

# Slutrapport - Förstudie om *Alternaria*förekomst i potatis och behandlingseffekter 2013 i Mellansverige.

Lisa Andrae, Rådhuset Nordfalan

Eva Edin, Institutionen för Skoglig mykologi och växtpatologi, SLU

Lars Danielsson, TuberAd

## Sammanfattning

Fem Västsvenska potatisodlingar följdes upp under 2013 med avseende på effekterna av strobilurinbehandlingar (Amistar) mot *Alternaria solani*, som orsakar torrfläcksjuka på potatis. Målet var att belysa frågeställningen om betydelsen av *A. solani* i den Västsvenska potatisodlingen. Resultaten visar på att två behandlingar med Amistar har gett skördeökningar motsvarande 8-9 %, trots att fälten gav ett friskt intryck under säsongen. Vid analys av bladprover hittades *A. solani* av den amerikanska typen i samtliga odlingar, vilket är en helt unik upptäckt. Hos den amerikanska typen förekommer ibland en ökad tolerans mot strobiluriner, vilket gör upptäckten extra viktig för att utforma strategier för att bibehålla en god kontroll av svampen i framtiden.

## I. Beskrivning av projektet

---

### Projektbeskrivning

Detta projekt var ett pilotprojekt för att undersöka hur stor effekt fungicidbehandlingar mot *Alternaria solani* (orsakar torrfläcksjuka) har i matpotatis i Mellansverige, samt i vilken utsträckning svampen förekommer. Vi hade fem nollrutor, obehandlade områden, i ett avgränsat område av fälten som i övrigt behandlades med Amistar två gånger med 0,5 liter/ha. Hela fälten var däremot behandlade mot *Phytophthora infestans* (orsakar bladmögel). Nollrutorna lades ut i fält med sorterna Inova och Fakse som är känsliga för *A. solani*. Syftet var dels att undersöka hur utbredd torrfläcksjukan är i Mellansverige och dels för att analysera om behandlingarna ger någon skördeökning. Målet var att få ett bra underlag för att kunna optimera bekämpningsstrategier, vilket kan leda till en minskad användning av bekämpningsmedel i Mellansverige om det visar sig att förekomsten är låg.

Vid tidigare undersökningar (2010, 2012) av förekomsten i både behandlade och obehandlade fält i Mellansverige kunde *A. solani* enbart identifieras i ett fåtal fläckar (Edin, opubl.). Nackdelen var att de helt obehandlade fälten under dessa år förstördes av bladmögel innan konsekvenserna av torrfläcksjukan helt kunde utvärderas.

Under arbetets gång visade en tysk forskargrupp att det finns två versioner av *A. solani* i Europa, Genotyp 1, (GI) och den amerikanska genotypen, (GII) (Leiminger *et al.*, 2013). Metoden

omarbetades för att passa analysrutinerna vid Inst. Skoglig mykologi och växtpatologi och resultatet redovisas nedan.

De prov som var positiva för *A. solani* sekvenserades för att undersöka om det fanns någon genetisk mutation som leder till en substitution av aminosyra (fenylalanin utbytt mot leucin vid position 129, F129L) som kan leda till minskad känslighet mot strobiluriner, de vanligaste bekämpningsmedlen mot *A. solani*. I samband med analysen av förekomst av *A. solani* analyserades även förekomsten av *Alternaria alternata*, en svamp som numera av forskare anses vara en sekundär svamp och inte en patogen.

## II. Resultat

---

### Identifiering av *A. solani* och *A. alternata* i bladfläckar

Åtta blad med fläckar med symtom på torrfläcksjuka samlades in i de fem nollrutorna samt i en angränsande del av fältet som var behandlat, sex av dessa analyserades. Insamlingen skedde 29-30:e juli 2014 och fältet vid Vedum provtogs även 8:e augusti. Det var svårt att hitta blad med fläckar på, varvid det blev det en riktad insamling och inte en slumpvis insamling.

DNA extraherades direkt från tvättade bladfläckar som liknar torrfläcksjuka. Identifieringen av *A. solani* gjordes med hjälp av molekylära diagnostikmetoder (PCR med artspezifikt primerpar), en för GI (Edin, 2012) och en för GII (Leiminger *et al.*, 2013). För *Alternaria alternata* användes metoden utvecklad av Zur *et al.* (2002).

Inget av proven var av den europeiska versionen utan bara den amerikanska och förekomsten av *A. alternata* var sparsam (Tabell1). Antalet positiva prover från *A. solani* är en sammanslagning av första PCR-körningen och resultatet från sekvenseringen. Av nyfikenhet kördes proverna från 2010 och 2012 med GII-metoden. Vid en första anblick var 29 prov av 48 insamlade 2012 GII och vid två insamlingar i ett ekologiskt odlat fält i Östergötland var 14 respektive 12 av 24 fläckar GII. Resultaten från det västgötska ekologiska fältet var inte tillförlitliga.

Tabell1. Förekomst av *Alternaria solani* och *A.alternata* bland sex blad från obehandlat och sex blad från behandlat område i matpotatis.

Fältnamn	<i>A. solani</i> GI		<i>A. solani</i> GII		<i>A. alternata</i>	
	Obeh.	Beh.	Obeh.	Beh.	Obeh.	Beh.
Skara	0	0	5	4	1	1
Tråvad	0	0	4	6	0	1
Ledsjö	0	0	6	5	0	1
Vedum 1	0	0	4	5	1	1
Vedum 2	0	0	5	4	0	1
Dimbo	0	0	3	2	1	0

### Tolerans mot strobiluriner

Samtliga prov som var positiva för *A. solani* GII skickades för sekvensering till Macrogen Inc (NL) för att undersöka om svamparna bär på substitutionen F129L som minskar känsligheten för strobiluriner. Det var PCR-produkterna från en andra körning med större volym som sekvenserades. En förteckning över de känsliga proven (F129) och de toleranta (L129) redovisas i Tabell 2.

Tabell 2. Aminosyra vid position 219 för känslighet mot strobiluriner hos *Alternaria solani*, F= fenylalanin, känslig, L= leucin, tolerant.

Fältnamn	Positiva <i>A. solani</i> GII					
	Obeh.	F 129.	L129.	Beh.	F 129.	L129.
Skara	5	3	2	4	4	0
Tråvad	4	2	2	6	4	2
Ledsjö	6	2	4	5	3	2
Vedum 1	4	4	0	5	4	1
Vedum 2	5	3	2	4*	2	0
Dimbo	3	1	2	4	3	1

\* Analysen av två sekvenser misslyckades

### Skörd och kvalitet

En skördeprovgrävning genomfördes enligt diagonalmetoden i obehandlad respektive behandlad del av fältet. Två plantor grävdes upp på tio platser i varje fältdel. På fem platser räknades antal plantor/10 m och radavstånd på tio rader. Därefter har skörden i ton per hektar kunnat räknas ut, dels som en totalskörd med knölstorlek >30 mm och dels som en säljbar matfraktion mellan 40-60 mm. En kvalitetsbedömning genomfördes av den säljbara fraktionen med avseende på grönt/missformat, skorv/skalmissfärgning, larvangrepp, rötter och rost samt TS-mätning för bedömning av kokkvaliteten. Ingen skillnad kunde uppmätas vad gäller kvalitet i obehandlad och behandlad del av fältet. Däremot ökade skörden i den del av fältet som behandlats med Amistar (Tabell 3). Det var oväntat med tanke på hur friska fälten såg ut för blotta ögat under säsongen (Bild 1).



*Bild 1. Sort Inova vid bladprovtagningstillfället den 29 juli. Grödan ger ett friskt intryck. Foto: Lisa Andrae*

I medeltal gav behandlingen en skördeökning motsvarande:

<b>Skördeökning &gt; 30 mm</b>	<b>3,5 ton/ha</b>	<b>7,8 %</b>
<b>Skördeökning 40-60 mm</b>	<b>3,4 ton/ha</b>	<b>9,4 %</b>

I en parvis t-test med enkelsidigt konfidensintervall var skördeökningarna statistiskt signifikanta på 95 % nivån.

Tabell 3. Skörd i obehandlad och Amistarbehandlad del av fält.

Plats		Sort		Relativ skörd	Relativ skörd	Skörd ton/ha	Skörd ton/ha
				>30 mm	40-60 mm	>30 mm	40-60 mm
Vedum	1	Inova	Behandlat	105	103	55,7	39,3
Vedum	1	Inova	Obehandlat	100	100	53,0	38,0
Tråvad	2	Inova	Behandlat	107	104	51,3	43,5
Tråvad	2	Inova	Obehandlat	100	100	47,9	41,9
Skara	3	Inova	Behandlat	122	119	37,7	32,3
Skara	3	Inova	Obehandlat	100	100	31,0	27,1
Ledsjö	4	Fakse	Behandlat	102	115	49,4	40,5
Ledsjö	4	Fakse	Obehandlat	100	100	48,3	35,3

### III. Diskussion

---

Med tanke på hur friska fälten såg ut vid provtagningstillfället blev skördeökningen av en behandling med Amistar förvånansvärt stor, 8-9 %. Vi förväntade oss inte heller att hitta mycket *A. solani* eftersom vi hade svårt att hitta typiska symptom på bladen. Skördeökningen indikerar dock att det förekom svamp. Både totalskörden och den säljbara skörden ökade i snitt i samma omfattning men varierade mellan platserna. Trots att vi hittat *A. solani* av den amerikanska versionen med minskad känslighet för strobiluriner har behandlingen haft en tydlig skördehöjande effekt.

Det var väldigt intressant att vi kunde konstatera förekomst av *A. solani*, men mycket oväntat att se att det var den amerikanska versionen, och att den verkar vara så vanlig i Mellansverige. Som redan nämnts så har inte *A. solani* påvisats i Mellansverige under två andra stora inventeringar, vilket visade sig vara felaktigt. Detta p.g.a. att primrarna för den europeiska versionen (Edin, 2012) inte amplifierar den amerikanska versionen. Det visade sig att bland proven från 2010 och 2012 fanns det en stor andel fläckar orsakade av den amerikanska versionen av *A. solani* (GII).

Vid en statistisk analys finns det inga skillnader i förekomst mellan behandlat och obehandlat, men detta har troligtvis med insamlingsmetoden att göra. Den var riktad mot bladfläckar och inte utifrån en gradering av ett visst antal plantor, vilket kan ha gett en skev bild över situationen.

Vad förekomsten av tolerant *A. solani* GII har för betydelse för näringen har diskuterats med personal vid kemikaliefirmorna och Jordbruksverket, Växtskyddscentralerna. Den största frågan är vad förekomsten av toleransgenen medför för odlingen: blir fälteffekten av strobilurinerna nedsatt, påverkas skörden av att behandlingarna eventuellt inte är effektiva?

Därför är det önskvärt med fältförsök eller om det på annat sätt går att bestämma effekterna av strobilurinbehandlingarna. Eftersom detta är ett pilotprojekt med just den infallsvinkeln har vi skickat in en ansökan om bidrag till Jordbruksverket för att kunna fortsätta och framför allt utöka försöken men nollrutor under 2014.

I försöket 2014 kommer uppmärkta plantor att graderas med avseende på antalet fläckar och det är ifrån dessa plantor som insamlingen kommer att ske och då blir inte insamlingen lika riktad som när blad väljs ut från enstaka plantor. Insamlingen ska ske vid ett flertal tillfällen under odlingssäsongen så att vi får prov från olika skeden av sjukdomsutvecklingen. Därmed kommer utbredningen av populationerna av *A. solani* att följas, främst med avseende på strobilurinkänsligheten. Även här kommer skördeberäkningar att göras för att utvärdera effekten av behandlingarna.

#### **IV. Resultatförmedlingsplan**

---

Den främsta målgruppen för projektet är potatisodlare och rådgivare i Mellansverige. Delresultaten kommer därför att fortlöpande rapporteras vid odlarmöten, växtskyddskonferenser i Sverige, t.ex FK-dagen, och internationellt.

Under 2014 har resultatet presenterats av Eva Edin vid NORBARAG-mötet i Riga, 18-19 feb. Det kommer att presenteras och diskuteras under en workshop i mars där forskare och anställda vid kemikaliefirmorna kommer att samlas för att utröna och utvärdera metoder samt undersöka möjligheten för gemensamma (fält-) försök och behandlingar i dessa försök.

#### **V. Referenser**

---

- Edin, E. 2012. Species specific primers for identification of *Alternaria solani*, in combination with analysis of the F129L substitution associated with loss of sensitivity toward strobilurins. *Crop Protection* 38, 72-73.
- Leiminger, J., Adolf, B. & Hausladen, H. (2013). Occurrence of the F129L mutation in *Alternaria solani* populations in Germany in response to QoI application, and its effect on sensitivity. *Plant Pathology* online. DOI: 10.1111/ppa.12120
- Zur, G., Shimoni, E., Hallerman, E. & Kashi, Y. (2002). Detection of *Alternaria* fungal contamination in cereal grains by a polymerase chain reaction-based assay. *Journal of Food Protection* 65, 1433-1440.