

Redovisning av utvecklingsprojekt inom ogräs-, växtskydd-, spridningsteknik- och flora- och faunaområdena

Slutredovisning av projektet: Biologisk bekämpning av utsädesburna sjukdomar i ekologisk växtodling

Sammanfattande projektbeskrivning: Projektet avsåg att testa effekten av olika bakterieisolat samt oljeformuleringar av bakterien MA 342 (*Pseudomonas chlororaphis*) mot utsädesburna sjukdomar i stråsäd i fältförsök. Som testmaterial ingår starkt smittade utsädespartier av korn (bladfläcksjuka och strimsjuka), havre (flygsot och bladfläcksjuka) och vårvete (vanligt stinksot).

Projektansvariga: Berndt Gerhardson och Lennart Johnsson

Start budgetåret: 1997 ..Avslutat budgetåret: 2000

Hittills beviljade medel (kk): År 1: 80 År 2: 80 År 3: 80

Beräknad totalkostnad för projektet (kk): 360

Motivering och mål:

Målet är att skaffa fram kunskap som kan ligga till grund för den uttalade målsättningen att både ekologiska och konventionella odlare i framtiden ska kunna använda biologiska betningsmedel i stråsäd.

Metodik och arbetssätt:

Olika bakterieisolat framtagna och uppförökade vid Enheten för växtpatologi och biologisk bekämpning samt olika varianter av oljeformuleringar bl. a Cedomon applicerades på infekterat stråsädesutsäde. Cedomon har som aktiv substans ett isolat (MA 342) av bakterien *Pseudomonas chlororaphis*. Sjukdomseffekt avlästes i fältförsök huvudsakligen på försöksplatser med ekologisk inriktning.

Erhållna resultat året för åren 1997-1999 och utvärdering av dessa:

Redovisningen av försöksresultaten görs i sammanställningen nedan.

1) Vanligt stinksot (*Tilletia caries*) i vårvete:

Av tabell 1 framgår att vissa bakterieisolat har mycket god effekt medan andra isolat inte har någon effekt alls.

Tabell 1. Resultat av 2 betningsförsök i vårvete mot utsädesburen smitta (4 g malda sotax/kg) av vanligt stinksot (*Tilletia caries*), Eldsberga (N) och Märsta (B), 1997.

Försöksled	Dos i ml/kg	Plantor/ kvm	Rel tal	Sotax/ kvm	Rel tal
Obetat		275	100	17.3	100
Bärare	7.5	263	96	2.8	16
MA 342	300	212	77	0.0	0
MA 342	20	268	98	2.6	15
MA 342, 15X 1)	7.5	233	85	0.8	5
Bakterieisolat 11	300	221	81	0.3	2
Bakterieisolat 13	300	252	92	2.1	12
Bakterieisolat 16	300	192	70	0.0	0
Bakterieisolat 20	300	224	81	21.1	122
Bakterieisolat 23	300	212	77	1.7	10

1) Bakteriesuspensionen är koncentrerad 15 gånger.

2) Strimsjuka (*Drechslera graminea*) i korn:

Under åren 1997 (tabell 2), 1998 (tabell 3) och 1999 (tabell 4) har MA 342 testats tillsammans med olika oljeformuleringar, bl. a olika Cedomon-varianter. Av tabellerna framgår att MA 342 i dosen 300 ml/kg och den laboratoriefremställda oljevarianten (Binol 3) visat god effekt mot strimsjukan. Cedomon-varianterna har, med ett undantag, effektmässigt inte kunnat hävda sig mot MA 342. Frekvensen uppkomna plantor var oftast lägre i de oljeformulerade leden medan skörden i normaldos med Cedomon (tabell 3) är likvärdig med MA 342.

Tabell 2. Medeltal av 2 betningsförsök i Agneta-korn mot strimsjuka (*Drechslera graminea*), Romakloster (I) och Knivsta (C), 1997

Försöksled	Dos i ml/kg	Antal plantor/ kvm	Rel-tal	Angripna plantor/ kvm	Rel-tal
Obetat		236	100	63	100
MA 342	300	265	112	4	6
Bärare	7.5	291	123	49	77
MA 342, 10X 1)	7.5	296	125	38	60
MA 342, 20X 1)	7.5	263	111	28	44
Binol 3 Original 2)	7.5	199	84	1	2
Binol 3 Utspätt 2)	7.5	217	92	2	3

1) Bakteriesuspensionen är koncentrerad 10/20 gånger.

2) Binol 3 är en tidig laboratorieförmulering med rapsolja, dvs en föregångare till produkten Cedomon.

Tabell 3. Resultat av 2 betningsförsök i Agneta-korn mot strimsjuka (*Drechslera graminea*), Eldsberga (N) och Knivsta (C), 1998.

Försöksled	Dos i ml/kg	Skörd kg/ha 1)	Rel	Antal plantor/ kvm	Rel tal	Angripna plantor/ kvm	Rel tal
A. Obetat		1680	100	367	100	11	100

B. Cedomon sats 109	7.5	2220	133	322	88	11	100
C. Cedomon sats 109	15.0	1980	118	272	74	4	36
D. MA 342	300	2250	134	315	86	0	0

1) Endast ett försök.

Tabell 4. Resultat av 2 betningsförsök i Agneta-korn mot strimsjuka (*Drechslera graminea*), Eldsberga (N) och Knivsta (C), 1999.

Försöksled	Dos i ml/kg	Antal plantor/kvm	Rel tal	Angripna plantor/kvm	Rel tal
A. Obetat		307	100	2.9	100
B. Cedomon sats A1	7.5	280	91	1.1	38
C. Cedomon sats A2	7.5	277	90	1.3	45
D. Cedomon sats B	7.5	244	79	1.9	66
E. Cedomon sats C	7.5	242	79	0.0	0
F. MA 342	300	288	94	0.1	3

3) Bladfläcksjuka (*Drechslera teres*) i korn:

Under åren 1997 (tabell 5), 1998 (tabell 6) och 1999 (tabell 7) har MA 342 testats tillsammans med olika oljeformuleringar, bl. a olika Cedomon-varianter. Av tabellerna framgår att MA 342 i dosen 300 ml/kg och den laboratoriefremställda oljevarianten (Binol 3) visat god effekt mot bladfläcksjukan. De svaga skördesiffrorna för Cedomon år 1998 (tabell 6) får enligt företaget som saluför produkten tillskrivas att produkten dels var för gammal och dels att densamma innehöll för mycket vatten.

Tabell 5. Medeltal av 2 betningsförsök i Golf-korn (parti 665) mot bladfläcksjuka (*Drechslera teres*), Romakloster (I) och Knivsta (C), 1997

Försöksled	Dos i ml/kg	Antal plantor/kvm	Rel-tal	Angripna plantor/kvm	Rel-tal
A. Obetat		225	100	76	100
B. MA 342	300	200	89	0	0
C. Bårare	7.5	260	116	33	43
D. MA 342, 10X 1)	7.5	224	100	11	14
E. MA 342, 20X 1)	7.5	230	102	4	5
F. Binol 3 Original 2)	7.5	246	109	2	3
G. Binol 3 Utspätt 2)	7.5	242	108	2	3

1) Bakteriesuspensionen är koncentrerad 10/20 gånger.

2) Binol 3 är en tidig laboratorieförmulering med rapsolja, dvs en föregångare till produkten Cedomon.

Tabell 6. Resultat av 2 betningsförsök med olika kornutsäden mot bladfläcksjuka (*Drechslera teres*), Eldsberga (N) och Knivsta (C), 1998.

Försöksled	Dos i ml/kg	Skörd kg/ha 1)	Rel tal	Antal plantor/kvm	Rel tal	Angripna plantor/kvm	Rel tal
------------	-------------	----------------	---------	-------------------	---------	----------------------	---------

Utsäde: Golf parti 665, leden A-D

A. Obetat		3630	100	316	100	37	100
B. Cedomon sats 109	7.5	3540	97	298	94	10	27
C. Cedomon sats 109	15.0	3590	99	268	85	8	22
D. MA 342	300	3990	110	316	100	0	0

Utsäde: Svani Söderby, leden E-H							
E. Obetat		3260	100	335	100	88	100
F. Cedomon sats 109	7.5	2980	91	316	94	54	61
G. Cedomon sats 109	15.0	3560	99	364	109	33	38
H. MA 342	300	3770	116	388	116	2	2

1) Endast ett försök.

Tabell 7. Resultat av 2 betningsförsök i Golf-korn från Möklinta mot bladfläcksjuka (*Drechslera teres*), Eldsberga (N) och Knivsta (C), 1999.

Försöksled	Dos i ml/kg	Antal plantor /kvm	Rel tal	Angripna plantor /kvm	Rel tal
A. Obetat		285	100	92	100
B. Cedomon sats A1	7.5	301	106	36	39
C. Cedomon sats A2	7.5	289	101	32	35
D. Cedomon sats B	7.5	300	105	55	60
E. Cedomon sats C	7.5	213	75	5	5
F. MA 342	300	267	94	8	9

4) Bladfläcksjuka (*Drechslera avenae*) i havre och flygsot (*Ustilago avenae*) i havre:

Under åren 1997 - 1999 testades bakterien MA 342 i olika havrepartier mot bladfläcksjuka och flygsot, tabell 8. Av tabellen framgår att bakterien har effekt mot båda skadesvamparna. I ett försök 1999 mot flygsot ingick även några Cedomon-varianter tillsammans med MA 342. MA 342 visade 80 procents effekt medan de 3 Cedomon-varianterna visade 60, 31 respektive 90 procents effekt.

Tabell 8. Resultat av 4 betningsförsök mot havrens bladfläcksjuka (*Drechslera avenae*) och 4 betningsförsök mot havreflygsot (*Ustilago avenae*), Eldsberga (N), Knivsta (C) och Hedemora (W), 1997, 1998 och 1999.

Försöksled	Dos i ml/kg	Bladfläcksjuka				Flygsot			
		Antal plantor/kvm	Rel-tal	Angripna plantor/kvm	Rel-tal	Antal plantor/kvm	Rel-tal	Angripna plantor/kvm	Rel-tal
A. Obetat		236 A	100	29 A	100	265 A	100	10.4 A	100
B. MA 342	300	236 A	100	9 A	31	269 A	102	2.9 A	28

Bedömning över möjligheterna att nå målet/en med projektet:

De samlade resultaten från det genomförda projektet visar övertygande att alla de testade fröburna svampsjukdomarna är möjliga att fullgott bekämpa med bakteriebehandling av utsädet.

Bästa/effektivaste behandling har i samtliga fall gett tillfredsställande bekämpningseffekt mot de testade sjukdomarna (tabellerna 1-8 ovan). Att så goda bekämpningseffekter kunnat erhållas är mycket förvånande, dels med tanke på att testade bakterieisolat är genetiskt oförändrade, vanliga

svenska jordbakterier som vi alltid haft i våra jordar, dels - och ännu mer förvånande - med tanke på att smittograden i de redovisade tester enligt ovan varit extremt hög (kontrollleden i tabellerna ovan) och alltså sällan förekommande i praktiken. Resultat och data av liknande karaktär fanns delvis tidigare (t. ex. Knudsen et al. 1997), men de är då så gott som uteslutande framtagna genom olika laboratorie- och växthusexperiment. Att kunna redovisa data från ordinära fältförsök utlagda under olika säsonger och på ett antal olika platser ger för den praktiska odlingen, liksom för att kunna bedöma möjligheterna till fortsatt utvecklingsarbete, en betydligt högre beviskraft. En slutsats vi drar av resultaten är att, under förutsättning att fortsatt utvecklingsarbete genomförs, det är fullt realistiskt att både ekologiska och konventionella odlare i framtiden med fullgott resultat skall kunna använda biologiska betningsmedel.

Detta koncept är alltså beroende av att utvecklingsarbete genomförs och de framtagna resultaten visar också övertygande att t. ex. behandlingssättet och bakteriernas formulering har mycket stor betydelse för slutresultatet. Sålunda har bakterieisolat MA 342 i samtliga fall ovan visat mycket god behandlingseffekt vid tillsättning såsom en vanlig vattensuspension i dosen 300 ml per kg utsäde (tabellerna 1-8 ovan), men som denna dos inte är möjlig att använda i praktisk stor skala har också olika andra formuleringar prövats. Att bara minska dosen av vattensuspension, eller att koncentrera bakterierna i vattensuspensionen ger inte tillräckliga behandlingseffekter som framgår av tabell 1. En annan typ av bakterie-blandning, eller formulering, måste till och målet med alla formuleringar har varit att komma ned till en behandlingsdos av högst 10 ml per kg utsäde, och att ändå ha kvar fullgod behandlingseffekt. I de flesta fall har då dosen 7.5 ml per kg utsäde prövats som standard. Denna dos är acceptabel för behandling i nu tillgängliga anläggningar uppbyggda med tanke på behandling med kemiska bekämpningsmedel.

Som framgår av resultaten ovan ger emellertid olika blandningar/formuleringar mycket olika behandlingseffekter och det gäller att hitta en optimal blandning/formulering. Så visar t. ex. tabellerna 3 och 6 ovan att den ur teknisk synpunkt mycket fördelaktiga blandningen "Cedomon sats 109" inte ger fullgod behandlingseffekt, men att olika variationer på denna blandning t. ex. "Binol 3" (tabellerna 2 och 5) ger fullgod effekt även i utspädd form. Resultaten visar vidare att den kommersiellt tillgängliga blandningen "Cedomon sats C" har betydligt bättre effekt än variationerna "Cedomon sats A1, sats A2, och sats B" som delvis har andra fördelaktiga egenskaper. För en trolig framtida storskalig övergång från kemisk bekämpning till bakteriebehandling behövs alltså omfattande utvecklingsarbeten för att bl. a. ta fram optimala formuleringar av bakterierna. Tyvärr finns inte officiella medel tillgängliga för sådant utvecklingsarbete och inte heller för t.ex. registrering etc. av kommersiella produkter. I den mån detta skall göras får det alltså ske på kommersiell bas och då fordras någon form av "skydd" av nedlagda kostnader t.ex. att använda isolat har patentskydd. Detta krav begränsar alltså urvalet av de isolat som kan användas även om det finns andra isolat som har fullgod effekt, t. ex. "Bakterieisolat 16" i tabell 1.

Utöver att visa på att denna typ av behandling är fullt möjlig och likvärdig med kemisk bekämpning och att formuleringen är viktig visar resultaten också på några andra intressanta fenomen. Bl. a. ger den en klar indikation om att bakteriebehandlingen ofta kan ge skördeökningar, och detta även i de fall sjukdomsbekämpningen inte varit fullgod (tabellerna 3 och 6 ovan). Det är alltså troligt att vi här har att göra med en tillväxtstimulerande effekt som möjligtvis är oberoende av bakteriernas sjukdomsbekämpande förmåga. Hur och varför denna effekt uppstår är okänt och vi har själva bara hypoteser om varför det sker. Resultaten visar emellertid att bakteriebehandling av växter inte är lika

enkel och direkt verkande som t. ex. kemisk bekämpning, och att vi fortfarande har mycket omfattande forskning och mycket att lära innan vi fullt ut kan utnyttja de goda effekterna av de bakterier de svenska odlarna har i sina egna åk erjordar.

Med ovanstående som bakgrund så bedömer vi det realistiskt att både ekologiska odlare och konventionella odlare i framtiden med fullgott resultat skall kunna använda biologiska betningsmedel.

En del av de rapporter/publikationer som publicerats i anslutning till dessa undersökningar i angränsande projekt finns redovisade i nedanstående litteraturlista.

Litteraturlista:

Borowicz, J.J. 1998. Traits of biologically interacting pseudomonads. Doktorsavhandling, Enheten för växtpatologi och biologisk bekämpning. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria 121.

Borowicz, J.J., Hökeberg M., van der Gaag D. J., Johansson M., and Gerhardson, B. 1998. A PCR/RFLP analysis of 16s rDNA from *Pseudomonas chlororaphis* suppressing fungal diseases in cereals. Fifth IOBC/EFPP Workshop "Molecular Approaches in Biological Control", Delemont, Switzerland, 15-18 September 1997.

Borowicz JJ, Hökeberg M, van der Gaag DJ & Gerhardson B. 1998. A PCR/RFLP analysis of 16S rDNA from *Pseudomonas* spp. suppressing diseases in cereals. 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 augusti 1998, Edinburgh, Skottland.

Borowicz, J.J. and Saad Omer, Z. 2000. Influence of culture media on plant growth and on inhibition of fungi by rhizobacteria. In press: BioControl Brady, S. F., Wright, S. A. I., Lee, J. C., Sutton, A. E., Zumoff, C. H., Wodzinski, R. S., Beer, S. V. and Clardy, J. 1999. Pantocin B, an antibiotic from *Erwinia herbicola* discovered by heterologous expression of cloned genes. 1999. J. American Chemical Society 121: (50) 11912-11913.

Gerhardson B. 1998. Ett kemikaliefritt skogs- och jordbruk i Sverige - vad gör forskningen? Kungl. Skogs- och Lantbruksakademiens tidskrift, 137, nr. 6: 19-24.

Gerhardson B. 1998. Maximizing benefit from seed bacterization processes. Abstract. Key-note speech at OECD/COST 830 meeting on ²Microbial inoculants in agriculture and environment. Dijon, France, 17-20 augusti 1998.

Gerhardson, B. 1999. Biocontrol research in Uppsala - mostly disappointments, but some successes. International Plant Protection Conference, Skierniewice, Poland, April 20-23, 1999. Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Biological Sciences 47, 133-139.

Gerhardson, B. 1999. Experiences from a registration process - the microorganism MA 342. Abstract. Key-note speech at the COST 830 meeting ³Microbial Inoculants in Agriculture and Environment², Sassari, Italy, October 1-2, 1999.

- Gerhardson, B., Hökeberg, M. & Johnsson, L. 1996. Biologisk utsädessanering för konventionell och ekologisk odling. *Forskningsnytt om ekologisk landbruk i Norden*. Nr 2, sid. 8-9.
- Gerhardson B, Hökeberg M & Johnsson L. 1998. Disease control by Cedomon -a formulation of a living bacterium. Paper presented at the Brighton Plant Protection Conference, November 1998.
- Gerhardson, B. & Johnsson, L. 1996. Biologisk bekämpning i ekologisk spannmålsodling. *Faktablad, SLU, Mark/Växter* Nr. 11. 4 pp.
- Gerhardson, B. & Johnsson, L. 1998. Biologisk betning av utsäde. *Lantbruks-praktika*. 47-55.
- Heyman, F. 1999. Sjukdomshämmande effekter av endosporbildande bakterier från växtrötter. Examensarbete vid Enh. för växtpatologi & biologisk bek. 1999.
- Hökeberg, M. 1998. Seed bacterization for control of fungal seed-borne diseases in cereals. Doktorsavhandling, Enheten för växtpatologi och biologisk bekämpning. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria* 115.
- Hökeberg M. 1998. Biological control of seed-borne fungal diseases in cereals. Paper presented at: COST 835 - Agriculturally important toxigenic fungi: First meeting of working group 5 - Toxigenic fungi in sustainable agriculture "biopesticides" i Athen, Greece, 25-26 juni 1998.
- Hökeberg, M. 1999. Cedomon - an oil-based bacterial formulation for control of cereal seed-borne diseases. Speech at the COST 830 meeting "Formulation of Microbial Inoculants" Braunschweig, Germany, February 5-6, 1999.
- Hökeberg, M., Johnsson, L. Gerhardson B. and Gustafsson, A. 1999. An oil-based formulation allowing low dose seed application of the *Pseudomonas chlororaphis* biocontrol agent MA 342. Submitted: *European Journal of Plant Pathology*.
- Hökeberg M, Wright SAI, Svensson M, Lundgren LN & Gerhardson B. 1998. *Pseudomonas chlororaphis* defective in the production of an antifungal metabolite express reduced biocontrol activity. Poster at the 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 augusti 1998, Edinburgh, Skottland.
- Johnsson, L., Gerhardson, B. & Hökeberg, M. 1996. Biologisk betning i ekologisk odling. *Meddelande från Södra jordbruksförsöksdistriktet*, Nr 47, 12,1-4.
- Johnsson, L., Hökeberg M. and Gerhardson, B. 1998. Performance of the biocontrol agent MA 342 against cereal seed-borne diseases in field experiments. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 701-711.
- Johnsson L, Hökeberg M, & Gerhardson B. 1998. Biological control of seed-borne *Tilletia caries* in wheat by seed bacterization. Paper presented at symposium of Bunt and Smuts of Wheat, sid. 181-183. 17-20 augusti 1997. Raleigh, North Carolina, USA.

Knudsen, I.M.B., Hockenhull, J., Funck Jensen, D., Gerhardson, B., Hökeberg, M., Tahvonen, R., Teperi, E., Sundheim, L. and Henriksen, B. 1997. Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 775-784.

Konnova, E. Brishammar, S. and Gerhardson, B. 1999. Biocontrol of fungal pathogens by *Pseudomonas* spp and induced systemic resistance by lipopolysaccharides as a part of bacterial action. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Biological Sciences* 47, 151-155.

Svedberg, E. 1999. Utveckling av en ny biotest för diagnos av vetets stinksot *Tilletia caries*. Examensarbete vid Enh. för växtpatologi & biologisk bek. 1999.

Svensson M, Lundgren L, Hökeberg M & Gerhardson B. A search for antifungal compounds from a biocontrol active strain of *Pseudomonas chlororaphis*. Future trends in phytochemistry - A young scientists symposium, in Rolduc, The Netherlands, 10-13 maj 1998.

Tombolini R, Jansson J, van der Gaag DJ & Gerhardson B. 1998. Seed colonization pattern of the biocontrol agent *Pseudomonas chlororaphis* strain MA 342. 8th International Symposium on Microbial Ecology, Halifax, Canada, 9-14 augusti 1998.

Tombolini, R., Van der Gaag, D J., Gerhardson, B. and Jansson, J. 1999. Colonization pattern of the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* MA 342 on barley seeds visualized by using green fluorescent protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3674-3680.

Van der Gaag DJ, Arwidsson O, Hökeberg M & Gerhardson B. 1998. Does the bacterial biocontrol agent MA 342 enter a non-culturable state on dry-stored seeds? 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 augusti 1998, Edinburgh, Skottland.

Van der Gaag DJ, Arwidsson O, Hökeberg M & Gerhardson B. 2000. Population densities on barley seeds and survival of the *Pseudomonas* strain MA 342 during dry storage as related to biocontrol of *Drechslera teres*. Submitted: *Applied and Environmental Microbiology*.

Wright, S. and B. Gerhardson. 1999. Investigation of biocontrol factors of *Pseudomonas chlororaphis*, MA 342, involved in the suppression of *Drechslera teres* in barley. The 2nd International Conference of MAREP Marker/Reporter Genes in Microbial Ecology, Stockholm, Sweden, December 4-7, 1999.

Wright S. A. I., Lindberg A. and B. Gerhardson. 1999. The Genetic Basis for the Production of a Fungistatic Compound by the Biocontrol Agent *Pseudomonas chlororaphis* MA 342. 9th International Congress of Molecular Plant-Microbe Interactions, Amsterdam, Netherlands, 25-30 July, 1999.

Uppsala den 26 juni 2000

Underskrift

Filen SLUTREDO.EKO

Ovanstående är en mall för redovisning till Statens Jordbruksverk
Alternativa sökord: Jordbruksverket, Anders Emmerman

Dnr 100/98