



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för skoglig
mykologi och växtpatologi

En laboratoriestudie av fungicidtolerans hos *Phytophthora infestans*

Rahimeh Yaghoubi



Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Kandidatarbete 15 hp

Agronom mark/växt

Uppsala 2020

En laboratoriestudie av fungicidtolerans hos *Phytophthora infestans*

Författares namn: Rahimeh Yaghoubi
Handledare: Björn Andersson, Sverige lantbruksuniversitet,
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi
Examinator: Hanna Friberg, Sverige lantbruksuniversitet,
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grundnivå,

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi – kandidatarbete, 15 hp

Kurskod: EX0689

Program/utbildning: Agronom mark/växt

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: potatisbladmögel, *Phytophthora infestans*, fungicidtolerans, Ranman Top,

Key word: potato late blight, *Phytophthora infestans*, fungicide tolerance, Ranman Top

Abstract

One of the most serious pathogens that attack potato is *Phytophthora infestans*, which causes late blight. Different fungicides are used to prevent and reduce infection and spread of *P. infestans*. Intensive use of fungicides poses a risk of fungicide resistance development. An earlier study has shown that isolates of *P. infestans* exposed to high concentration of fungicide (mefenoxam) lost their sensitivity to this fungicide. The purpose of the work presented here was to investigate whether individual isolates (individuals) of *P. infestans* can be "trained" to develop tolerance to a fungicide, in this case cyazofamid. The study was conducted as a laboratory experiment in which isolates from field plot treated with different fungicide spraying programs were trained by growing them on agar with a low concentration of fungicide. After this, the fungicide sensitivity of the individual isolates was determined by measuring their growth rate on agar plates containing varying doses of fungicide. The results of fungicide treatments in this study showed that the field treatments and training of isolates (first treatment) did not affect the average growth of the isolates. However, some individual isolates did show a change in their sensitivity to the fungicide due to the training. This can have an effect on the possibility to control potato late blight in the field.

Sammanfattning

En av de allvarligaste patogenerna som angriper potatis är *Phytophthora infestans*, som orsakar potatisbladmögel (angrepp på bladen) och brunröta (angrepp på knölna). Olika fungicider används för att förhindra och minska angrepp av *P. infestans*. En intensiv användning av fungicider ger risk för uppkomst av fungicidresistens. I tidigare studie visade isolat av *P. infestans* som utsattes för höga koncentrationer av mefenoxam, tappade sin känslighet för denna fungicid. Syftet med arbetet som presenteras här var att undersöka om enstaka isolat (individer) av *P. infestans* kan "tränas" till att utveckla tolerans mot en fungicid, i detta fall cyazofamid. Undersökningen genomfördes som laboratorieförsök där isolat från led med olika fungicidbehandling i fält tränades genom odling på agar innehållande en låg koncentration av fungiciden. Därefter bestämdes de individuella isolatens fungicidkänslighet genom att bestämning av deras tillväxt vid odling på agarplattor som innehöll olika doser fungicid. Resultaten från fungicidbehandlingar i denna studie visade att fältbehandling och träning inte påverkade isolatens genomsnittliga tillväxt. Vissa enstaka isolat visade dock en effekt av träningen genom en förändring i fungicidkänslighet, något som skulle kunna påverka möjligheterna att bekämpa potatisbladmögel i fält.

Innehåll

Abstract	3
Sammanfattning.....	3
Inledning.....	5
Syfte och hypotes.....	6
Bakgrund	7
Historia.....	7
Livscykel.....	7
Kemisk bekämpning av <i>Phytophthora infestans</i>	8
Material och metoder.....	10
De använda isolatens bakgrund	10
Genomförande.....	10
Statistisk behandling	11
Resultat.....	12
Första behandling, träning för ökad fungicidtolerans.....	12
Andra behandling, bestämning av fungicidtolerans.....	15
Diskussion	18
Referenser	19

Inledning

Under 2015 odlades 23 100 ha potatis i Sverige (Statens jordbruksverk, 2017). En av de vanligaste patogenerna som angriper potatis är *Phytophthora infestans* som tillhör klassen oomyceter. *Phytophthora infestans* orsakar potatisbladmögel (angrepp på bladen) och brunröta (angrepp på knölnarna), och kan angripa alla delar av potatisplantan. Vid allvarigare angrepp kan hela potatisfält förstöras och medföra stora ekonomiska förluster. Vädret är en viktig faktor för hur allvarligt angreppet blir. Sjukdomsutvecklingen gynnas av svalt och fuktigt väder.

De viktigaste förebyggande åtgärderna för att undvika angrepp av potatisbladmögel är:

- Friskt utsäde
- En bra växtföljd, 4 till 5 år mellan potatisgrödorna
- Odling av bladmögelresistent sorter
- Väldränerade fält

Förutom dessa åtgärder används årligen stora mängder av fungicider för att bekämpa potatisbladmögel (Jordbruksverket, 2019). Det används olika preparat för att förhindra och minska angrepp av *P. infestans*. Ett av preparaten på marknaden är Ranman Top® med den verksamma beståndsdelan cyazofamid (160g/l).

En intensiv användning av fungicider ger risk för uppkomst av fungicidresistens. Jordbruksverket tar årligen fram en skala över risken för resistensbildning hos olika preparat. 2017 sattes resistensrisken för cyazofamid, en av de aktiva substanserna i Ranman Top®, till 2–3, där 3 indikerar en hög risk (Jordbruksverket 2019).

Flera åtgärder rekommenderas för att fördröja uppkomst av fungicidresistens. Generellt är rekommendationen att minska selektionstrycket i populationen genom att inte bespruta oftare än nödvändigt, och att inte använda högre doser än som behövs (Edin 2011, Jordbruksverket 2019). En studie av effekter av reducerande fungiciddoser vid bekämpning av potatisbladmögel visade ingen påverkan på aggressiviteten hos *P. infestans* vid behandling med halverade fungiciddoser jämfört med fulla rekommenderade fungiciddoser (Jönsson och Olsson, 2017).

Syfte och hypotes

Syftet med detta arbete är att undersöka om enstaka isolat (individer) av *P. infestans* kan tränas till att utveckla tolerans mot en fungicid genom att låta isolaten växa på ett medium med inblandning av en låg koncentration fungicid, i detta fall Ranman Top®, aktiv substans, cyazofamid (160g/l). De isolat som användes i arbetet samlades in i parceller som behandlats med full och respektive halv rekommenderad dos, samt i obehandlade parceller i ett fältförsök som genomfördes i Kristianstad 2015.

Under 2014 publicerades en studie om isolat av känslighet för mefenoxam hos *P. infestans*. Mefenoxam är en fungicid som används mot bladmögel i potatis, och som *P. infestans* har utvecklat resistens mot. I studien odlades isolat som var känsliga för mefenoxam under lång tid på artificiellt medium med 0,5 och respektive 100 µg mefenoxam per ml odlingsmedium. Det visade sig då att de isolat som utsattes för en hög koncentration av mefenoxam tappade sin känslighet mot denna fungicid (Childers et al, 2014).

I ett tidigare examensarbete vid SLU av Jönsson & Olsson (2015) med isolat från fältförsöket i Kristianstad observerades att populationer av *P. infestans* från fungicidbehandlade parceller hade en högre fungicidtolerans jämfört med isolatpopulationer från obehandlade led. Genotypiska analyser visade dock inte någon effekt på populationsstrukturen hos patogenen av de olika fungicidbehandlingarna. Detta tyder på att den ökade fungicidtoleransen orsakades av någonting annat än enbart selektion av specifika genotyper. I det här presenterade arbetet ville vi undersöka om förklaringen till detta skulle kunna vara en förändring i fungicidtolerans hos enskilda individer av patogenen.

Hypotesen var att individuella isolat av *P. infestans* som "tränas" genom att odlas på agar med inblandning av cyazofamid får en minskad känslighet för denna fungicid.

Bakgrund

Historia

Phytophthora infestans har sitt ursprung i Mexiko och spreds till Europa under mitten av 1800-talet. Patogenen orsakade svår svält (The Great Potato Famine) på Irland år 1845–1849 vilket ledde till att 1,5 miljoner människor miste livet på grund av hunger och följsjukdomar, och lika många emigrerade till USA. Därefter spreds sjukdomen vidare till resten av världen. Fram till 1980 var bara en parningstyp av *P. infestans* (A1) spridd globalt. År 1976–1977 importeras potatis från Mexiko till Europa som innehöll knölar smittade av den andra parningstypen av *P. infestans* (A2). Spridningen av nya populationer av *P. infestans* innehållande båda parningstyperna gav patogenen möjlighet till sexuell förökning (Jönsson & Olsson, 2015).

Livscykel

Phytophthora infestans tillhör klassen oomyceter som räknas till heterokonterna. Oomyceter växer på ett svampliknande sätt med mycel, men till skillnad från svampar har oomyceter en cellvägg som består av cellulosa medan svampars cellvägg är uppbyggd av kitin (Jönsson & Olsson, 2015). Oomyceter kan vara biotrofa, hemibiotrofa eller nekrotrofa. Biotrofa organismer kräver tillgång till en levande värd, medan nekrotrofa organismer först dödar delar av sin värd för att kunna ta upp näring från döda celler. Hemibiotrofa organismer byter under sin etablering på värdplantan från att vara biotrofa, till att senare fungera som en nekrotrof. Släktet *Phytophthora* innehåller arter som är hemibiotrofer eller nekrotrofer. *Phytophthora infestans* är hemibiotrof (Fugestad, 2011).

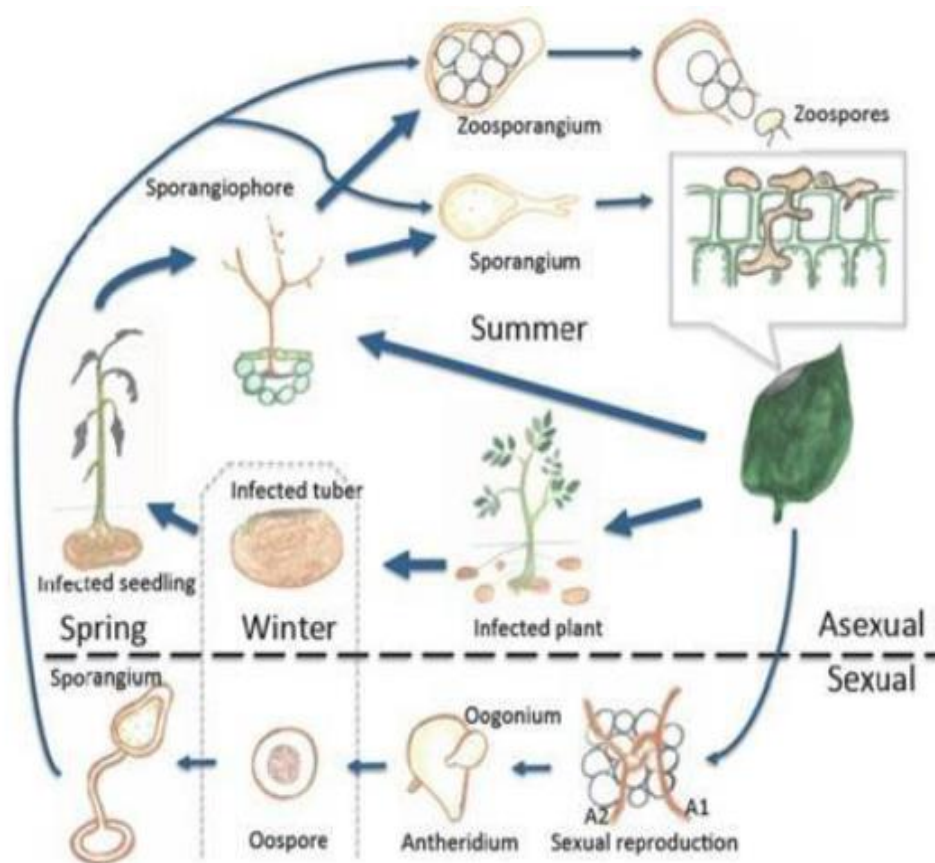
Phytophthora infestans kan föröka sig både sexuellt och asexuellt. Vid asexuell förökning produceras zoosporangier. Dessa är vindburna och sprids snabbt över kortare avstånd. Ur sporangierna kan zoosporer kläckas. Zoosporena har flageller som ger dem möjlighet att simma fritt i vatten. Zoosporerna är kemotaxiska vilket betyder att de attraheras till kemiska signaler av värdväxter. Vid sexuell förökning bildas oosporer. De har tjocka cellväggar som ger dem möjlighet att överleva under ogynnsamma förhållanden, till exempel i jord (Jönsson & Olsson, 2015).

Phytophthora infestans har en livscykel som under våren börjar genom att överlevande mycel i potatisknölar växer systemiskt in i de nya potatisplantorna. Om patogenen förökats sexuellt, kan oosporer i jorden fungera som smittkälla på våren. Efter infektion och kolonisering utvecklar *P. infestans* reproduktionsstrukturer, zoosporangier, som sitter på sporangioforer. Ett zoosporangium innehåller 8–10 zoosporer. Sporangierna sprids med vinden till nya plantor, där de antingen gror direkt eller bildar zoosporer. Vid temperatur över 15 °C gror sporangierna direkt, under 10–15 °C sker infektionen främst genom bildandet av zoosporer som i sin tur infekterar plantan (Jönsson & Olsson, 2015).

Efter infektion kan hundratusentals nya sporangier produceras i en enda bladfläck. Detta leder till att *P. infestans* har en snabb spridning. Hög luftfuktighet är nödvändigt för infektion, och har därför stor inverkan på hur snabb utveckling angreppet får.

Studier i de nordiska länderna har visat på latenstider på 3–8 dagar (Lehtinen et al 2009). Nybildade potatisknölar kan infekteras av sporangier som sköljs ner i jorden vid regn eller annan form av bevattning. Knölinfektioner sker genom att zoosporer tränger in i knölar via lenticeller eller sårytor (Jönsson & Olsson, 2015).

Bildning av oosporer sker då båda parningstyperna, A1 och A2, infekterar samma växt del och kommer i kontakt med varandra. Detta initierar bildningen av antheridier och oogonier som sedan utvecklas till oosporer. Oosporer kan överleva minst 3–4 år i marken (Agrios, 1988) och har en optimal groningstemperatur vid omkring 10 °C (Strömberg et al, 2001; Jönsson & Olsson, 2015).



Figur 1. Livscykel för *Phytophthora infestans*, ritad av Alvar Grönberg.

Kemisk bekämpning av *Phytophthora infestans*

Fungicider har använts för bekämpning av *P. infestans* sedan 1880-talet då man upptäckte att en blandning av kopparsulfat och släckt kalk hade effekt mot bland annat bladmögel i potatis. Sedan dess har många olika fungicider med olika verkningsmekanismer tagits fram. För vissa av dessa fungicider har populationer av *P. infestans* utvecklat olika grader av tolerans eller resistens, det vill säga patogenen har tappat sin känslighet mot dessa verkningssubstanter. Uppkomsten av fungicidtolerans orsakas av mutationer hos enskilda individer av *P. infestans*. Individer med en minskad fungicidkänslighet får en stor konkurrensfördel vid användning av fungicider för sjukdomsbekämpning, och kan snabbt uppföras i populationen. Om andelen toleranta

individer blir tillräckligt stor medför detta en minskad bekämpningseffekt i fält (Edin 2011).

Det används många preparat för att bekämpa bladmögel i svensk potatisodling. Ranman Top® är en ofta använd fungicid som har visat god effekt mot angrepp av sjukdomen (tabell 1).

Ranman Top® innehåller den aktiva substansen cyazofamid, och används mot oomyceter och plasmodioforomyceter. Cyazofamid är effektiv i låga koncentrationer, och hindrar ATP-syntesen och stör transportfunktionen i cellens plasmamembran (Mitani et al, 2011). Cyazofamid inhiberar tillväxt av *P. infestans* i alla stadier av organismens livscykel, som till exempel frigörelse av sporangier, zoosporbildning, zoosporriklighet, cystosporgroning, oosporbildning och mycelltillväxt.

Cyazofamid är kontaktverkande och används i förebyggande syfte, det vill säga innan sporangier av *P. infestans* har hunnit gro och infekterat potatisplantan. Det är viktigt att få en god täckning av plantytan vid behandling (Edin & Olvång, 2011).

Jordbruksverket har uppskattat risken för uppkomst av fungicidresistens mot cyazofamid som hög vid användning av Ranman Top®. Rekommendationen är att behandla med Ranman Top® med 0,5 l/ha per dos, högst 3 behandlingar i följd och max 6 behandlingar per år. Det rekommenderade tidsintervallet mellan varje behandling är 5-7 dagar, och behandling kan ske när potatisgrödan är i utvecklingsstadier mellan DC 31 och 89 (Jordbruksverket, 2019).

Tabell 1. Effekt av Ranman Top mot *P. infestans*. Ju högre tal desto bättre effekt (Alden, o.a., 2019).

		Ranman Top 0,5 l/ha
Effekt	Bladangrepp (skala 2-5)	3,8
	Nyttillväxt (skala 1-3)	2
	Stjälkangrepp (skala 1-3)	1
Verkningsmekanism (skala 0-3)	Förebyggande	3
	Kurativ	0
	Antisporulerande	0

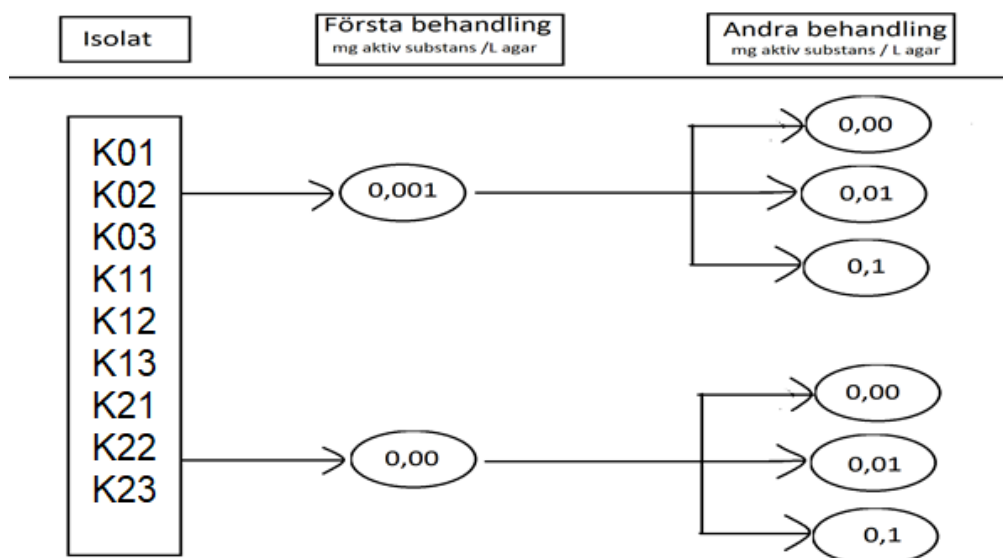
Material och metoder

De använda isolatens bakgrund

För denna studie användes isolat som hade samlats in 2015 i ett fältförsök där effekten av olika fungiciddoser undersöktes. Isolat betecknade med K0 samlades in i parceller som inte hade behandlats med någon fungicid. Isolat kallade K1, kom från parceller besprutade med 50 % av rekommenderad fungiciddos och i K2-isolaten togs i parceller som behandlats med full rekommenderad dos. De behandlade parcellerna besprutades med Revus Top (aktiva substanser mandipropamid och difenokonazol) fyra gånger, Infinito (aktiva substanser propamocarb och fluopicolide) tre gånger och Ranman Top (aktiv substans cyazofamid) fem gånger enligt ett schema där man växlade mellan de tre fungiciderna. Intervallen mellan besprutningar var ca en vecka. De insamlade isolaten förvarades i mörker vid 12 °C på agarmedium i två år innan de användes i denna studie.

Genomförande

Tre isolat valdes ut från varje behandling, och totalt nio isolat ingick i studien. Samtliga isolat odlades på petriskålar med odlingsmedium innehållande 0,001 mg cyazofamid/l agar, respektive 0 mg cyazofamid/l agar för att "träna" de enskilda isolaten att få en ökad fungicidtolerans (Första behandling). Efter cirka två veckor hade isolaten växt ut över hela petriskålen, och flyttades över på agar innehållande 0 mg, 0,01 mg respektive 0,1 mg cyazofamid/l agar (Andra behandling) för att bestämma deras känslighet för cyazofamid, se figur 2.



Figur 2. Schema över laboratorieförsök där isolat från led med olika fungicidbehandling i fält först odlades på agarplattor som innehöll 0 respektive 0,001mg cyazofamid/ l agar (Första behandling) och sedan på plattor innehållande 0 mg-, 0,01 mg- samt 0,1 mg cyazofamid/ l agar (Andra behandling).

Fungiciden ströks ut över agarplattorna med hjälp av glasstav, och fick därefter stå i en dag för att låta fungiciden diffundera in i odlingsmediet (Figur 3). All utrustning hölls så steril som möjligt under hela processen för att minimera risken för kontaminering. Det enda som inte var steriliserat var fungiciden som tillsattes i agarskålarna.



Figur 3. Utstrykning av fungicid på agarmedium på en roterande platta med hjälp av en glasstav.

Varje isolat testades i fem upprepningar för de olika fungicidkoncentrationerna. Petriskålarna med de olika isolaten och behandlingarna inkuberades i rumstemperatur under tre dagarna och ställdes sedan i mörker vid 12 °C. Efter 2 veckor mättes deras tillväxt.

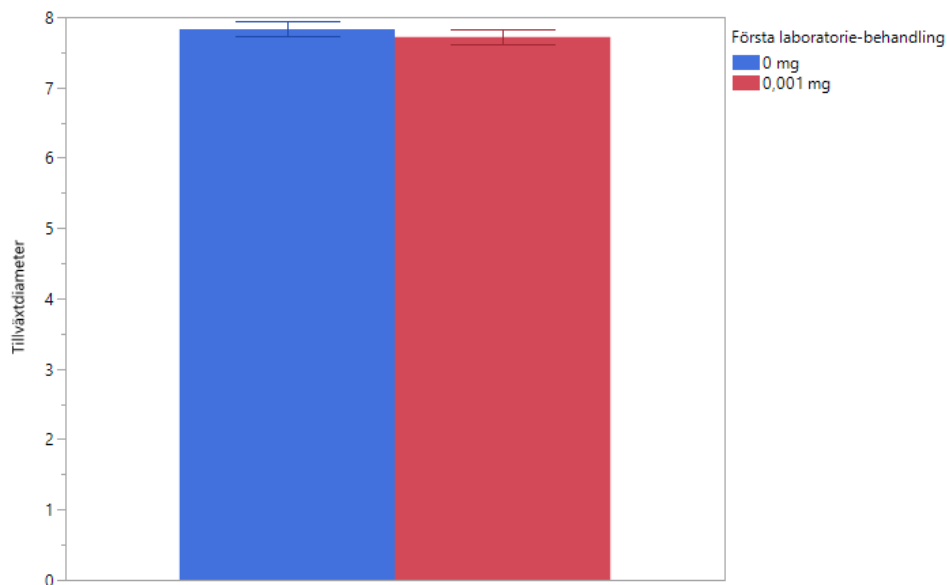
Statistisk behandling

Eftersom tillväxtmätningarna inte gav normalfördelade data analyserades alla resultat enligt en icke-parametrisk metod (Kruskal-Wallis, 1-Way Rank Sum Test, Chi² Approximation). Alla statistiska beräkningar gjordes med JMP®, version 14.3.0, SAS Institute Inc.

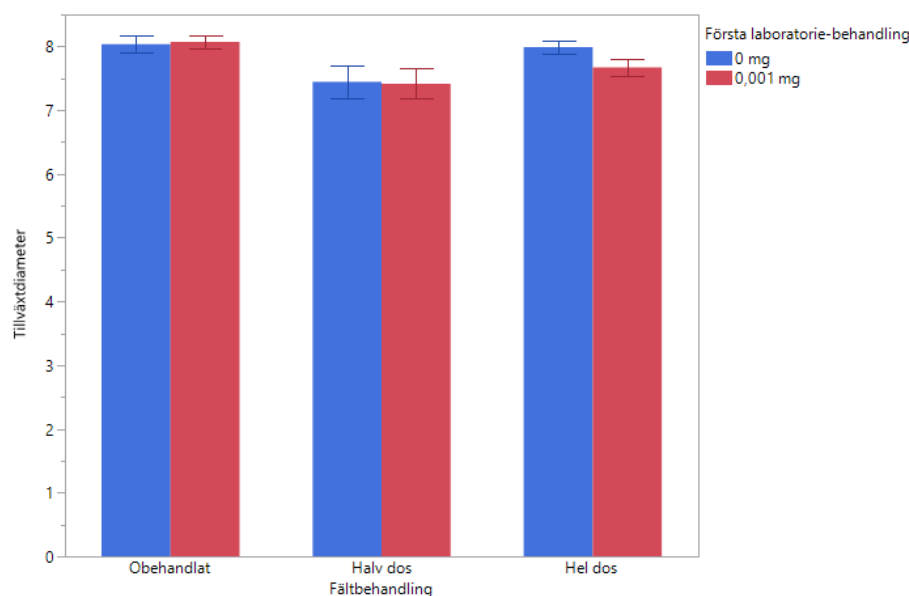
Resultat

Första behandling, träning för ökad fungicidtolerans

Den genomsnittliga tillväxten hos samtliga isolat vid odling på agar utan inblandning av fungicid respektive agar som innehöll 0,001 mg cyazofamid/ l medium var inte signifikant skild (figur 4). Inte heller när isolaten delades in i grupper baserade på fältbehandling (obehandlat, behandlat med halva rekommenderade fungiciddoser respektive behandlat med fulla rekommenderade fungiciddoser) kunde några signifikanta skillnader i tillväxt på ren respektive agar med fungicid-inblandning konstateras (figur 5).



Figur 4. Tillväxt av Phytophthora infestans-isolat på ren agar respektive på agar med 0,001 mg cyazofamid/l medium. Inga signifikanta skillnader mellan i tillväxt vid odling på agar utan cyazofamid respektive med inblandning av 0,001 mg cyazofamid/l medium. N=45. Felstaplarna visar medelfelet.



Figur 5. Tillväxt av isolat av *Phytophthora infestans* insamlade från obehandlade fältförsöksparceller och parceller behandlade halv respektive full rekommenderad fungiciddos vid odling på agarmedium. Inga signifikanta skillnader mellan i tillväxt vid odling på agar utan cyazofamid respektive med inblandning av 0,001 mg cyazofamid/l medium. N=15. Felstaplarna visarmedelfelet.

Jämförelse mellan enskilda isolat visade att endast isolat K02 och K13 hade en signifikant skillnad i tillväxt vid odling på agar utan fungicidinblandning. Vid odling på med fungicidinblandning (0,001 mg/l agar) visade att flera signifikanta tillväxtskillnader mellan isolaten, se tabell 2. Speciellt gällde det isolat K01, K11 respektive K22 som skilde sig i tillväxt från flera andra isolat.

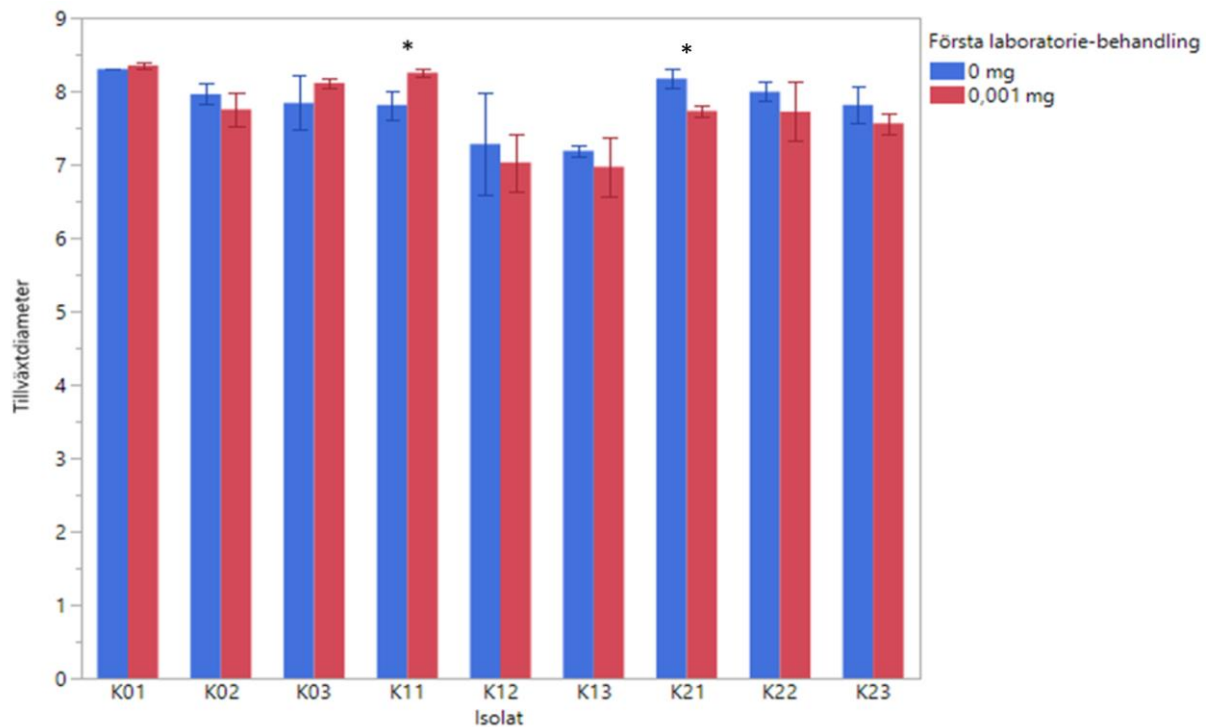
Tabell 2. P-värden från parvisa jämförelse av tillväxt hos isolat av *Phytophthora infestans* vid odling på agar med inblandning av 0,001 mg cyazofamid/l medium. Chi² test, nonparametric comparisons. Signifikant skilda isolatkombinationer är rödmarkerade i fet stil.

	K01	K02	K03	K11	K12	K13	K21	K22	K23
K01		0,2297	0,7526	0,289	0,457	0,1241	0,3357	0,3411	0,247
K02	0,0739		0,6006	0,7393	0,8026	0,0423	0,4789	1,000	0,7238
K03	0,0404	0,8356		0,705	0,6572	0,1811	0,6269	0,6286	0,6006
K11	0,2700	0,2423	0,2407		0,9003	0,1494	0,7227	0,7866	0,6030
K12	0,0081	0,0678	0,0678	0,0173		0,1316	0,6754	0,9501	0,7389
K13	0,0093	0,0678	0,085	0,0201	0,7554		0,4442	0,0256	0,0927
K21	0,0288	0,5198	0,2208	0,0408	0,2367	0,1100		0,8838	0,6619
K22	0,2936	0,2283	0,5331	0,5122	0,0008	0,0009	0,0378		0,9337
K23	0,0505	0,4424	0,2898	0,0991	0,1297	0,1709	0,9504	0,0200	

Övre matris: Första laboratorie-behandling = 0 mg

Undre matris: Första laboratorie-behandling = 0,001 mg

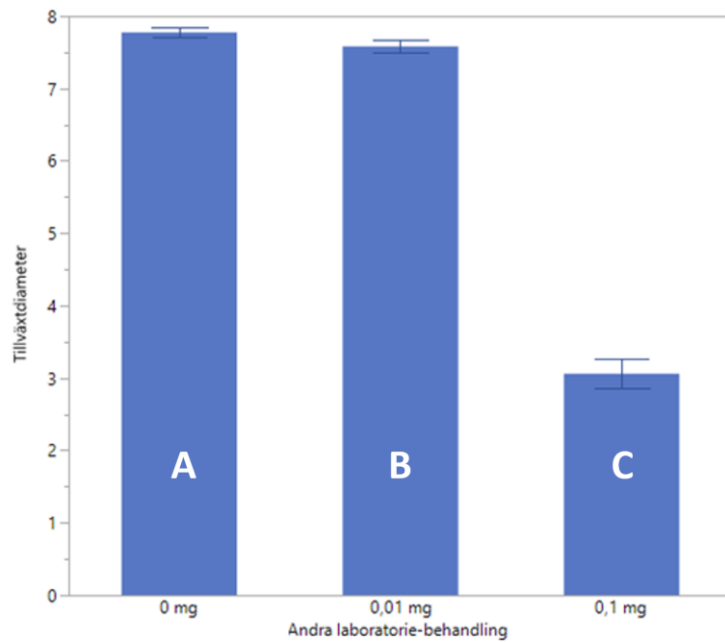
Jämförelse av de enskilda isolatens tillväxt på rent medium respektive på medium med 0,001 mg cyazofamid/l agar visade att isolat K11 hade en signifikant större tillväxt vid odling på agar med fungicid-inblandning ($p=0,0129$), medan isolat K21 växte signifikant mindre på fungicid-agar ($p=0,040$), se figur 6.



Figur 6. Tillväxt av enskilda isolat av *Phytophthora infestans* vid odling på agar utan cyazofamid respektive med inblandning av 0,001 mg cyazofamid/l medium. Staplar med asterisk anger signifikant skillnad i tillväxt mellan de två koncentrationerna. $N=5$. Felstaplarna visar medelfelet.

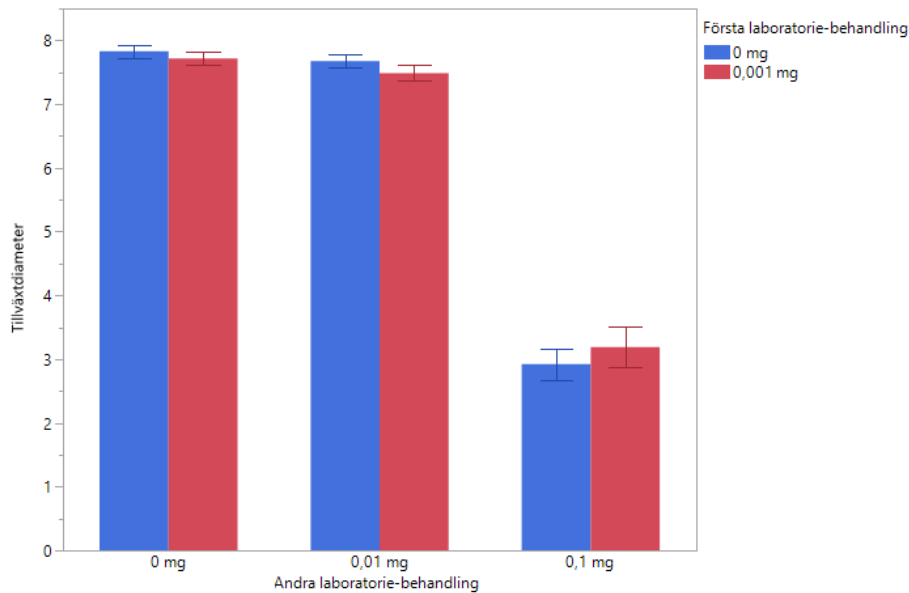
Andra behandling, bestämning av fungicidtolerans

Odling på 0 mg, 0,01 mg respektive 0,1 mg cyazofamid/ml agar gav alla signifikanta skillnader i genomsnittlig tillväxt av de testade isolaten, se figur 7.



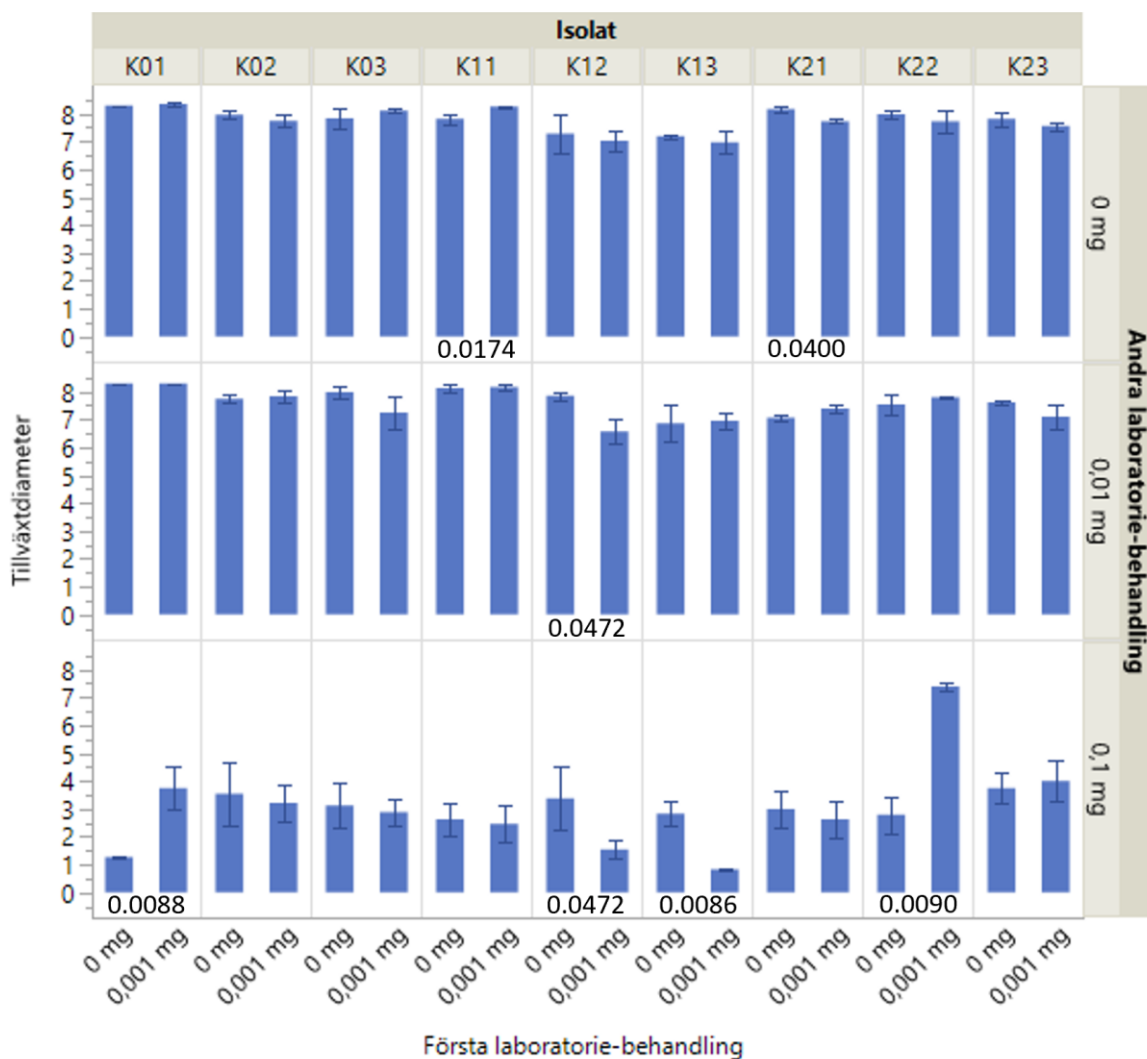
Figur 7. Tillväxt av Phytophthora infestans-isolat på agar med inblandning av 0, 0,01 respektive 0,1 mg cyazofamid/ml agar. N=45. Staplar betecknade med olika bokstäver är signifikant åtskilda vid $p=0,05$ nivån. Felstaplarna visar medelfelet.

Träningen, det vill säga odling under två veckor på ren agar respektive agar med 0,001 mg cyazofamid/l agar (första laboratorie-behandling) gav ingen signifikant effekt på den genomsnittliga tillväxten av alla isolat på vare sig ren agar, 0 mg ($p=0,3181$), agar med inblandning av 0,01 mg ($p=0,2776$), eller vid inblandning av 0,1 mg cyazofamid/l medium ($p= 0,9132$), se figur 8.



Figur 8. Tillväxt av "otränade" (Första laboratorie-behandling 0 mg) respektive "tränade" (Första laboratorie-behandling 0,001 mg) isolat av *Phytophthora infestans* på media med inblandning av 0 mg cyazofamid/l medium, 0,01 mg cyazofamid/l medium respektive 0,1 mg cyazofamid/l medium. $N=45$. Felstaplarna visar medelfelet.

Figur 9 visar tillväxt av de olika isolaten vid odling på agar med 0 mg, 0,01 mg respektive 0,1 mg cyazofamid/l agar (Andra laboratorie-behandling). Signifikant effekt av träningen (Första laboratorie-behandling) kunde bara konstateras hos enstaka isolat. Två isolat, K11 och K21, visade signifikant skillnad i tillväxt på ren agar. Inblandning av den låga dosen cyazofamid (0,01 mg/l agar) gav en signifikant lägre tillväxt av träning hos isolat K12. Den höga fungiciddosen (0,1 mg cyazofamid/l) gav signifikant effekt på tillväxt av träning hos isolat K01, K12, K13 och K22. Isolat K01 och K22 visade bättre tillväxt efter träning medan K12 och K13 växte sämre efter träning, se figur 9.



Figur 9. Tillväxt av isolat av *Phytophthora infestans* insamlade i obehandlade fältförsöksparceller, (K01, K02, K03), parceller behandlade med halv rekommenderade fungiciddos (K11, K12, K13) och full rekommenderade fungiciddos (K21, K22, K23) vid odling på agar innehållande 0 mg cyazofamid/l, 0,01 mg cyazofamid/l respektive 0,1 mg cyazofamid/l agar efter 'träning' på ren agar (0 mg) respektive agar med inblandning av fungicid (0,001 mg). P-värdet är angett i figuren för behandlingar med signifikant skillnad i tillväxt. Felstaplarna visar medelfel.

Diskussion

Jönsson & Olsson (2015) observerade i sin studie att isolat som behandlades med hög dos cyazofamid i fält och sedan odlades på agar med inblandning av cyazofamid i genomsnitt visade en bättre tillväxt än isolat som samlats in i obehandlade parceller. De kom i sitt arbete fram till att populationer av *P. infestans* från fungicidbehandlade parceller ökade sin tolerans mot fungicider. Deras resultat visar inte på någon populationsförändring, utan den ökade fungicidtoleransen verkar vara orsakad av någonting annat än selektion av specifika genotyper i den studerade populationen.

Till skillnad från Jönssons & Olssons (2015) populationsbaserade undersökning genomfördes denna studie för att undersöka om fungicidkänsligheten hos enskilda isolat kan förändras genom att träna dem genom odling på mycket låga fungicidkoncentrationer. Resultaten visar att träning genom odling på 0,001 mg fungicid/l odlingsmedia inte påverkade de undersökta isolatens genomsnittliga tillväxt. Dock hittades signifikanta skillnader mellan enskilda isolat, där K11 efter träning växte bättre på agar med fungicidinblandning, och isolat K21 som växte mindre vid odling på agar utan fungicidinblandning. Denna skillnad i tillväxt hos dessa isolat kunde inte observeras vid test av fungicidkänslighet (andra labbehandling).

Undersökningen som presenteras här visade att träning bara undantagsvis hade effekt på isolatens känslighet (K01, K12, K13 och K22). Två av dessa, K01 och K22, visade en sänkt känslighet efter träning, medan K12 och K13 visade höjd känslighet. Mekanismen bakom förändring i fungicidtolerans hos enstaka isolat av *P. infestans* är inte känd, och det är inte otänkbart att denna mekanism, eller mekanismer, kan ge antingen ökat eller minskad fungicidkänslighet. Troligen varierar förmågan att anpassa sig till fungicid mellan individer, och denna anpassning kan styras av miljöförhållanden och den initiala fungicidkänsligheten hos olika individer i en patogenpopulation (Hagerty et al 2017).

Tillväxten på agar skilde mellan isolaten som ingick i studien, och inget specifikt tillväxtmönster kunde relateras till fungicidbehandlingarna i fält. Detta speglar situationen i de nordiska länder, med en stor genotypisk variation av *P. infestans* orsakad av samexistens av båda parningstyper och sexuell förökning hos patogenen (Sjöholm et al 2013).

Den här studien visar att enstaka isolat som tränats genom odling på låga fungicidkoncentrationer fick en minskad fungicidkänslighet. Potatis behandlas under upp till två månader med ett bekämpningsintervall på sju dagar. Detta innebär att den förändring i fungicidkänslighet som demonstrerats i denna studie skulle kunna ske under fältförhållanden. Enstaka isolat skulle kunna förändras mot att klara högre fungiciddoser och sedan uppföras i patogenpopulationen, och på så sätt medverka till en minskad bekämpningseffekt på bladmögel i potatis av fungicidbehandlingar. Detta skulle kunna vara en del i förklaring till de resultat som observerades av Jönsson & Olsson (2015)

För att bättre förstå vad som påverkar fungicidkänsligheten hos olika isolat av *P. infestans* krävs mer forskning för att utreda mekanismerna bakom sambandet mellan känslighet och fungicidexponering.

Referenser

- Agrios, G. N. (1988). *Plant pathology*. 3. ed. San Diego, Calif: Academic Press. ISBN 0-12-044563-8
- Childers, R. Danies, G. Myres, K. Fei, Z. M. Small, I. E. Fry, W. (2015). *Acquired resistance to mefenoxam in sensitive isolates of Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 105: 3, 342-9.
- Edin, E (2011). *Fungicider och fungicidresistens*. Faktablad om växtskydd 33J. Uppsala. Institution för skoglig mykologi och växtpatologi.
https://www.slu.se/globalassets/ew/org/inst/ekol/faktablad/faktablad-vaxtskydd/faktablad_om_vaxtskydd_33j_webb.pdf
- Fugelstad, J. (2011). *Functional characterization of cellulose and chitin synthase genes in Oomycetes*. *Doctoral thesis in biotechnology*. Stockholm, Sweden. Royal institution of technology (KTH). Division of Glycoscience. <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:418553/FULLTEXT02.pdf>
- Hagerty Ch. H., Graebner R. C., Sackett K. E., Mundt Ch. C. (2017). *Variable competitive effects of fungicide resistance in field experiments with a plant pathogenic fungus*. *Ecological Applications*. 27: 4, 1305-1316.
- Jordbruksverket. (2017)
www.jordbruksverket.se/statistik/statistikomr/jordbruksstatistisksammanstallning/jordbruksstatistisksammanstallning2017.4.695b9c5715ce6e19dbbaacb1.html. [2017-03-27]
- Jordbruksverket (2019). *Bekämpningsrekommendationer, svampar och insekter 2019*. tillgängligt: <https://webbutiken.jordbruksverket.se/sv/artiklar/be17.html> [2019-10-22]
- Jönsson, M. Olsson, G. (2015). *Reducerade fungiciddoser vid bekämpning av potatisbladmögel*. Sveriges lantbruksuniversitet. Institution för skoglig mykologi och växtpatologi. https://stud.epsilon.slu.se/8726/7/jonsson_m_olsson_g_160118.pdf
Magisterarbete.
- Lehtinen A, Andersson B, Le V H, Nærstad R, Rastas M, Ketoja E, Hannukkala A O, Hermansen A, ielsen B J, Hansen J G, Yuen J. (2009). *Aggressiveness of Phytophthora infestans on detached potato leaflets in four Nordic countries*. *Plant Pathology*. 58:4, 690-702.
- Mitani, S. Araki, S. Yamaguchi, T. Takii, Y., Takeshi, O., & Matsuo, N. (2001). *Antifungal activity of the novel fungicide cyazofamid against Phytophthora infestans and other plant pathogenic fungi in vitro*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 70: 2. 92-99
- Nordisk Alkali. Ranman Top. <https://www.nordiskalkali.se/ranman-top/>. [2019-12-05]

Sjöholm L, Andersson B, Widmark A-K, Yuen J. (2013). *Genotypic diversity and migration patterns of Phytophthora infestans in the Nordic countries*. Fungal Biology, 117, 722-730. DOI information: 10.1016/j.funbio.2013.08.002

Strömberg, A., Boström, U. & Hallenberg, N. (2001). *Vitro and under field oospore germination and formation by the late blight pathogen Phytophthora infestans in conditions*. Journal of Phytopathology, 149: 11-12. 659–664.