

Måske fremtidens varsling for bladsvampe

Af

- Thies Marten Wieczorek

- Annemarie Fejer Justesen

- Lise Nistrup Jørgensen

alle fra Århus Universitet, Forskningscenter Flakkebjerg, Institut for Agroøkologi – Afgrødesundhed, 4200 Slagelse

- Anne Lisbet Hansen

fra NBR Nordic Beet Research, 4960

Holeby

- Lisa Munk

fra Københavns Universitet, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Afgrødevidenskab, 1871 Frederiksberg C

Bladsvampe i sukkerroer kan medføre væsentlige udbyttetab, hvis ikke de bekæmpes. I dag anbefales bekæmpelse iværksat, når de første symptomer ses, og senest når 5 procent af planterne er angrebet. Nye resultater giver indikationer på, at sukkerudbyttet måske yderligere kan øges, hvis fungicidernes præventive virkning udnyttes bedre end i dag. Men rettidig behandling endnu før synlige symptomer vil kræve nye monitoringsmetoder for at kunne angive, hvornår behandlingerne så bør påbegyndes. I det følgende redegøres for et projekt, som kan lede til nye monitoringsmetoder af bladsvampe i fremtiden.

Bladsvampe og deres bekæmpelse

I Danmark er de vigtigste svampesygdomme i sukkerroer bederust (*Uromyces betae*), meldug (*Erysiphe beticola*) og Ramularia-bladplet (*Ramularia beticola*).

I varme år kan der desuden observeres angreb af Cercospora-bladplet (*Cercospora*).

spora beticola). For at opnå den mest effektive behandling bør bladsvampe behandles ved første tegn på symptomer, og senest når fem procent planter er angrebet. Hvorvidt det er muligt at opnå en bedre bekæmpelse og også en bedre økonomi ved tidligere behandlinger har været til diskussion, og har været baggrunden for dette projekt.

For at monitorere, hvornår bladsvampeangreb begynder og finde det rettidige tids-

punkt for bekæmpelse, er der i 2012 for sjette år i træk udført bladsvampevarsling i sukkerroer¹. Bladsvampevarsling er et fællesprojekt mellem NBR Nordic Beet Research, DLS og Agricenter Nordic Sugar A/S. Hvert år fra begyndelsen af juli til slutningen af september følges udviklingen af bladsvampe i et repræsentativt panel af sukkerroesorter i hele dyrkningsområdet. Bedømmelser indrapporteres til Videncentret for Landbrugs registreringsnet, og hver uge udsendes

Sporefælde

Sporefælden suger en konstant luftmængde pr. tidsenhed (10 liter/min), som passerer forbi et stykke tape, der sidder på en tromle, der drejer langsomt rundt. På tapen fæstnes svampesporer, pollen, støv og andre små partikler. Sådanne prøver er hidtil blevet undersøgt vha. mikroskopi, men det er meget tidskrævende og kræver et trænet øje for at genkende specifikke svampesporer. I de seneste år har det dog været muligt, at screene for specifikke svampearter vha. molekylære metoder. Der findes forskellige typer sporefælder, og anvendelserne er mangfoldige f.eks. til partikelmålinger i lufthavne, på hospitaler m.m.



Foto 1. Burkard sporefælde opstillet i forsøgsmark. Luft suges ind på et stykke tape, hvorpå luftens partikler fæstnes.

information om den nuværende svampesituation per mail og SMS. Varslings-systemer for bladsvampe i sukkerroer findes også i andre lande f.eks. Tyskland og Frankrig². Her tolererer man indtil videre lidt højere angreb af svampe før sprøjtning anbefales, men man anvender højere doseringer af fungicider.

Opnået merudbytte ved fungicidssprøjtning skyldes primært, at bladmassen holdes frisk og funktionsdygtig i længst mulig tid, således at mest muligt sukker kan produceres og akkumuleres i roden. Effekten af fungicider kan både være kurativ og præventiv - dvs. fungicidbehandlinger kan virke inden de første visuelle symptomer fremkommer, idet angrebet stoppes under den tidlige udvikling i planten. Fordelen ved tidlige sprøjtninger er, at de ofte giver højere niveau af bekæmpelse og bedre langtidsvirkning. Ulempen ved tidlige behandlinger kan være, at der behandles før, der er reelt behov for det. Dette vil således kunne ende med, at der sprøjtes for mange gange og uden, at det er økonomisk rentabelt.

Nye markforsøg skal give nyt input

I 2011 har NBR Nordic Beet Research opstartet en ny forsøgsserie, som har til formål at teste om tidlig behandling mod svampe, dvs. inden de første bladpletter ses, påvirker roernes vækst og resulterer i et stigende merudbytte. I to markforsøg er svampebehandling blevet foretaget, før de første visuelle symptomer er set. Efterfølgende er der fulgt op med yderligere to behandlinger. Resultaterne har vist, at der er en tendens til en mere effektiv bekæmpelse af bladsvampe, og også et forøget merudbytte på 1-2 pct³.

Forsøgsserien blev fortsat i 2012 med en tilpasset forsøgsplan for yderligere at undersøge effekten af tidlige behandlinger på bladsvampe og merudbytte. Forsøgene i 2012 har været en del af et

agronomspeciale, som er udført i samarbejde mellem Københavns Universitet (KU Sciences), Aarhus Universitet (AU) og NBR Nordic Beet Research.

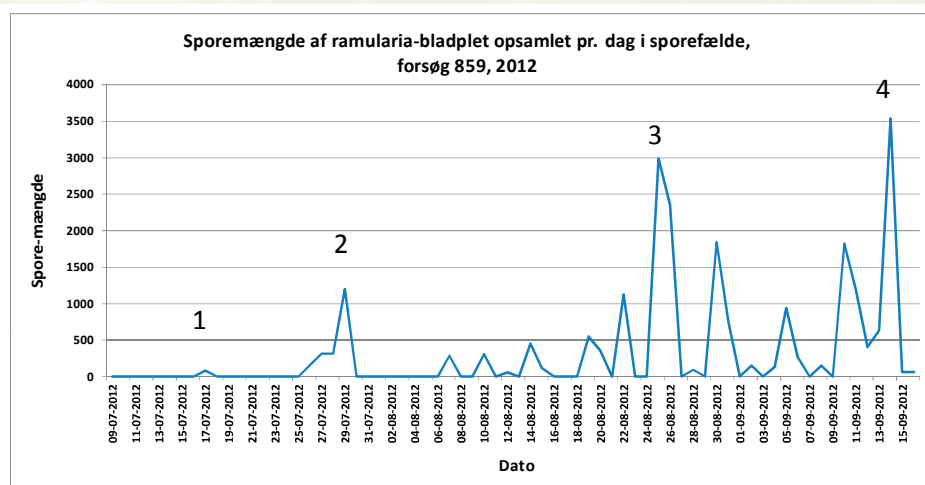
Et hovedformål med specialet har, udover markforsøgene, været at udvikle en monitoringsmetode til detektion af forekomst af *Ramularia beticola* sporer. *Ramularia*-bladplet er valgt, idet den er en af de mest tabsvoldende sygdomme i sukkerroer samt, at der i et tidligere projekt er opnået erfaring med at håndtere svampen i laboratoriet⁴. Detektion af sporer er i projektet baseret på den molekylære metode QPCR (*se info boks*) anvendt i forbindelse med en sporefælde (Burkard) til at detektere og kvantificere mængden af svampesporer i luften (*foto 1*). Erfaringer med lignende molekylære metoder anvendt på andre sygdomme som *Ramularia*-bladplet i byg (*Ramularia collo-cygni*) og storknoldet knoldbægersvamp i raps (*Sclerotinia sclerotiorum*) har givet inspiration til at prøve QPCR på *Ramularia*-bladplet-svampen i sukkerroer⁵⁻⁷.

Det er lykkedes i projektet at udvikle QPCR metoden til detektion af *Ramularia*-bladplet sporer, og også at få metoden



Foto 2. *Ramularia*-bladplet på sukkerroe med typiske mere eller mindre uregelmæssige runde bladpletter, gråbrun til hvidbrun midte, som ofte er omgivet af en brunlig rand. I lup ses hvide sporeansamlinger i midten af pletterne.

til at virke på sporer indsamlet på tape via sporefælden under markforhold. Prøverne er blevet analyseret på AU's Forskningscenter Flakkebjerg. Den nye metode er efterfølgende testet i praksis. Forsøgsperioden er startet i begyndel-



Figur 1. Daglig mængde *Ramulariasporer* opsamlet i sporefælde fra 9. juli til 15. juli, 2012. Første forekomst af sporer ses 17. juli (top 1) og første angreb ses 30. juli, hvilket stemmer overens med 2 ugers latenstid for sygdommen. Selvom der er stor variation i forekomsten af sporer kan det ses, at sporemængden er stigende med tiden, som følge af stigende opformering og sporulering på bladene samt, at der ses tre signifikant høje udslag (top 2, 3 og 4).

sen af juli før de første svampeangreb forventedes, med det formål at fange de første sporer i luften, som havde potentiale til at udvikle sig til de første angreb. Perioden er afsluttet midt i september.

Det lykkedes i projektet at identificere ramularia-sporer i luften allerede 14 til 16 dage inden synlige symptomer af sygdommen forekom på bladene (figur 1). Det svarer til en latenstid på ca. to uger, dvs. den tid, der går fra sporerne lander på bladet til de første symptomer viser sig, hvilket er i overensstemmelse med tidligere observationer. I løbet af vækstsæsonen har koncentrationen af sporer varieret meget, også afhængigt af vejrforholdene. Overordnet set er der i begge forsøg målt tre toppe af sporeforekomst, og det ses, at sporekoncentrationen i luften er øget med tiden (figur 1).

Udbytteresultaterne fra forsøgene i 2012 har vist samme tendens som forsøgene i 2011. Selvom forskellene mellem behandlingerne ikke var signifikante, var der 1-2 procent merudbytte at hente ved at behandle bladsvampe inden synlige symptomer fremkommer (se *Faglig beretning 2012*). Bladsvampeangrebene har været forholdsvis lave både i 2011 og 2012, og måske er det årsagen til, at der ikke er opnået signifikante merudbytter, men kun tendenser. For at indsamle yderligere information om virkning af tidlige svampebehandlinger fortsættes forsøgsserien i 2013.

Nye metoder i kampen mod bladsvampe

Med dette pionerarbejde i sukkerroer kan det tænkes, at vi kan udvikle en effektiv

metode til at fastsætte, hvornår svampebehandling skal foretages i forhold til hvornår svampesporerne indfinder sig i marken og hvornår der er høj risiko for infektion. Projektet, der her er omtalt, har fokuseret primært på detektion af sporer og bekæmpelse af ramularia-bladplet. På lignende måde kan der udvikles detektionsmetoder baseret på QPCR for de andre svampe, der angriber roerne hvert år. I Belgien i 2012 er der tilsvarende publiceret en protokol til detektion af bladsvampen *Cercospora beticola*⁸. Med yderligere indsats er det muligt, at få QPCR på banen for alle fire bladsvampe i sukkerroer. Et scenario i en nær fremtid kunne være, at der opstilles et antal sporefælder rundt i dyrkningsområdet for sukkerroer. Prøverne fra sporefælderne bliver undersøgt jævnlige for mængden og typen af sporer i luften. Prøveresultaterne skal efterfølgende sammenholdes med klimaforhold, og på den baggrund kan der udarbejdes en varslings for angreb, som kan formidles til dyrkere og rådgivere.

For at udvikle en risikovarsling baseret på sporefangst, skal der i første omgang fastsættes bekæmpelsestærskler for, hvornår sporemængden i luft reelt kan føre til en infektion, og desuden skal det yderligere belyses hvilke behandlinger, der fører til merudbytte. I denne varslings skal der tages hensyn til klimaforhold, især luftfugtighed og temperatur har betydning. Længere ud i fremtiden kan der måske udvikles en simpel håndterbar test, der kan tages med ud i marken, og som på stedet kan give oplysninger om smittetryk for de relevante sygdomme. ■

QPCR

QPCR (engelsk for kvantitativ polymerasekædereaktion) er en metode til mangfoldiggørelse og samtidig kvantificering af DNA-molekyler fra en specifik organisme. Metoden kan designes til at være specifik for en enkelt svampeart i dette tilfælde *Ramularia beticola*. QPCR anvendes til mange diagnostiske formål bl.a. sygdomme hos mennesker.

Kilder

1. Hansen, A. L. & Wiczorek, T. M. Varsling mod bladsvampe. *NBR Nordic Beet Research Faglig beretning - Verksamhetsberättelse 2012* 41–44 (2013).
2. Wolf, P. F. J. & Verreet, J. A. An Integrated Pest Management System in Germany The IPM Sugar Beet Model. *Plant Disease* **86**, 334–344 (2002).
3. Hansen, A. L. Tidlig bladsvampebekæmpelse. *NBR Nordic Beet Research Faglig beretning - Verksamhetsberättelse 2011* 57–62 (2012).
4. Thach, T. MSc Thesis - Disease variation and chemical control of Ramularia leaf spot in sugar beet. University of Copenhagen (2010).
5. Rogers, S. L., Atkins, S. D. & West, J. S. Detection and quantification of airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* using quantitative PCR. *Plant Pathology* **58**, 324–331 (2009).
6. Makepeace, J. C., Havis, N. D., Burke, J. I., Oxley, S. J. P. & Brown, J. K. M. A method of inoculating barley seedlings with *Ramularia collo-cygni*. *Plant Pathology* **57**, 991–999 (2008).
7. West, J. S., Atkins, S. D., Emberlin, J. & Fitt, B. D. L. PCR to predict risk of airborne disease. *Trends in Microbiology* **16**, 380–387 (2008).
8. De Coninck, B. M. A., Amand, O., Delauré S. L., Lucas, S., Hias N., Weyens, G., Mathys, J., De Bruyne, E. & Cammue, B. P. A. The use of digital image analysis and real-time PCR fine-tunes bioassays for quantification of *Cercospora* leaf spot disease in sugar beet breeding. *Plant Pathology* **61**, 76–84 (2012).