

## Slutrapport till Jordbruksverket

Projekt: Kombinationer av sort och behandling mot torrfläcksjuka i potatis samt studier av strobilurin-resistens i *Alternaria solani*. (Dnr. 4.1.18-11323/13)

### Inledning

Torrfläcksjuka i potatis har sedan i snart två decennier varit ett uppmärksammat problem i Sverige, speciellt i Kalmar län och på Kristianstadsslätten. Sjukdomen orsakas av svampen *Alternaria solani* och är spridd över stora delar av världen. Torrfläcksjukan har ökat under senare år över hela världen, troligen p.g.a. ökande medeltemperaturer (Kapsa, 2008) och kanske också till följd av minskad användning av bredspektumfungicider som mancozeb. Angreppen i Sverige är störst vid odling av stärkelsepotatis med lång växtsäsong p.g.a. att blasten vissnar ner i förtid och stärkelseinlagringen reduceras men det har också rapporterats om att sjukdomen uppträder i matpotatisodlingar. Försök i Sverige har visat på skördeökningar på upp till 20 % vid bekämpning av sjukdomen med fungicider i stärkelsepotatis. För att få en effektiv bekämpning med minimerad användning av kemiska medel behövs förbättrade kunskaper om de odlade sorternas grad av resistens, hur och när uppkomst och spridning av sjukdomen sker i Sverige, samt optimering av bekämpningsstrategier (preparat, dos, tidpunkt). Ett ständigt hot är att svampen lätt kan utveckla resistens mot kemiska bekämpningsmedel.

I detta projektet har vi

- kartlagt förekomsten av F129L, substitutionen i cytokrom *b*-genen hos *Alternaria solani*, som resulterar i minskad känslighet för strobiluriner (QoI-fungicider).
- Testat ett antal alternativa medel mot torrfläcksjuka i växthus, bl.a. kiselpreparat, växtextraktbaserade medel och ett biologiskt medel.
- undersökt skillnader i resistens mellan sorter, både matpotatisorter och stärkelsepotatisorter
- utfört fullskaliga fältförsök med olika bekämpningsstrategier. Vi har undersökt effekten av sort, tidpunkt för första bekämpning, reducerade doser, samt kombinationer mellan fungicider och växtstärkande kiselpreparat.

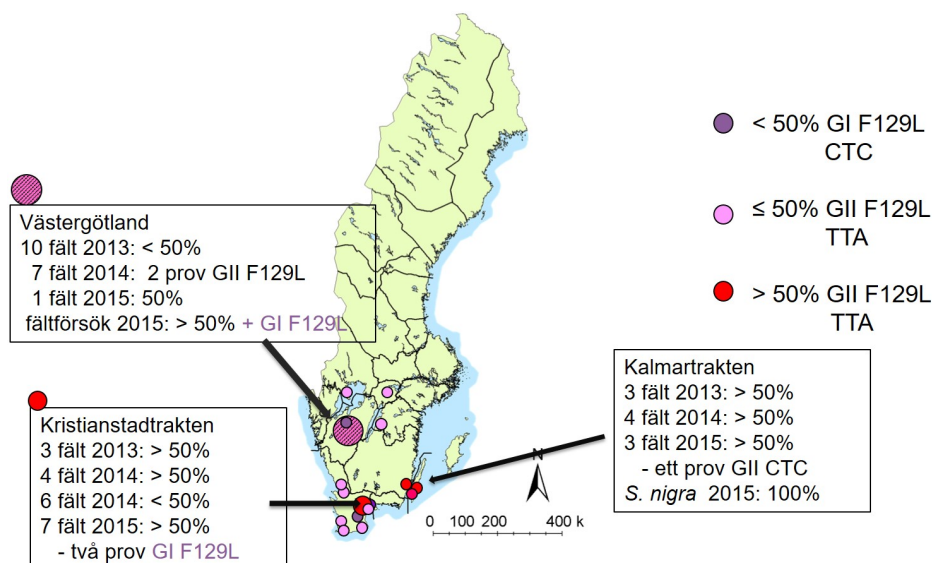
### Resultat

#### ***Fungicidresistens i svamppopulationerna.***

Vi har undersökt förekomst och utbredning av fungicidresistens genom att i ett stort antal prov, totalt 868 stycken från Sverige under 2013-2015, sekvensera den gen som kodar för cytokrom *b*, som är målet för strobilurinerna, utifrån den metod som Edin utvecklade under en föregående inventering (Edin, 2012, SLF Projektnummer H0842015). Sekvenseringen ger information om förändringar i aminosyrasekvensen i cytokrom *b*-genen där fenylalanin är utbytt mot leucin vid position 129, därav beteckningen F129L. Denna substitution medför en minskad känslighet mot strobiluriner (Rosenzweig *et al.*, 2008).

Bland proven som samlats in redan 2012 i ett fält utanför Kristianstad fann vi att alla sekvenser såg annorlunda ut och det visade sig att det var en annan version av mitokondrie, även kallad genotyp 2 (GII) eller den amerikanska versionen (Leiminger, *et al.*, 2014). Därför fick vi anpassa analysmetoden med primrar utvecklade av Pasche *et al.* (2005) som är specifika för GII. Följden blev att vi, bland de mellansvenska proven, hittade betydligt fler prov positiva för *A. solani*, varav hälften hade F129L substitutionen (Figur 1). Genotypen GII med substitutionen dominerar numera i Sydsverige. Fälteffektiviteten av azoxystrobin undersöktes vid ett fältförsök 2014 i stärkelsepotatis med ett led som behandlades enbart med Amistar (a.i. azoxystrobin) vilket visade på en kraftigt minskad effekt (Liljeroth, 2016) i ett

fält med omfattande angrepp av torrfläcksjuka. Därför undersöktes isolat från detta fältförsök närmare under laboratorieförhållanden och det visade sig att isolat med F129L hade ca 10 gånger mindre känslighet mot azoxystrobin jämfört med vildtypen (Odilbekov *et al.*, 2016). En översikt av förekomsten av F129L i *A. solani* visas i figur 1.



Figur 1. Karta över andelen prov med av aminosyrasubstitutionen F129L hos *Alternaria solani* med genotyp 2 (GII) samt några prov med genotyp 1 (GI) F129L. Den stora cirkeln i Västergötland respektive nordöstra Skåne företräder områden där flera fält provtagits. Den lila markeringen i Västergötland företräder fältförsöket 2015. Sammanlagt har 868 bladprov undersökts.

Matpotatisen i fältförsöket i Vedum, Västergötland (se nedan), fick inga betydande angrepp av torrfläcksjuka men *A. solani* förekom i flertalet av de bladfläckar som analyserades 2015 eller 2016 (Tabell 1). Majoriteten var GII F129L men det förekom vildtypen av GI också. Vi såg att selektionen för F129L i populationen kan gå fort eftersom flertalet av proven från Gala som behandlats med Amistar var GI F129L medan det i de andra försöksleden inte var så. Torrfläcksjuka förekommer således mycket sparsamt i Mellansverige men svampen *A. solani* finns i fälten och utvecklar snabbt resistens mot bekämpningsmedlet om det används.

Tabell 1. Resultat av identifikation av *Alternaria solani* och mitokondriegenotyp i bladfläckar från fältförsök i matpotatis i Västergötland. N 2015 = 6 per led, N 2016 = 8 per led.

År	Sort	Försöksled	GI <sup>a</sup> vildtyp	GI F129L <sup>b</sup>	GII vildtyp	GII F129L
2015	Gala	Kontroll	1	0	1	4
2015	Gala	2x Amistar 0.5 L ha <sup>-1</sup>	0	2 <sup>c</sup>	0	2
2015	Gala	4x Signum 0.25 L ha <sup>-1</sup>	0	0	1	2
2015	Fakse	Kontroll	1 <sup>d</sup>	0	2	2
2015	Fakse	2x Amistar 0.5 L ha <sup>-1</sup>	2 <sup>d</sup>	0	1	1
2015	Fakse	4x Signum 0.25 L ha <sup>-1</sup>	0	0	1	4
2016	Fakse	Kontroll	0	0	2	0
2016	Fakse	2x Amistar 0.5 L ha <sup>-1</sup>	0	0	1	0
2016	Fakse	4x Signum 0.25 L ha <sup>-1</sup>	0	0	0	0

<sup>a</sup> GI = mitokondriegenotyp 1, GII = mitokondriegenotyp 2

<sup>b</sup> Aminosyran fenylalanin (F) har bytts ut mot leucin (L) vid aminosyraraposition 129

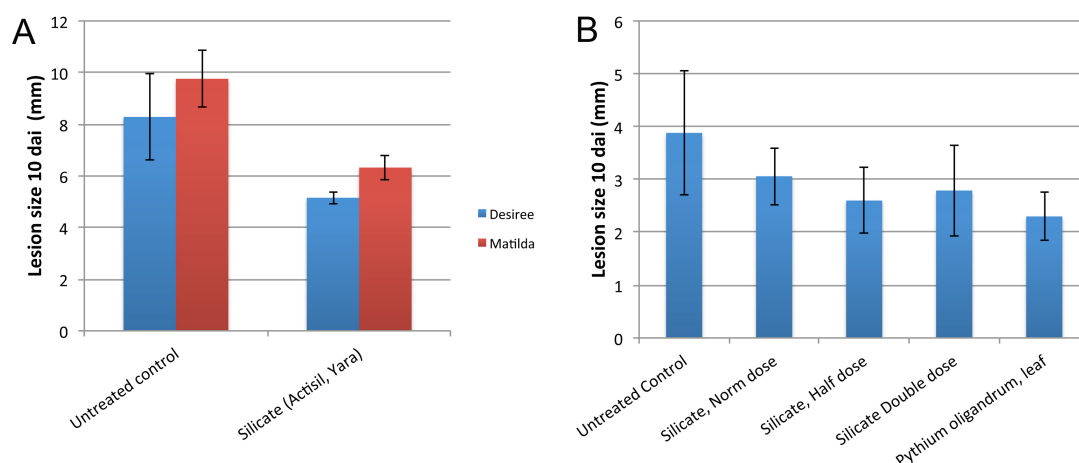
<sup>c</sup> 4 prov utöver dessa hade både GI F129L och GII F129L, orsak oklar.

<sup>d</sup> 1 prov utöver dessa hade både GI omuterad och GII F129L, orsak oklar.

Fyra av proven med GI F129L var även positiva för GII med F129L. Båda genotyperna verkar ha förekommit i samma bladfläck men vi behöver vidare utreda orsaken till detta resultat. Fenomenet med dubbla genotyper har även återfunnits i renisolat som Firuz Odilbekov undersökte men efter ett antal enkelsporsgenerationer försvann GII.

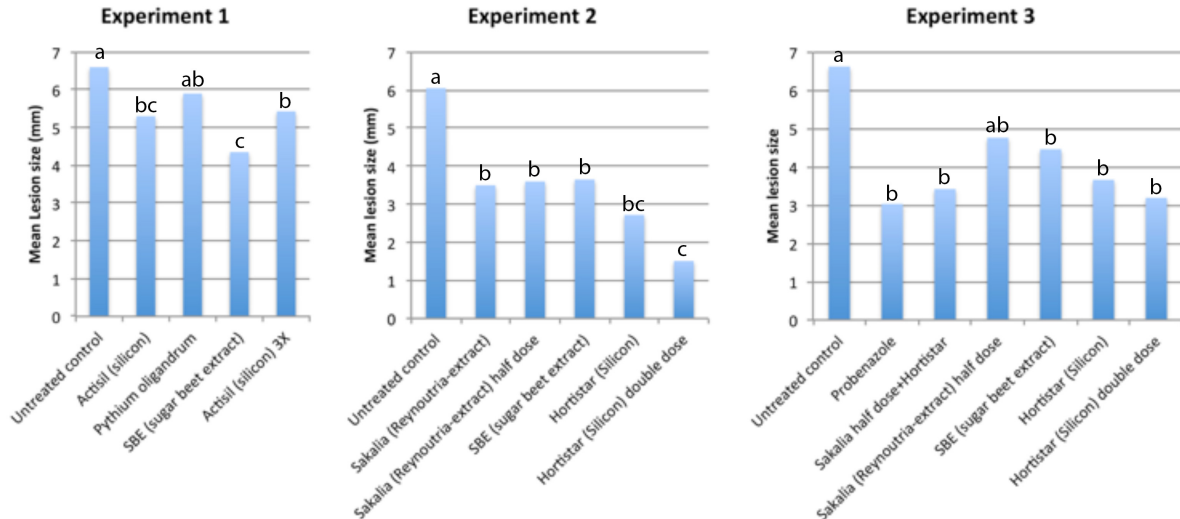
### Växthusförsök

Vi har i ett antal växthusförsök undersökt om några olika alternativmedel har effekt mot infektion med *A. solani*. Potatisplantor odlades upp i krukor i växthus. Ca 4 veckor gamla plantor behandlades med handspruta till begynnande avrinning. Två dagar senare inokulerades blad på plantorna genom att applicera en liten droppe med sporsuspension av *A. solani* på flera blad på varje planta. Inokuleringsmetoden finns beskriven i Odilbekov et al. (2014). Vilka medel vi har testat framgår av figurerna 2 och 3. I upprepade växthusförsök har vi funnit att två olika kiselpreparat har signifikant effekt mot *A. solani* och att applicering av dessa reducerade sjukdomssymptomens storlek med i genomsnitt ca 50 %. Vi fann liknande effekt av ett extrakt från sockerbeter (SBE), och även viss effekt av applicering av biokontroll-organismen *Pythium oligandrum*.



Figur 2. Två försök 2015 som visar effekt av kisel (preparat: Actisil) på storleken på sjukdomssymptomen efter inokulering med *A. solani* i växthusförsök. I första försöket (A) använde vi två potatissorter och i försök 2 (B) undersöktes doser av kisel samt en organism (*Pythium oligandrum*) för biologisk bekämpning.

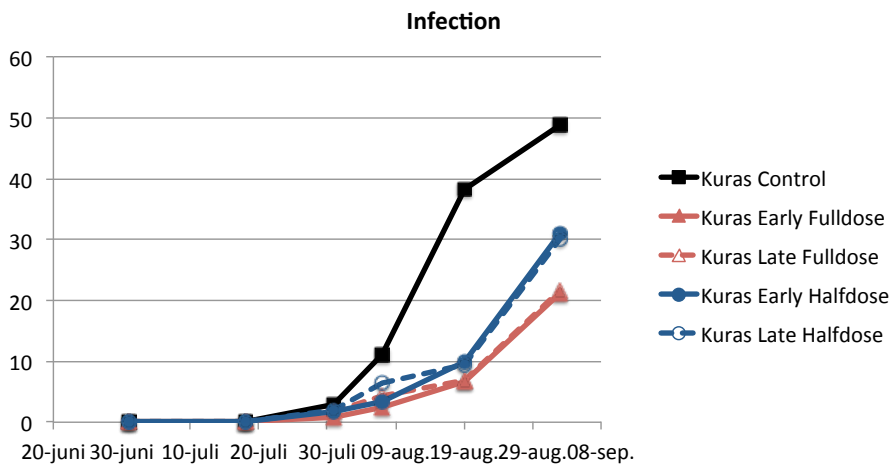
Under 2016 testade vi även ett annat kiselpreparat (Hortistar) samt ett växtextraktbaserat preparat, Sakalia®, som är baserat på extrakt av växten *Reynoutria sachaliensis*. Detta preparat har tidigare visat sig ha mycket god effekt mot mjöldagg i gurka (M. Rur 2016. Lic-avhandling; [http://pub.epsilon.slu.se/13668/1/Rur\\_M\\_160916.pdf](http://pub.epsilon.slu.se/13668/1/Rur_M_160916.pdf)). Även dessa hade signifikant effekt på utvecklingen av sjukdomssymtom (Figur 3) och båda preparaten kommer att testas vidare i småskaliga fältförsök under 2017.



Figur 3. Tre försök 2016 med växtstärkande medel: kisel (två olika preparat: Actisil och Hortistar), ett preparat baserat på extrakt från växten Reynoutria (Sakalia®) samt ett sockerbetsextrakt som tagits fram vid SLU. Olika bokstäver inom varje experiment betyder statistiskt signifikant skillnad (Tukey test)

### Fältförsök

*Stärkelsepotatis.* Vi har varje år genomfört fältförsök vid HS i Kristianstad, 2014 och 2016 med stärkelsepotatis. Vi har undersökt effekten av sort, ett flertal olika behandlingar med bekämpningsmedel samt försöksplats. Försöken var upplagda som randomiserade blockförsök och varje försöksruta hade en storlek om 5 rader x 10 m varav de 3 raderna i mitten skördades. I stärkelsepotatis var det relativt små skillnader i resistens mellan sorter, även om sorten Kardal fick något mer angrepp än sorten Kuras 2014. Denna skillnad beror sannolikt på att Kardal är en tidigare sort. Resultaten visar att tidiga fungicidbehandlingar (i juni) inte hade någon signifikant effekt på varken sjukdomsutveckling eller skörd. Reducerade doser av fungicider ledde däremot till ökande angrepp (Figur 4).



Figur 4. Infektionsgrad av torrfläcksjuka (procent) i stärkelsesorten Kuras. Tidiga bekämpningar med Revus Top i juni 2014 medförde inte minskade angrepp. Upprepade behandlingar med Signum (4 gånger med två veckors intervall med start i början av juli) minskade angreppen kraftigt. Samma försök i sorten Kardal gav liknande resultat.

Bekämpningarna mot torrfläcksjuka ledde 2014 till skördeökningar på upp till 20% (Tabell 2) vilket i en variansanalys visade sig vara höggradigt signifikant ( $p < 0,0001$ ). Men den största effekten på skörden var sorten där obehandlad Kuras hade nästan lika stor skörd som behandlad Kardal. Tidpunkten för första behandling hade ingen signifikant effekt, däremot gav halverade doser signifikant större angrepp ( $p = 0,018$ ).

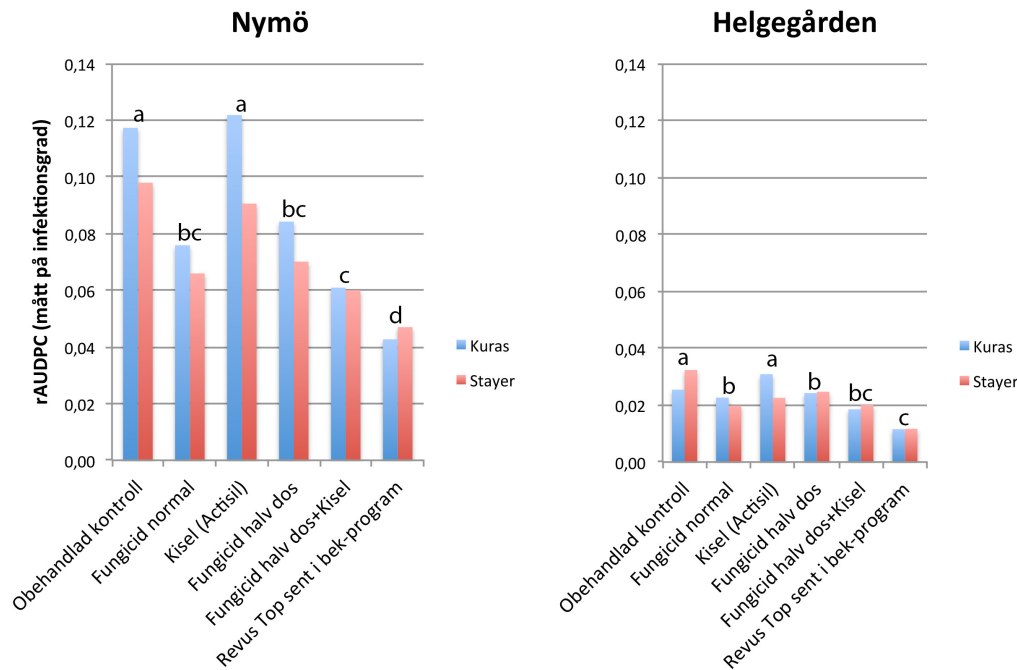
Tabell 2. Knölskörd och stärkelseskörd från fältförsöket med stärkelsesorterna Kardal och Kuras 2014.

<b>Behandling</b>	<b>Skörd ton/ha</b>	<b>Stärkelsehalt %</b>	<b>Stärkelseskörd ton/ha</b>
<b>Kardal</b>			
Obehandlad	42,6	20,6	8,8
RevusTop (T1,T2) + Signum (T3,T5,T7,T9)	51,1	22,1	11,3
Signum (T4,T6,T8,T10)	47,7	22,3	10,6
RevusTop (T1,T2) + halvdos Signum (T3,T5,T7,T9)	47,4	22,0	10,4
Halv dos Signum (T4,T6,T8,T10)	46,9	22,1	10,3
<b>Kuras</b>			
Obehandlad	53,6	20,4	10,9
RevusTop (T1,T2) + Signum (T3,T5,T7,T9)	58,8	20,9	12,3
Signum (T4,T6,T8,T10)	58,8	21,1	12,4
RevusTop (T1,T2) + halvdos Signum (T3,T5,T7,T9)	55,5	21,0	11,7
Halv dos Signum (T4,T6,T8,T10)	55,5	21,2	11,8
<b>Medel</b>			
Obehandlad	48,1	20,5	9,8
RevusTop (T1,T2) + Signum (T3,T5,T7,T9)	55,0	21,5	11,8
Signum (T4,T6,T8,T10)	53,2	21,7	11,5
RevusTop (T1,T2) + halvdos Signum (T3,T5,T7,T9)	51,4	21,5	11,0
Halv dos Signum (T4,T6,T8,T10)	51,2	21,6	11,1

T1, T2 osv betyder behandlingstillfälle 1,2 osv.

I fältförsöken 2016 fann vi att alternering mellan fungiciderna Revus Top (3 gånger) och Signum (2 gånger) ledde till bättre bekämpningseffekt jämfört med en tidigare etablerad strategi (som användes i försöken 2014) där Revus Top först applicerades två gånger (i juni) och följdes av 4 appliceringar av Signum ("Fungicid normal" i Figur 5 och Tabell 3). Revus Top senare i bekämpningsprogrammet gav således en bättre effekt trots att den strategin innebar ett bekämpningstillfälle mindre. Vi kommer att upprepa dessa försök och vidare optimera behandlingarna vad gäller tidpunkt och alternering av preparat samt undersöka om resistens även börjar utvecklas mot boscalid (aktiv substans i Signum).

Ett annat intressant resultat var att om reducerade fungicid-doser kombinerades med kiselpreparat så var angreppen inte större än vid applicering av enbart rekommenderade doser av fungicider. Däremot gav enbart halverad dos ett sämre resultat precis som i försöken 2014. Noterbart är även att angreppen varierar stort mellan fälten.



Figur 5. Graden av angrepp av torrfläcksjuka med olika behandlingar på två försöksplatser 2016 uttryckt som arean under sjukdomsutvecklingskurvan (rAUDPC). Olika bokstäver betyder signifikant skillnad mellan behandlingarna (Tukey test).

I försöken 2016 kom angreppen av torrfläcksjuka först i början av september men förloppet därefter var mycket snabbt. Den sena starten på angreppen gjorde att skördeökningarna efter bekämpning inte var lika stora som 2014, som bäst ca 7% i Nymö där angreppen var kraftigast. Som framgår av tabellen var det bara en behandling som hade statistiskt signifikant högre skörd.

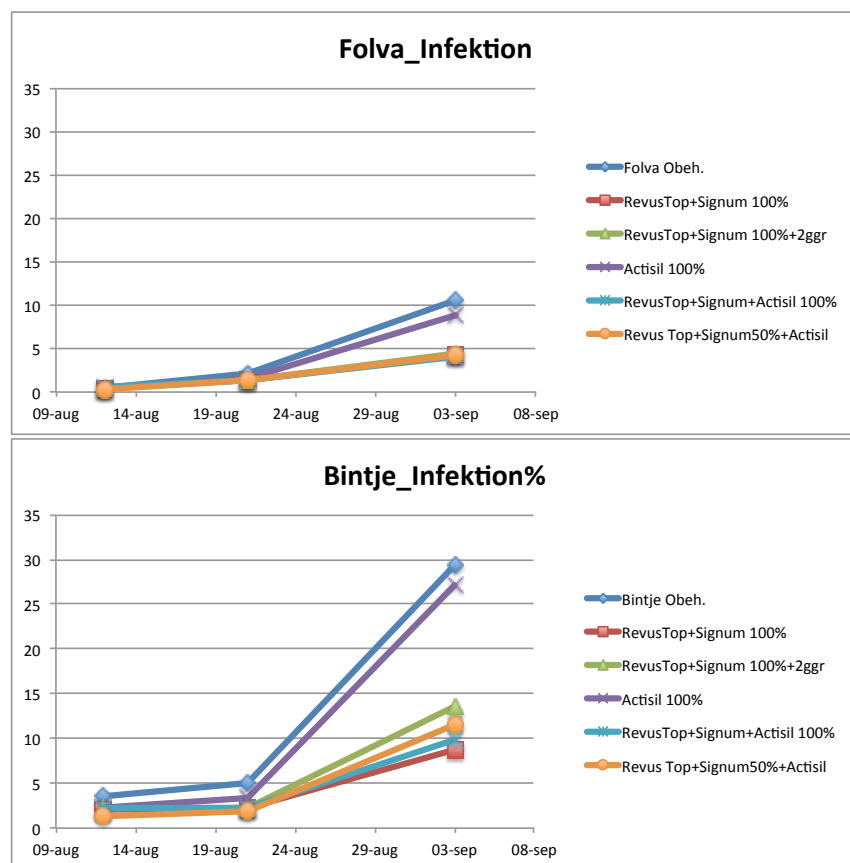
Tabell 3. Knölskörd och stärkelseskörd på två försöksplatser 2016. Olika bokstäver betyder signifikant skillnad mellan behandlingar (Tukey test).

<b>Hellegården</b>		
<b>Behandling</b>	<b>Knölskörd (ton/ha)</b>	<b>Stärkelseskörd (ton/ha)</b>
Obehandlad	49,3 a	12,1 a
RevusTop (T1,T2) + Signum (T3,T5,T7,T9) ”fungicid normal”	50,3 a	12,4 a
Revus Top (T3,T7,T10) + Signum (T5,T9)	51,4 a	12,8 a
Actisil (T3,T4,T5,T6,T7,T8,T9)	50,9 a	12,6 a
RevusTop (T1,T2) + Signum (halv dos) (T3,T5,T7,T9)	49,6 a	12,3 a
RevusTop (T1,T2) + Signum (halv dos) (T3,T5,T7,T9) + Actisil	50,0 a	12,4 a

<b>Nymö</b>		
<b>Behandling</b>	<b>Knölskörd (ton/ha)</b>	<b>Stärkelseskörd (ton/ha)</b>
Obehandlad	80,2 ab	17,4 b
RevusTop (T1,T2) + Signum (T3,T5,T7,T9) ”fungicid normal”	81,3 ab	18,0 ab
Revus Top (T3,T7,T10) + Signum (T5,T9)	84,1 a	18,7 a
Actisil (T3,T4,T5,T6,T7,T8,T9)	78,8 b	17,4 b
RevusTop (T1,T2) + Signum (halv dos) (T3,T5,T7,T9)	81,3 ab	17,9 ab
RevusTop (T1,T2) + Signum (halv dos) (T3,T5,T7,T9) + Actisil	82,8 ab	17,9 ab

*Matpotatis*. 2015 utförde vi fullskaliga fältförsök med matpotatis, sorterna Bintje och Folva, där Folva i tidigare småskaliga försök visat sig ha en högre grad av resistens. Försöken utfördes av HS Skåne på två platser, Nymö och Hellegården utanför Kristianstad. Som framgår av figur 6 startade angreppen i slutet av augusti och Bintje fick betydligt mer angrepp än Folva. I Bintje behandlad med fungicider var angreppen lika stora som i obehandlad Folva vilket visar på vikten av sortresistens.



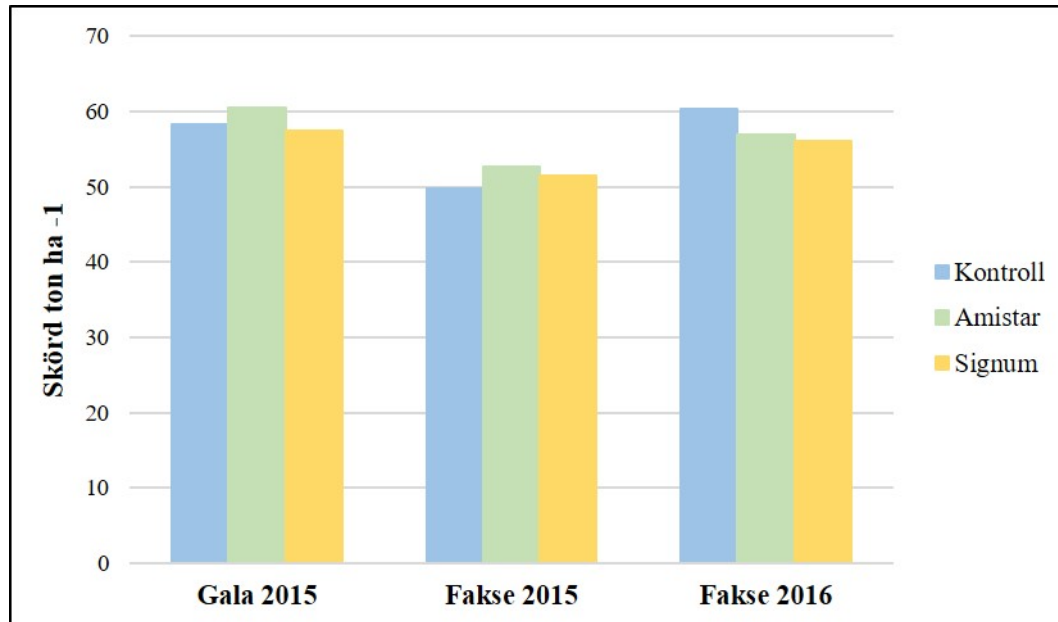
Figur 6. Utvecklingskurvor av torrfläcksjuka (*Alternaria solani*) i fältförsök 2015 efter olika behandlingar i två matpotatissorter. Medelvärden från försök i Nymö och på Hellegården.

De relativt sena angreppen gjorde att det inte blev några skördeökningar som resultat av fungicidbehandlingarna (Tabell 2). Folva hade signifikant högre skörd än Bintje men det var inga signifikanta skillnader mellan behandlingarna, dvs kemisk behandling ledde inte till skördeökning.

Tabell 2. Knölskörd från fältförsöket 2015 med matpotatis. Medelvärden från två försöksplatser (Nymö och Hellegården).

Behandling	Knölskörd (ton/ha)	
	Bintje	Folva
Obehandlad kontroll	68,7	79,7
Revus Top (T1, T2); Signum (T3, T5, T7, T9)	67,4	78,7
Revus Top (T1, T2); Signum (T3, T5, T7, T8, T9, T10)	67,1	79,2
Actisil (kisel) (T3, T5, T7, T9)	66,4	79,7
Revus Top (T1, T2); Signum (T3, T5, T7, T9); Actisil ((T3, T5, T7, T9)	67,6	81,5
Revus Top (T1, T2); Signum halv dos (T3, T5, T7, T9); Actisil (T3, T5, T7, T9)	69,5	79,6

Vi har även utfört fältförsök i Mellansverige (Vedum, Västergötland) både 2015 och 2016. Försöken genomfördes av HS Västergötland. Obehandlad kontroll jämfördes med två behandlingar med Amistar och fyra behandlingar med Signum enligt rekommendation. Båda åren förekom endast obetydliga angrepp av torrfläcksjuka (< 1% i början av september). Behandlingar med Amistar eller Signum gav ingen effekt på skörden (Figur 7).



Figur 7. Skörd från fältförsök i Mellansverige 2015 och 2016. Kemisk behandling mot torrfläcksjuka hade ingen effekt på skörden.

### Skrifter inom projektet och förmedling av resultat

Odilbekov F, Edin E, Garkava-Gustavsson L, Persson-Hovmalm H, Liljeroth E (2016)

Genetic diversity and occurrence of the F129L substitutions among isolates of *Alternaria solani* in south-eastern Sweden. *Hereditas* (2016) 153:10. DOI 10.1186/s41065-016-0014-0. (vetenskaplig artikel)

Liljeroth E (2016) Resistens mot torrfläcksjuka (*Alternaria solani*) i potatis. Finns det skillnader mellan sorter av betydelse för odlingen? LTV-fakultetens faktablad 2016:3

Liljeroth, E. (2016). Effekt av azoxystrobin mot torrfläcksjuka. Rapport till Partnerskap Alnarp. <http://pa.lj.slu.se/janlars/partnerskapalnarp/uploads/projekt/816.pdf>.

Vi planerar under innevarande år att skriva färdigt ytterligare minst två vetenskapliga artiklar med följande preliminära titlar:

Edin et al.: ”Early blight in Sweden – changes in mitochondrial genotype and occurrence of F129L during eight years of sampling”

Liljeroth et al.: ”Strategies for control of early blight in potato”

Vi planerar även faktablad om bekämpningsstrategier.

Resultaten har kontinuerligt kommunicerats med potatisrådgivare på jordbruksverkets växtskyddscentraler, på ett flertal möten med potatisodlare och på många fältvisningar, bl.a. på FK-dagen i Kristianstad varje år. Vi har även deltagit i Syngentas Potato Academy, en årlig workshop för inbjudna intressenter, forskare och rådgivare. Under kommande vintersäsong kommer vi att anordna diskussionsdagar för mellansvenska matpotatisodlare tillsammans med rådgivare och personal från Jordbruksverkets växtskyddscentraler. Detta finansieras av SLUs satsning Plattform Växtskydd.



### Några slutsatser

- F129L är vanligt förekommande hos *A. solani* i södra och mellersta Sverige och i vissa områden dominerar den populationerna.
- När F129L dominerar i populationerna försämras effekten av azoxystrobin drastiskt.
- Angreppen av torrfläcksjuka i matpotatis, som skördas i månadsskiftet augusti/september är vanligen endast små och dessa påverkar inte skörden. Kemisk bekämpning är därför mycket tveksam. Att avstå minskar risken för utveckling av fungicidresistens.
- I stärkelsepotatis kan skördeförlusterna orsakade av torrfläcksjuka vara betydande och det finns ett klart behov av kemisk bekämpning.
- Reducerade doser ger sämre bekämpningseffekt i stärkelsepotatis.
- Reducerade doser i kombination med växtstärkande medel kan ge lika god effekt som normalt rekommenderade doser och bör undersökas vidare.
- Det finns behov av att optimera bekämpningsstrategierna med avseende på tidpunkt för bekämpning och alternering av preparat för maximal effekt och minimerad risk för utveckling av fungicidresistens.

### Övriga 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.
- Kapsa, J.S. (2008). Important threats in potato production and pathogen/pest management. *Potato Research* 87, 385-401.
- Leiminger, J. H., Adolf, B., & Hausladen, H. (2014). Occurrence of the F129L mutation in *Alternaria solani* populations in Germany in response to QoI application, and its effect on sensitivity. *Plant Pathology* 63, 640-650.
- Pasche, J. S., Piche, L. M., & Gudmestad, N. C. (2005). Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration. *Plant Disease* 89, 269-278.
- Rosenzweig, N., Atallah, Z. K., Olaya, G., & Stevenson, W. R. (2008). Evaluation of QoI fungicide application strategies for managing fungicide resistance and potato early blight epidemics in Wisconsin. *Plant Disease* 92, 561-568.