. alba* producerar stora mängder momentant men produktionen av volatiler avtar snabbt.

ITCs from dry biomass of *B. juncea* and *S. alba*



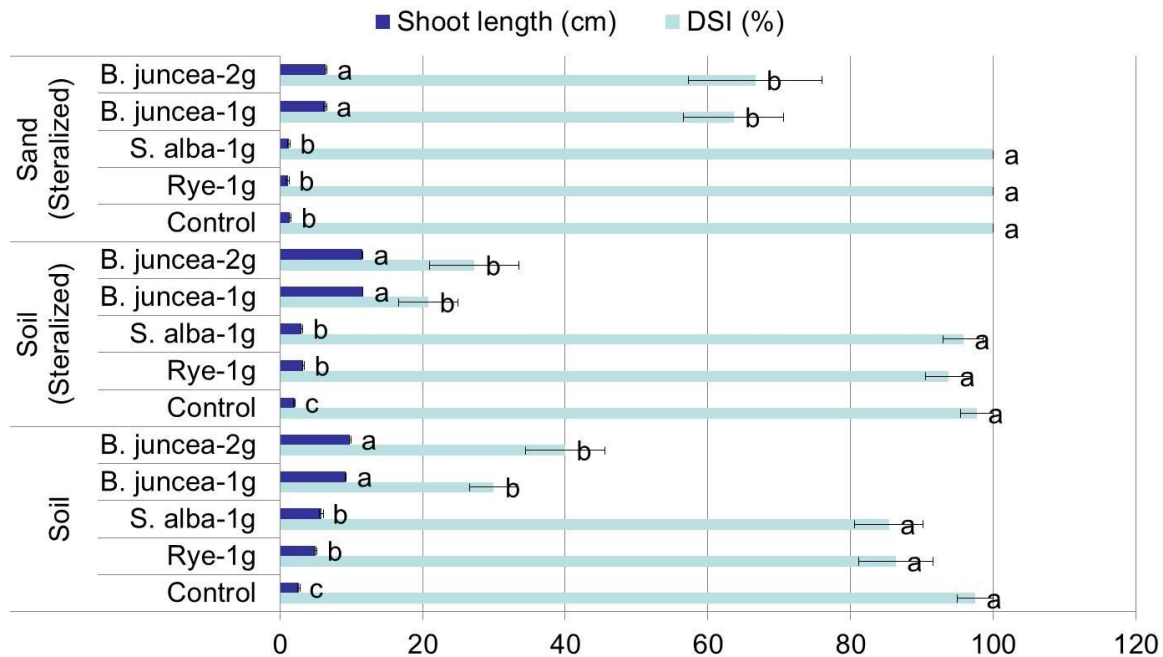
Figur 7. Mängden flyktiga (volatiler) isotiocyanater (ITCs) som avgår från torr biomassa (*Brassica juncea* och *Sinapis alba*) under 10 minuter.



Figur 8. Förändringar i mängden flyktiga (volatiler) isotiocyanater (ITCs) som avgår från torr biomassa (*Brassica juncea* och *Sinapis alba*) med tiden (mätt efter 10, 30, 60 och 120 minuter).

Studier i olika jordar

För att studera sjukdomshämning i olika jordar (sand och mellanlera) tillfördes torrt malt växtmaterial (sareptasenap, vitsenap och råg) till steriliserad sand, fältjord (mellanlera) och steriliserad fältjord. Figur 9 visar att sjukdomshämningen var kraftigast i fältjorden. Frånvaro av naturlig markmikroflora (steriliserad jord) har inte, enligt experimentet, påverkat sjukdomshämningen. En högre dos (2 g istället för 1 g) sareptasenap (*B. juncea*) hade inte större effekt.



Figur 9. Sjukdomsindex (DSI, %) och tillväxt (shoot length, cm) i biotest med ärt efter nedbrukning av torr biomassa i fältjord (soil), steriliserad fältjord (soil, steralized) och steriliserad sand. *B. juncea* tillfördes i två olika doser (1 g resp. 2 g).

Projektets avslutning fram slutet av till 2012

I den sista delen av doktorandarbetet skall följande frågor besvaras:

- När infaller lämplig såtid för ärt efter inblandning av biomassa, för optimal hämning av ärtrottröta?
Metod: experiment i växthus.
- Hur påverkas de för ärt nödvändiga kvävefixerande bakterierna av inblandning av glukosinolathaltig biomassa?

Metod: Laboratiestudie med *Rhizobium* sp. enligt metod som använts för *Aphanomyces* beskriven ovan samt DNA-baserad analys med realtid PCR. DNA specifika verktyg mot gener som kodar för kvävefixering används för att detektera och kvantifiera kvävefixerande bakterier i jordprov.

Rapportering och publicering inom projektet:

Projektet har redovisats i SLUs forskarutbildning och vid ett antal årliga möten arrangerade av SLU EkoForsk samt jordbruksverket.

Resultaten är under manuskriptbearbetning och kommer att ingå i forskarestuderande Shakhawat Hossains avhandling:

Hossain, S., Bergkvist, G., Berglund, K., Mårtensson, A., Persson, P. Impact of Brassicaceae cover crops on *Aphanomyces* pea root rot (inskickat manuskript)

Hossain, S., Bergkvist, G., Berglund, K., Mårtensson, A., Persson, P. The effects of glucosinolate containing plant biomass on *Aphanomyces euteiches* and the development of the pea root rot disease (manuskript under bearbetning)

Hossain, S., Bergkvist, G., Berglund, K., Mårtensson, A., Persson, P. Interaction between hydrolysed, plant connected, glucosinolate volatile substances and the pea root rot pathogen *Aphanomyces euteiches*, related to dose and exposure time (manuskript under bearbetning)

Persson, P., Hossain, S., Bergkvist, G., Berglund, K., & Mårtensson, A. 2011. Interaction between Brassicaceae plant biomass and soil-born pathogens. 6th IOBC Working Group Meeting on Multitrophic Interactions in Soil. Cordoba, Spain April 4-8, 2011. Oral presentation.