

Vattenkvaliténs påverkan på bladmögelsfungicider – Bekämpningseffekt i laboratoriemiljö

Johannes Eriksson

Handledare: Björn Andersson, Sveriges lantbrukuniversitet,
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Examinator: Jonathan Yuen, Sveriges lantbrukuniversitet,
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A1E

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX0732

Program/utbildning: Agronom S U R J M a r k D ä r t P H W

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

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

Nyckelord: Vattenkvalitet, Phytophthora infestans, potatisbladmögel, pH, hårdhet, Fe²⁺

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Abstract

The majority of pesticides used in agriculture is mixed with water prior to application and the rate of water widely exceeds the rate of pesticides. Water from different sources has different characters such as pH, water hardness (°dH) and iron content. That these different characters affect some sensitive pesticides is well known. Especially the glyphosate herbicide is known to have reduced performance when mixed with water containing high levels of positively charged cations such as Ca^{2+} , Mg^{2+} and Fe^{2+} resulting in less effectiveness on weeds. Also the group of insecticides called pyrethroids are known to be sensitive to high pH-values causing rapid degradation and reduced effect on the target. Reduced pesticidal effect is negative for both farmers and environment since it may lead to higher pesticide rates to a higher cost.

To find out if fungicides effect on *Phytophthora infestans* is affected by different water quality aspects this study was made. The three common fungicides Infinito, Ranman Top and Revus Top were tested with seven different water types, all based on distilled water, in laboratory conditions.

The study showed that there is a difference in infection between the different water types. The biggest reduction of infections appeared when acidic distilled water or alkaline water with 2mg Fe/L was used. This reduction was probably not an effect of improved fungicide performance but rather an effect of the water being toxic to *P. infestans*. The other types of water showed some differences between the fungicides.

It's hard to tell how water quality affected fungicide performance in this study due to the strong effects that probably was caused by water toxicity to the pathogen. The results from this study may not easily be transferred to field conditions because of the way different methods used in laboratory conditions.

Sammanfattning

Majoriteten av de växtskyddsmedel som används vid odling i fält blandas med vatten före användning och mängden vatten är betydligt högre än mängden växtskyddsmedel. Vatten från olika källor har olika egenskaper som till exempel pH, hårdhet (°dH), järnhalt med flera. Att vattenkvaliteten påverkar vissa känsliga preparat är välkänt. Framförallt är herbiciden glyfosat känt som en molekyl som påverkas negativt av vatten med höga halter av positivt laddade joner som Ca^{2+} , Mg^{2+} och Fe^{2+} med försämrad bekämpningseffekt som följd. Ett annat känt problem är insekticidgruppen pyretroiders känslighet för höga pH vilket orsakar en alltför snabb nedbrytning, också det med försämrad bekämpningseffekt som följd. Försämrad bekämpningseffekt är negativt ur både miljöhänseende och ur ekonomisk synvinkel.

För att ta reda på om även fungiciders bekämpningseffekt påverkas av vattenkvalitet gjordes ett försök med de tre välkända bladmögelsfungiciderna Infinito, Ranman Top och Revus Top. Deras bekämpningseffekt på *Phytophthora infestans* undersöktes på potatisblad i laboratoriemiljö. Vattentyperna utgick från destvatten och redde till genom tillsats av olika salter.

Försöket visar att vattenkvaliteten påverkar bekämpningseffekten, framförallt ger ett svagt surt destillerat vatten (pH5), och ett svagt basiskt vatten (pH8) med tillsats av 2mg Fe/L betydligt mindre infektioner än övriga vattentyper. Antagligen beror en stor del av skillnaderna inte på att preparaten skulle påverkas utan snarare på att lågt pH och järn utfällt som rost verkar ha en direkt toxisk effekt på *P. infestans*. Inom övriga vattentyper fanns skillnader på hur preparaten presterade där Infinito och Ranman Top uppförde sig liknande medan Revus Top reagerade annorlunda.

Sammantaget är det svårt att säga hur vattenkvalitet påverkar bladmögelsfungiciders bekämpningseffekt med tanke på att det blev så starka direkta effekter på *P. infestans* av vissa vattentyper. Det är också svårt att överföra dessa resultat till förhållanden i fält då metoderna som använts i försöket är markant skilda från dem som används vid fältmässig odling.

1 Innehållsförteckning

Abstract	1
Sammanfattning	2
2 Inledning	5
3 Syfte	6
4 Bakgrund	7
4.1 Livscykel för Phytophthora Infestans	7
4.2 Sprutteknik	8
4.3 Nedbrytning av växtskyddsmedel	9
4.3.1 Fotolys	9
4.3.2 Hydrolys	9
4.4 Vattenkvalitet	9
4.5 Vattenkvalitetens direkta effekt på Phytophthora spp.	10
4.6 Preparat mot Phytophthora infestans	11
4.6.1 Infinito®	11
4.6.2 Revus Top®	11
4.6.3 Ranman Top®	12
4.6.4 pH-Opti®	12
5 Material och metod	12
5.1 Bladmögel	12
5.2 Potatisplantor	13
5.3 Vatten	13
5.4 Test av bekämpningseffekt	15
5.5 Statistik	18
6 Resultat	18
6.1.1 Dos respons	18
6.1.2 Direkt behandling jämfört med behandling efter 24 timmar	19
6.1.3 Direkt behandling jämfört med behandling efter 24 timmar för destvatten	20
6.1.4 Jämförelse mellan destvatten, hårt vatten, svagt basiskt vatten och svagt surt vatten	21
6.1.5 Jämförelse mellan destvatten och svagt basiskt vatten	22

6.1.6	Jämförelse mellan destvatten och hårt vatten	22
6.1.7	Jämförelse mellan destvatten och svagt surt vatten	23
7	Diskussion	24
7.1	Doser	24
7.2	Direkt och 24 timmar	24
7.3	Vatten	25
7.3.1	Svagt basiskt vatten	25
7.3.2	Hårt vatten	25
7.3.3	Svagt surt vatten	25
7.3.4	Järnhaltigt vatten	26
7.3.5	Mix	26
7.3.6	Mix med sur buffert	26
8	Slutsats	28
9	Referenslista	29

2 Inledning

I takt med att ekonomi och miljöfrågor blir allt viktigare är det viktigt att bekämpningar anpassas efter behov och att varje behandling ger maximal effekt för att minimera kostnader och negativ miljöpåverkan. Att vattenkvalitet kan spela en viktig roll för att få en god bekämpningseffekt har varit känt sedan länge. Många olika parametrar ingår i begreppet vattenkvalitet och dessa har olika påverkan på olika preparat, där vissa är ytterst känsliga medan andra preparat inte påverkas alls. Därmed är det viktigt att ha kunskap om hur kvaliteten hos det vatten som används till att blanda med växtskyddsmedlen i sprutan påverkar effekten av en pesticidbehandling.

Av Sveriges totala användning av växtskyddsmedel sticker potatisodlingen ut med en mycket hög användning i förhållande till den odlade arealen. Orsaken till potatisodlingens stora bidrag till förbrukningen av växtskyddsmedel beror på potatisbladmögel, *Phytophthora infestans*, som är en mycket aggressiv skadegörare som måste bekämpas förebyggande med upprepade fungicidbehandlingar under säsongen. Beroende på smittotryck och väder behandlas potatisen med 5-10 dagars intervall med mellan 3-12 behandlingar per säsong. På grund av detta står potatisodlingens för 30 - 40 % av fungicidanvändningen inom jordbruket trots att den odlade arealen bara utgör 1-2 % av den odlade arealen(SCB, 2010).

Den höga fungicidanvändningen på en begränsad areal gör det intressant att studera hur de tre vanligaste bladmögel fungicidernas bekämpningseffekt påverkas av olika vattenkvaliteter och om det finns möjlighet att justera vattnet med tillsatser för att förbättra effekten. Om "rätt" vattenkvalitet skulle kunna förbättra bekämpningseffekten skulle doserna eventuellt kunna sänkas för att minska kostnaderna i odlingen och minska miljöbelastningen.

3 Syfte

Syftet med examensarbetet har varit att se om tre vanligt förekommande bladmögelsfungiciders bekämpningseffekt påverkas av egenskaper hos vattnet de blandas med före applicering. Om det finns en negativ effekt av dålig vattenkvalitet finns det då möjlighet att åtgärda problemet genom att tillsätta ett surgörande och avhårdande preparat som marknadsförs för just detta ändamål.

Hypoteser för arbetet har inspirerats av effekter från försök med vattenkvalitet och vissa herbicider.

- 1) Destillerat vatten som blandningspartner ger den bästa bekämpningseffekten.
- 2) pH påverkar effekten hos bladmögelsfungiciderna
- 3) Tillsats av Ca^{2+} , Mg^{2+} och Fe^{2+} i ett vatten med högt pH leder till ytterligare försämrade bekämpningseffekt.

4 Bakgrund

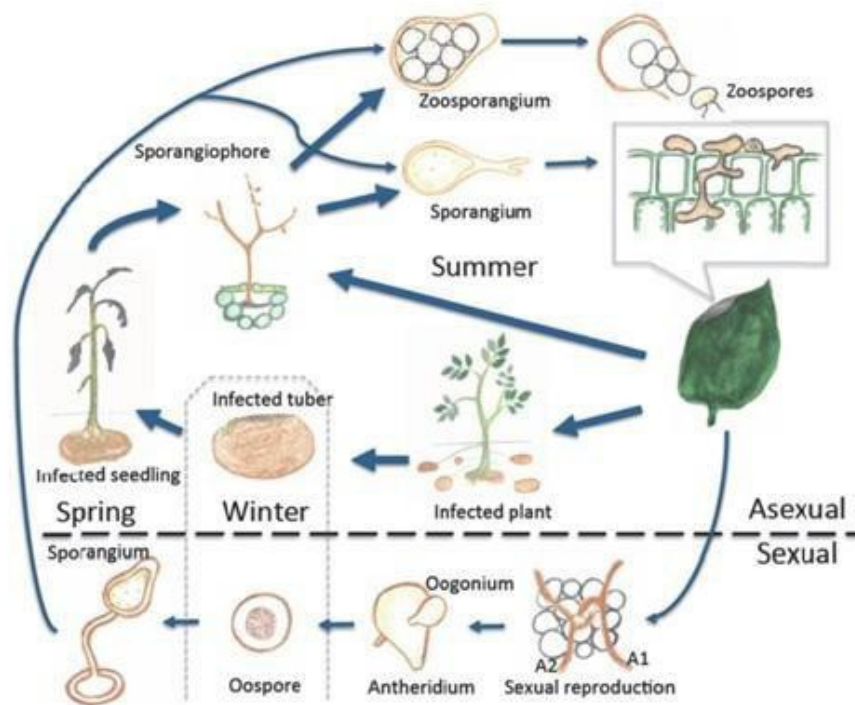
Det finns en stark vilja att minska lantbrukets miljöpåverkan från både lantbrukare, konsumenter och myndigheter. Samtidigt vill lantbruket hålla fokus på sin ekonomi. Detta har lett fram till ett allt starkare fokus på att använda pesticider på ett optimalt sätt. En faktor i detta är hur kvaliteten hos vattnet som används i sprutan påverkar bekämpningseffekten. Forskningen kring hur fungicider i allmänhet och bladmögelsfungicider i synnerhet påverkas av vattenkvalitet är begränsad och det är orsaken till att denna studie gjorts.

4.1 Livscykel för *Phytophthora infestans*

Potatisbladmögel, *Phytophthora infestans*, tillhör gruppen oomyceter, algsvampar, som är en grupp som liknar svampar men har större strukturella likheter med alger. Till skillnad från äkta svampar har oomyceter cellulosa som bygger upp strukturen i cellväggen istället för kitin som hos äkta svampar (Dyer *et al.*, 1993).

P. infestans kan förökas både asexuellt och sexuellt där den asexuella reproduktionen bidrar till det mycket snabba infektionsförloppet medan den sexuella reproduktionen framförallt bidrar med ökad genetisk variation och långlivade oosporer som kan överleva flera år i marken (Fry, 2008). För den sexuella reproduktionen krävs att både A1 och A2 varianterna finns på samma blad så att deras mycel kan växa in i varandra.

Spridningen sker antingen genom att plantorna smittas i fält via intransport av sporer med vind, kontakt mellan plantor i närheten eller jordburen smitta från oosporer. Den andra vägen för infektioner är via smittat utsäde och innebär att när knölen skjuter skott följer smittan med upp i blasten där lesioner bildas som i sin tur kan spridas till andra plantor. För infektion av potatisplantan från zoosporer krävs tillgång till fritt vatten till exempel dagg eller regndroppar på blad eller stam. Beroende på temperatur sker infektionen på olika sätt. Mellan 20-25°C infekterar sporangierna direkt via groddslangen som växer in i växtvävnaden antingen via klyvöppningar eller genom att penetrera bladet fysiskt. Låg temperatur (10-15 °C) leder till att sporangierna frigör zoosporer som i sin tur kan infektera. Efter infektion dröjer det några dagar innan man kan se små mörka fläckar av död vävnad. Runt den nekrotiska vävnaden bildas ett vitt mycel och på mycelet sitter sporangiforer som producerar nya sporangier. Vid regn och bevattning tvättas sporangier av från bladen och spolats ner i jorden. I jorden kan knölarna infekteras via sårytor på skalet eller genom lenticellerna på skalets yta. En smittad knöl utvecklar brunröta, och kraftigt smittade knölar ruttnar ofta under lagringsperioden. Svagt smittade knölar har större chans att överleva vintern och kan fungera som smittokälla nästa säsong.



Figur 1. Livscykel för *Phytophthora infestans*. Illustration Alvar Grönberg

Angrepp av bladmögel kan ofta ha en mycket snabb och aggressiv verkan och det hastiga infektionsförloppet där hela fält kan infekteras och vissna ner på bara en vecka beror på gynnsamma väderförhållanden och en mycket snabb asexuell reproduktion (Fry, 2008; Fry & Goodwin, 1997).

4.2 Sprutteknik

Svampbehandling i allmänhet skiljer sig från ogräsbehandling genom att det oftast finns en mycket större bladmassa som ska behandlas av fungiciden än herbiciden. I synnerhet vid sena bladmögelsbehandlingar finns en mycket stor bladmassa och blad på alla nivåer ska nås av fungiciden. Därför används stora vattenmängder, 200-400 L/ha, och högre tryck för att få bra täckning av hela bladen. Det höga trycket ger fler små droppar som har lättare för att ta sig in i det täta bladverket och en stor vattenmängd är en förutsättning för att täcka en stor bladmassa. Nackdelen som uppstår med små droppar är att vindkänsligheten ökar och därmed risken för avdrift. En lyckad bladmögelsbekämpning är avgörande för odlingen och därför bör man hellre välja munstycken som ger grövre och mindre vindkänsliga droppar vid blåsig väder än att avstå för att invänta lugnare väder (Hardi, 2016).

4.3 Nedbrytning av växtskyddsmedel

På grund av att man strävar efter att skydda grödan under så lång tid som möjligt har de allra flesta pesticider formulerats för att vara stabila och ha låg påverkan av abiotiska faktorer. Däremot är målet att preparaten ska brytas ned när de nått ner i marken för att skydda miljön. Där sker den huvudsakliga nedbrytningen genom svampar, bakterier och enzymer som även kan spjälka stabila molekyler för att utvinna energi.

4.3.1 Fotolys

Fotolys är en reaktion som kan orsaka oönskad nedbrytning som försämrar bekämpningseffekten hos pesticider. Ljus i det ultraviolette området påverkar vissa molekyler på grund av att den kortvågiga strålningen bryter kemiska bindningar. Det kan antingen ske direkt i den aktuella molekylen eller genom att det bildas till exempel syreradikaler som kan angripa andra molekyler och bryta bindningar på grund av laddningsförskjutningar (Crosby, 1972). Olika bindningstyper har olika benägenhet att hålla ihop eller att dela på sig och två av de som ofta kan påverkas är bindningar mellan C-Cl eller mellan C-O (Kundu *et al.*, 2005).

När bindningar bryts skapas nya molekyler, så kallade nedbrytningsprodukter, som inte har den verkan som ursprungsmolekylen har. Därmed förloras den effekt som preparatet hade från början. För att undvika UV-ljusets negativa påverkan är det viktigt att preparatet tas upp snabbt i växten för att på så vis skydda mot solljuset eller allra helst att det är stabilt och inte bryts ned av den relativt låga energimängd som solljuset innehåller.

4.3.2 Hydrolysis

Att molekyler bryts ner genom hydrolysis beror på kombinationen av polaritet hos vattenmolekylen samt styrka och polaritet hos den angripna bindningen i den molekyl som ska spjälkas. Hastigheten hos hydrolysen ökar om koncentrationen av H^+ eller OH^- stiger eftersom dessa joner har högre polaritet än vattenmolekylen och därmed har större styrka att spjälka bindningar hos andra molekyler. Därmed påskyndas nedbrytning genom hydrolysis i sura eller basiska förhållanden beroende på vilka bindningar som ska brytas (Nationalencyklopedin, 2016)

4.4 Vattenkvalitet

Den absoluta majoriteten av de växtskyddsmedel som används i jordbruket blandas med vatten före applicering. Vattnet agerar både som blandningspartner åt preparaten för att nå en lämplig koncentration och som bärare av den aktiva substansen för att transportera preparatet från munstycket genom luften till bladen. Mängden tillsatt vatten varierar beroende av preparat, typ av gröda, krav på täckningsgrad och vilken typ av sprutteknik som används.

Vatten har olika egenskaper och kvaliteter på olika platser beroende på marken och berggrundens beskaffenhet. Då vattnet rör sig från markytan ner mot grundvattnet, eller då det rinner till en sjö eller vattentäkt, löses joner och partiklar i vattnet och förändrar dess egenskaper.

Vattenkvalitetens effekt på herbicider och framförallt glyfosat är relativt väl utrett och det finns tydliga råd om vilka åtgärder som är möjliga för att förbättra vatten med låg kvalitet så att preparatens effekt bibehålls. Effekterna av hur vattenkvalitet påverkar fungicider är betydligt mindre utforskat än effekten hos herbicider (Ratajkiewicz, 2004).

Påverkan av höga pH-värden på vissa bekämpningsmedel, till exempel glyfosat och pyretroider, beror framförallt på en snabbare nedbrytning via hydrolys när det finns OH-joner som är en starkt polär nukleofil. För sulfonyleureor råder det omvända förhållandet att hydrolys påskyndas av låga pH då det finns gott om H⁺-joner som är starkt elektrofila (Tharp & Petroff, 2003). Andra joner som exempelvis Ca²⁺ Mg²⁺ Fe^{2/3+} kan påverka vissa preparat genom att binda till den aktiva substansen i preparaten. Detta kan ge förändrade egenskaper med försämrad bekämpningseffekt som följd. Detta kan motverkas genom att blanda ut preparatet med en mindre vattenvolym vid bekämpning så att koncentrationen blir högre (Buhler & Burnside, 1983; Stahlman & Phillips, 1979). Om preparatdosen per hektar ska bibehållas innebär det att en mindre mängd vätska appliceras per hektar och det ställer särskilda krav på utrustning och preparatens egenskaper. Att minska vätskemängden är oftast bara aktuellt att göra vid ogräsbekämpning i tidiga stadier då ytan som ska täckas kan ses som en plan endimensionell yta. Stor bladmassa ställer krav på höga vätskemängder för att få en god täckning på bladen som vid svampbekämpning till exempel.

4.5 Vattenkvalitetens direkta effekt på *Phytophthora* spp.

Det har i flera studier undersökts hur ett flertal olika katjoner påverkar myceltillväxt, sporulering, frigörande av zoosporer, zoosporernas förmåga att röra sig, encytering och infektion.

I en studie av Halsall & Forrester, 1977, visades att både sporulering som infektion sker i mycket långsam takt utan i en miljö utan förekomst av Fe³⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ och K⁺. Halsall & Forrester kom fram till att det fanns specifika koncentrationsoptimum för varje undersökt typ av joner där sporuleringen gynnades av vissa koncentrationer medan nivåer över och under den nivån missgynnade sporbildning. Optimala koncentrationer varierade mellan de olika jonerna men också mellan olika arter av *Phytophthora*.

Såväl Ca- Mg- och Fe-joner förkortar tiden som zoosporer simmar fritt och tvingar dem till att encytera tidigare än utan förekomst av dessa joner. Däremot påverkas sporernas livskraft inte i någon större utsträckning (Byrt *et al.*, 1982).

Studier som gjorts visar att olika arter av *Phytophthora* har varierande tålighet för skiftande pH-värden men har generellt ett relativt stort spann där de kan leva (Kong *et al.*, 2012).

4.6 Preparat mot *Phytophthora infestans*

På grund av att det finns en tydlig skillnad mellan oomyceter och äkta svampar skiljer det också vilka preparat som kan användas för bekämpning. Preparaten mot *P. infestans* oftast specifika mot just oomyceter.

Preparaten som används för att bekämpa bladmögel i potatis har ofta en begränsad kurativ effekt och därför sker all bekämpning förebyggande. Bekämpningsintensiteten bestäms av potatisens utveckling och väderförhållanden. Under svenska förhållanden görs mellan 5-15 bekämpningar per säsong och för att undvika resistens och samtidigt utnyttja preparatens olika verkningssätt varieras preparatvalet utifrån ett program så att 2-3 behandlingar i rad görs med ett preparat innan man byter till nästa.

I denna studie ingick tre olika bladmögelpreparat, Infintio (Bayer), Revus Top (Syngenta) och Ranman Top (ISK Biosciences). Dessutom ingick pH-Opti (Trade Corporation International)

4.6.1 Infinito®

Fungiciden Infinito® består av de två aktiva substanserna fluopicolid och propamocarb.

Fluopicolid tillhör gruppen benzamider och verkar translaminärt genom bladen (Bayer Crop Science, 2016) och substansen har en annan verkningsmekanism än många äldre preparat och kan därmed vara ett verktyg vid resistensproblem (BRAUN *et al.*, 2014). Exakt verkningsmekanism är inte helt säker men troligen påverkas oomyceternas förmåga att skicka signaler inom cellerna (Hollomon & Thind, 2012). Substansen är stabil mot både hydrolys och fotolys (Pesticide Properties Database, 2016).

Propamocarb hör till gruppen karbamater som verkar systemiskt i växten och skyddar därmed även tillväxten hos plantan i viss mån. Den exakta verkningsmekanismen hos propamocarb är inte helt känt men cellmembranets genomsläpplighet hos *P. infestans* påverkas så att det läcker ut viktiga metaboliter (Gisi & Sierotzki, 2008). Propamocarb är stabil mot hydrolys inom pH-intervallet mellan 4-9 och påverkas inte heller av fotolytisk nedbrytning (Pesticide Properties Database, 2016).

4.6.2 Revus Top®

Revus Top® består av de två aktiva substanserna, mandipropamid som verkar mot *P. infestans* samt difenokonazol som verkar mot *Alternaria solani* och *Alternaria alternata*.

Mandipropamid verkar translaminärt och har effekt mot sporgroning, mycelltillväxt och sporulering (Serrati *et al.*, 2006). Enligt (Blum *et al.*, 2010) verkar mandipropamid på oomycetcellernas utsida genom att förhindra syntetiseringen av cellulosa. Inhiberingen av cellulosa syntesen gör att groddslangen hos *P. Infestans* störs i sin tillväxt och sväller så att den aldrig kan tränga in i bladet och orsaka infektion. Gisi & Sierotzki (2008) menar att det inte är helt säkert vilken verkningsmekanism mandipropamid har på *P. infestans* utan menar på att det antingen handlar om rubbad fosforlipidbildning eller problem med cellulosasyntes.

Mandipropamid är stabilt mot hydrolysis inom ett stort pH-spann men dess foto-lytiska nedbrytning är relativt snabb (Pesticide Properties Database, 2016)

4.6.3 Ranman Top®

Ranman Top betår av den kontaktverkande aktiva substansen cyazofamid som verkar specifikt mot oomyceter som *Phytophthora infestans*. Substansen hämmar *P. infestans* under många olika utvecklingssteg så som kläckning av sporangier, zoosporernas rörelseförmåga, bildande av oosporer och mycelltillväxt (Mitani *et al.*, 2001). Cyazofamid förhindrar ATP transporten hos *P. Infestans* genom att blockera elektrontransporten i mitokondrierna (Ohshima *et al.*, 2004).

Cyazofamid påverkas i liten grad av pH-värdet i vattenlösning med en förkortning av nedbrytningstiden DT50 från 27,2 till 25 dagar när pH förändras från 5 till 9. Den ljuspåverkade nedbrytningen är snabb (Pesticide Properties Database, 2016).

4.6.4 pH-Opti®

pH-Opti är en tillsatsprodukt som marknadsförs som surgörande och avhårdande för tillsättning i spruttanken när känsliga preparat används. pH-Opti innehåller 80 % uroniumhydrogensulfat. Innan tillsats av pH-Opti måste vattnets hårdhet vara känd eftersom doseringen beräknas som $\text{vattnets hårdhet } ^\circ\text{dH} \cdot 17,8 = \text{antal ml pH-Opti} / 1000 \text{ l vatten}$. Resultatet ska bli ett avhårdat vatten med ett pH mellan 5 och 6.

5 Material och metod

5.1 *Bladmögel*

Isolat som samlats in från försöksodling av stärkelsepotatis utanför Kristianstad under augusti 2015 användes för att testa bekämpningseffekten hos de tre preparaten med olika vattenkvaliteter.

Isolaten har växt på agarplattor sedan de samlades in och sattes först om till nya plattor med en blandning av råg-agar (Caten & Jinks, 1968), och ärt-agar (Cobière

& Andrivon, 2003). Bitar om 7x7mm skars ut från de gamla plattorna och varje bit placerades på nya agarplattor. Mycelet fick sedan växa på de nya plattorna cirka 7 dagar i rumstemperatur vid ett fönster där de fick naturligt dagsljus och mörker. Efter 7 dagar bedömdes det finnas tillräckligt med mycel för att föra över till 5-10mm tjocka potatisskivor av sorten Asterix. Mycelet skars ut från agarplattorna i bitar om 7x7mm. På varje potatisskiva placerades en bit agar med mycel och potatisskivorna placerades i täta plastlådor som hade ett fuktat filterpapper i botten för att hålla fukten och på det ett grovt nät som potatisskivorna lades på. Nätets uppgift var att skapa distans mellan det fuktiga filterpapperet och potatisskivorna. Lådorna stängdes och placerades i rumstemperatur vid ett fönster där de fick naturligt dagsljus och mörker. Varje låda innehöll 10 potatisskivor och efter 7 dagar bedömdes det finnas tillräckligt med sporulerande mycel för att spola av sporangier. De 2 mest sporulerande potatisskivorna valdes ut i varje låda och spolades av med 2ml destvatten upprepade gånger. Mängden sporangier i lösningen kontrollerades med hjälp av en haemocytometer och lösningen späddes till 10^4 sporangier per ml. Sporangielösningen placerades 3 timmar i kylskåp, mörkt och $+4^{\circ}\text{C}$, för att stimulera kläckning av zoosporer. Efter 3 timmar kontrollerades att kläckningen påbörjats genom att leta efter tomma zoosporangier.

5.2 Potatisplantor

Sextio potatisknölar av sorten Solist sattes i krukor med planteringsjord och odlades i 20°C och ljus 18 timmar och mörker 6 timmar med en luftfuktighet om 40-50 %. Potatisen vattnades med rent vatten från plantering till uppkomst och efter uppkomst vattnades potatisen med vatten med näringslösning. Efter 7 veckor bedömdes det finnas tillräckligt stor bladmassa för att räcka till hela försöket. Blad av likvärdig ålder plockades från plantorna för inokulering

5.3 Vatten

De olika vattenkvaliteterna bereddes genom att utgå från destillerat vatten som steriliserats med en Milli-Q maskin. Vattenkvalitet nr 6 – Mixat, var tänkt att motsvara ett naturligt brunsvatten från kalkrik berggrund och järnutfällningar. Vatten nr 3-5 användes för att se de enskilda faktorernas påverkan i nr 6. För att bedöma påverkan av pH fanns vatten nr 2 med och vatten nr 1 saknade helt tillsatser och fanns med som tänkt kontroll. Tills sist fanns vatten nummer 7 med där en tillsats av pH-Opti gjordes för att förbättra vattenkvaliteten hos nr 6, se tabell 1.

Tabell 1. Vattnets egenskaper

Vatten nr	"Namn"	pH	Hårdhet (°dH)	Järnhalt (mg/L)
1	Destvatten	6,2	0	0
2	Svagt surt	4,9	0	0
3	Svagt basiskt	8,1	0	0
4	Hårt	8,1	15,8	0
5	Järn	8,1	0	2
6	Mixat	8,1	15,8	2
7	Mixat med pH-Opti	2,5		

De olika vattnen bereddes genom att tillsatserna beräknades för att uppnå de önskade egenskaperna i tabell 1. Därefter vägdes de upp enligt tabell 2 och blandades väl med vatten. Vattnets pH mättes med pH-meter och justerades strax före försöket. Vattnets hårdhet mättes hos Lantmännen Uppsala som också är återförsäljare av pH-Opti. Tillsatsen av pH-Opti gjordes utifrån rekommendationen vattnets hårdhet (°dH) * 17,8 = ml pH-Opti/1000L vatten.

Tabell 2. Beskrivning av vattnets olika tillsatser.

Tillsats	Vatten nr 1	Vatten nr 2	Vatten nr 3	Vatten nr 4	Vatten nr 5	Vatten nr 6	Vatten nr 7
Destvatten (1,0 L)	x	x	x	x	x	x	x
CaCl ₂ *2H ₂ O 0,275 g (1,9 mmol)				x		x	x
MgSO ₄ *7H ₂ O 0,203g (0,8 mmol)				x		x	x
FeSO ₄ *7H ₂ O 0,01g(0,036 mmol)					x	x	x
NaOH			x	x	x	x	x
HCL		x					
pH-Opti 15,8*17,8 = 281µL							x

5.4 Test av bekämpningseffekt

De sju vattenkvaliteterna blandades med bladmögelsfungiciderna Ranman Top, Revus Top och Infinito och späddes i falconrör, se tabell 3. Behandling av blad skedde därefter dels direkt och dels 24 timmar efter att vatten och fungicid blandats.

Tabell 3. Spädningsserien för fungicider, ■■■■■ markerar de koncentrationer som ingår i försöket.

	Ranman Top	Revus Top	Infinito
Steg 1 mg(ai)/l	1,0	1,0	100
Steg 2 mg(ai)/l	0,1	0,1	10
Steg 3 mg(ai)/l	■■■■■	0,01	1,0
Steg 4 mg(ai)/l	■■■■■	■■■■■	0,1
Steg 5 mg(ai)/l	■■■■■	■■■■■	■■■■■
Steg 6 mg(ai)/l		■■■■■	■■■■■
Steg 7 mg(ai)/l			■■■■■

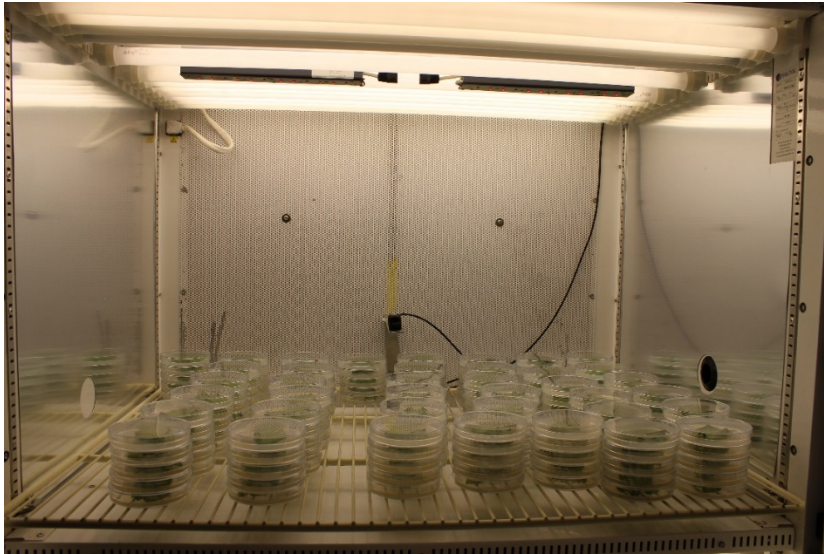
Blad klipptes av från plantornas övre bladverk, och från dessa togs småblad ut slumpmässigt. För varje koncentration och vattenkvalitet lades fem småblad i vardera fungicidlösning och skakades ca 10 sekunder för att få total täckning på bladen. Efter behandling fick bladen torka cirka 60 minuter. När fungicidlösningen torkat in placerades bladen med undersidan uppåt i petriskålar med vattenagar, ett blad per skål. Vattenagarn gav tillräcklig fuktighet för att bladen kunde hållas vid god vigör under hela försökets gång. Mitt på bladet, vid mittnerven, placerades en droppe om 60µl, $\approx 60 \cdot 10^4$ sporer, färdig sporangielösning se figur 2. Petriskålarna försågs därefter med lock.



Figur 2. Droppe med sporangielösning på blad.

Sedan placerades skålarna i klimatskåp med 15 °C, 90 % luftfuktighet och ljus dygnet runt under 8 dagar, se figur 3. Skålarna staplades på varandra, fem skålar på höjd, men för att undvika att påverkan från hur mycket ljus varje blad fick flyttades staplarna runt och skålarnas ordning i staplarna blandades om dagligen.

Försöket bestod av tre dosnivåer av vart och ett av de tre preparaten plus en kontroll utan fungicid med fem upprepningar, gånger sju olika vattentyper. Dessutom fanns det direkt behandling och behandling efter ett dygn. Det ledde fram till $(3 \times 5 \times 3 + 5) \times 7 \times 2 = 700$ agarplattor med blad.



Figur 3. Klimatskåp med ljus och kontrollerad temperatur och luftfuktighet.

Från dag 3-8 granskades bladen med stereolupp en gång per dag för att upptäcka när infektion och sporulering skedde. Dag 8 avslutades försöket och lesionens storlek mättes som längd och bredd och dess area beräknades som en ellips, se figur 4.



Figur 4. Infekterat blad vid försökets slut.

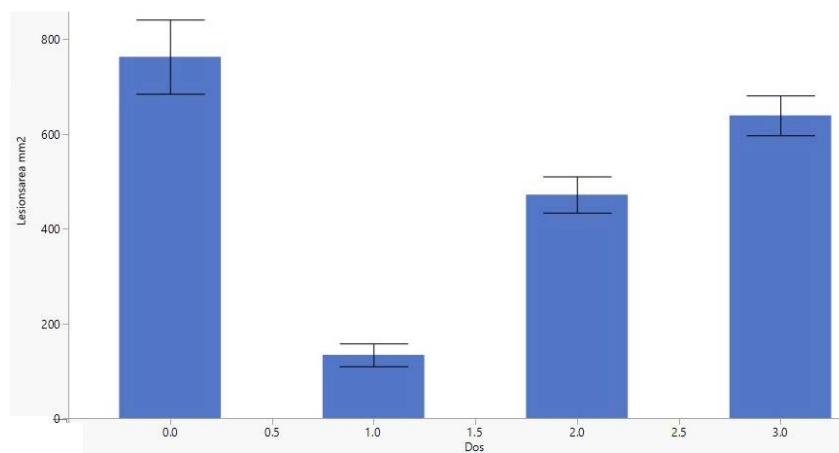
5.5 Statistik

Statistiken har behandlats med statistikprogrammet JMP Pro 12. ANOVA analyser har gjorts där lesionsarean har använts som responsvariabel för att kunna hantera de många blad som inte blev infekterade.

6 Resultat

6.1.1 Dos respons

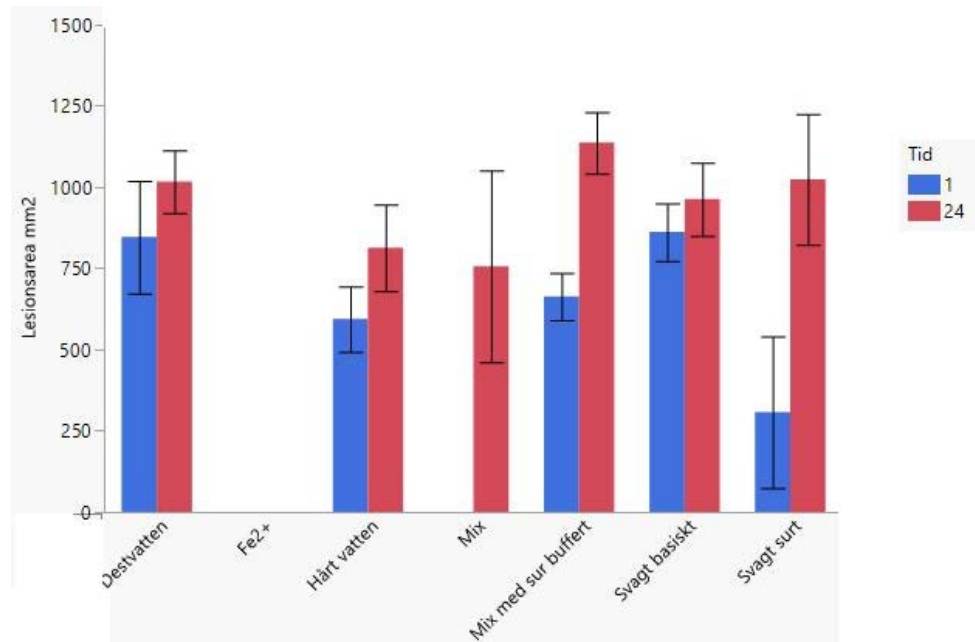
Diagrammet nedan visar att dosen har en effekt på lesionsarean där infektionerna blivit större ju lägre dosen varit. Figuren nedan visar en sammanslagning för alla vattentyper och alla preparat.



Figur 5. Samtliga preparats doseffekts påverkan på lesionsarean. Dos 0 är kontrollen utan preparat. Dos 1 är den högsta dosen av preparat och dos 3 är den lägsta dosen. Felstaplarna anger medelfel.

6.1.2 Direkt behandling jämfört med behandling efter 24 timmar

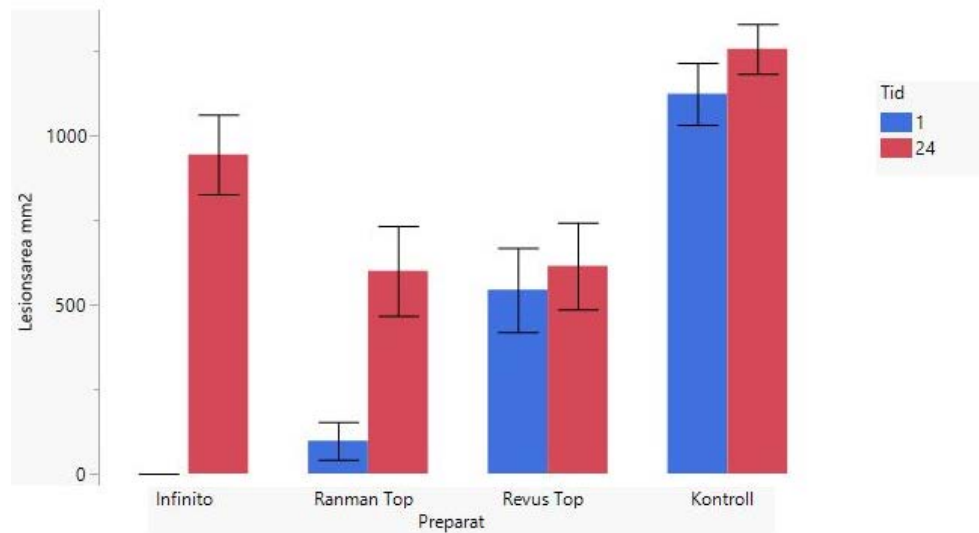
Jämförelse mellan leden där preparat och vatten blandats strax före behandling av bladen och ledet där preparat blandats med vatten 24 timmar före behandling visar på stora skillnader mellan leden, se figur 6.



Figur 6. Den totala genomsnittliga lesionsarean för respektive vatten och behandling direkt jämfört med behandling efter 24 timmar. Alla preparat och doser är sammanslagna i varje vattentyp. Felstaplarna anger medelfel.

6.1.3 Direkt behandling jämfört med behandling efter 24 timmar för destvatten

I diagrammet nedan, figur 7, ser man en skillnad på lesionsareans storlek beroende om bladen behandlats direkt efter blandning av vatten och fungicid eller om vatten och fungicid blandats 24 timmar före behandling.

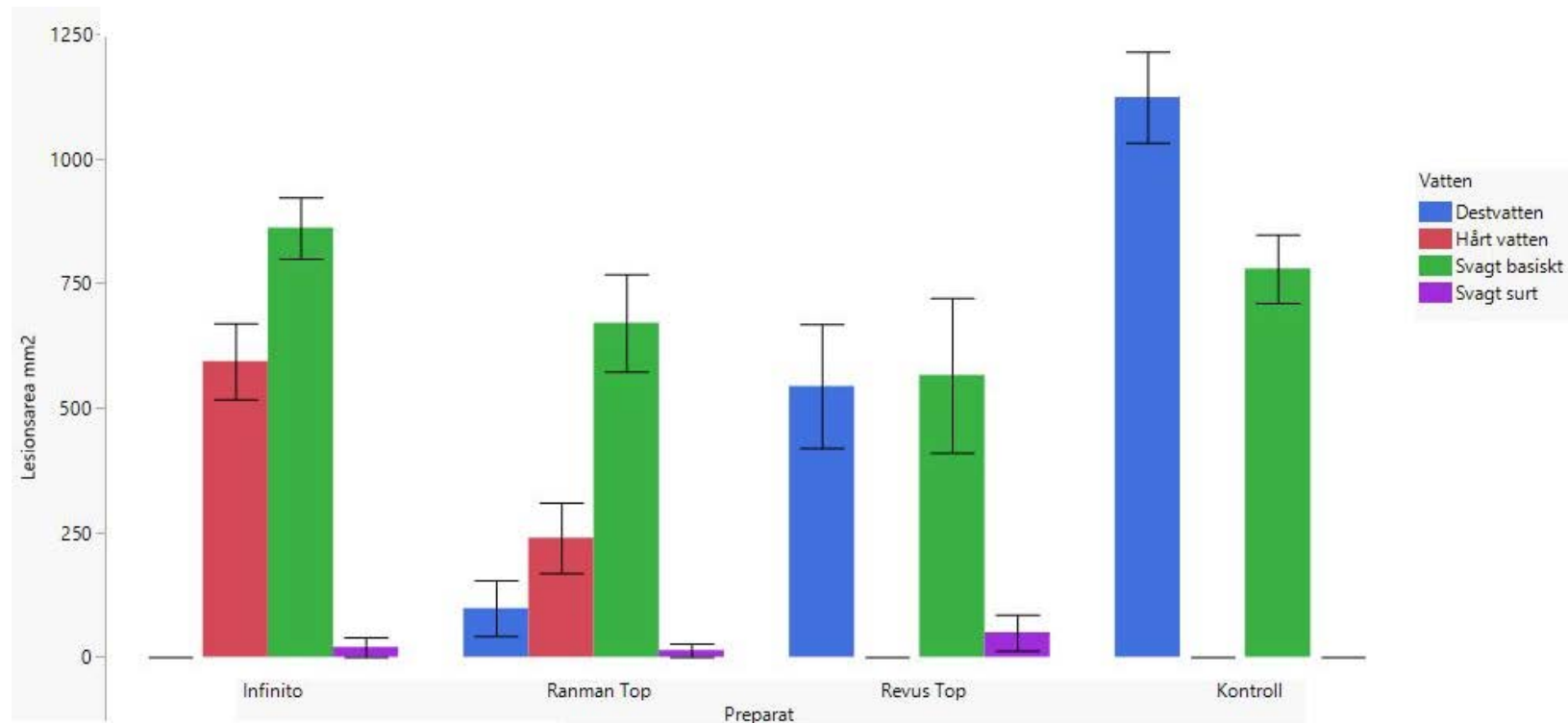


Figur 7. De olika preparatens påverkan på lesionsarea vid direkt behandling respektive behandling efter 24 timmar där destvatten varit blandningspartner. Felstaplarna anger medelfel.

6.1.4 Jämförelse mellan destvatten, hårt vatten, svagt basiskt vatten och svagt surt vatten

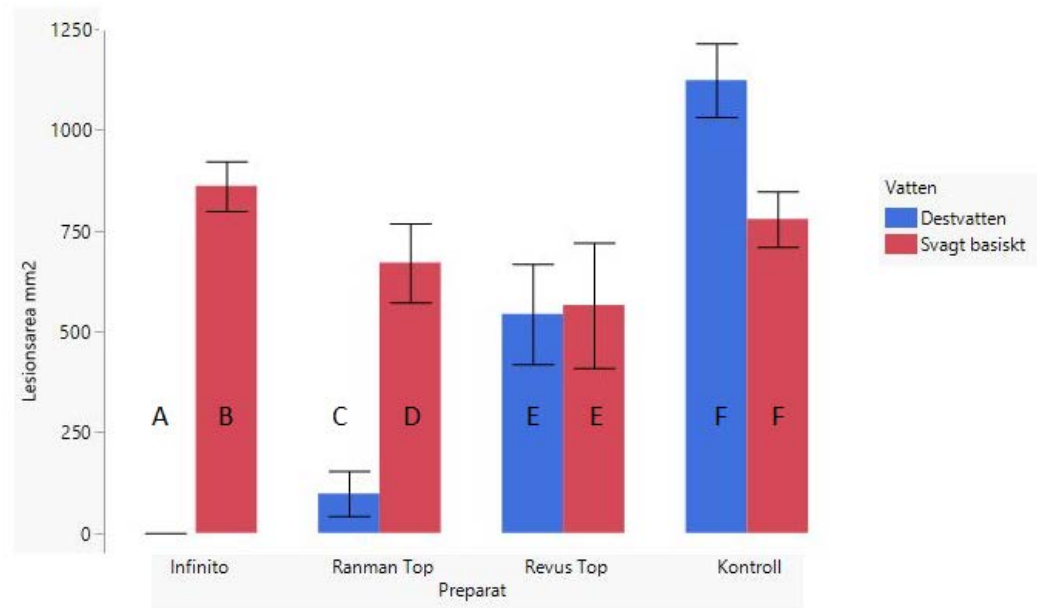
På grund av problem och misstag har de tre leden, Fe²⁺, Mix och Mix med sur buffert tagits inte tagits med i analysen. Likaså har hela ledet där behandling gjorts efter 24 timmar tagits bort på grund av problem.

Preparatens olika ”doskoncentrationer” är inte jämförbara med varandra utan kan enbart jämföras med sig själv för olika vatten och jämföras med effekten i kontrollen se figur 8.



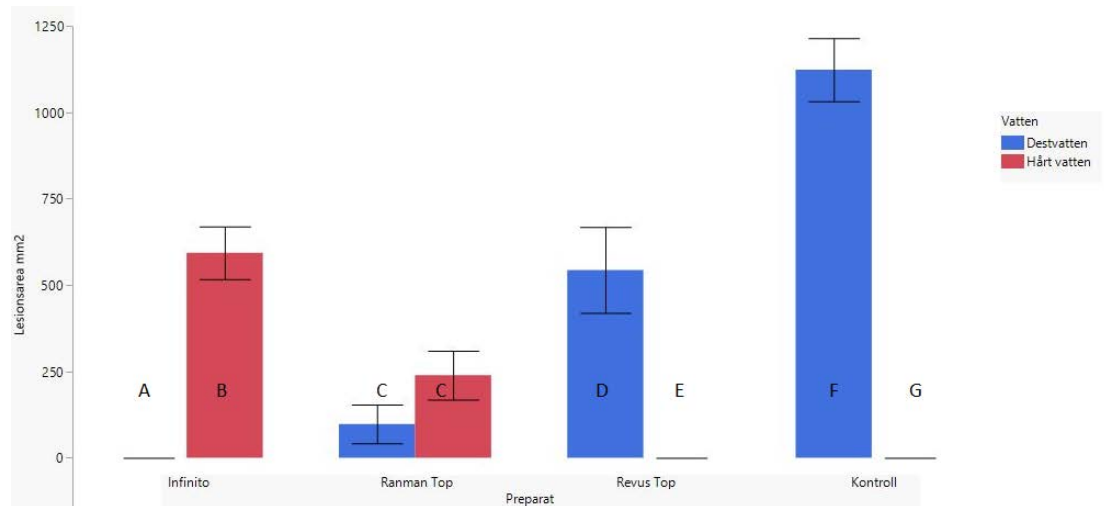
Figur 8. Preparatens effekt vid blandning med olika vattentyper. Felstaplarna anger medelfel.

6.1.5 Jämförelse mellan destvatten och svagt basiskt vatten



Figur 9. Respektive preparats effekt på lesionsarean när destvatten och svagt basiskt vatten jämförts parvis för varje preparat vid behandling direkt efter blandning av vatten och fungicid. Olika bokstäver betyder signifikant skillnad på 95 % signifikansnivå. Felstaplarna visar medelfel.

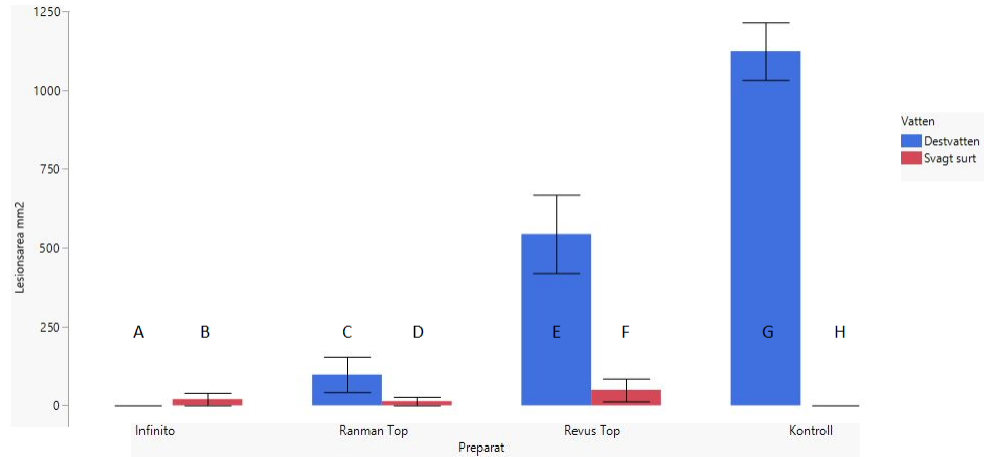
6.1.6 Jämförelse mellan destvatten och hårt vatten



Figur 10. Respektive preparats effekt på lesionsarean när destvatten och hårt vatten jämförts parvis för varje preparat vid behandling direkt efter blandning av vat-

ten och fungicid. Olika bokstäver betyder signifikant skillnad på 95 % signifikansnivå. Felstaplarna visar medelfel.

6.1.7 Jämförelse mellan destvatten och svagt surt vatten



Figur 11. Respektive preparats effekt på lesionsarean när destvatten och svagt surt vatten jämförts parvis för varje preparat vid behandling direkt efter blandning av vatten och fungicid. Olika bokstäver betyder signifikant skillnad på 95 % signifikansnivå. Felstaplarna visar medelfel.

7 Diskussion

Vid första försökstillfället misslyckades inokuleringen vilket gav få och ”slumpvisa” infektioner. Trolig orsak till misslyckandet var en alltför liten droppe sporangielösning i kombination med för låg luftfuktighet i klimatskåpet ledde till att droppen torkade innan infektion kunde ske. Försöket fick därför göras om med större droppe och högre luftfuktighet. Vid andra försökstillfället blev infektionerna fler och tydligt grupperade vilket tyder på att upplägget fungerade som planerat. Det indikerar att de blad som höll sig friska under försöket gjorde det på grund av lyckade behandlingar snarare än att problem lett till misslyckade infektioner. För att kunna hantera de många blad utan infektion valdes genomsnittlig lesionsarea som responsfaktor.

Ett problem med försöket är att vattenkvaliteten antagligen inte enbart påverkat preparaten utan i viss utsträckning även haft direkt effekt på *P. infestans*. Detta gör det komplicerat att dra slutsatser om hur vattenkvaliteten påverkat fungicidernas bekämpningseffekt när en del av resultaten kan ha dolts av en påverkan vattnet haft direkt på patogenen.

7.1 Doser

Det är svårt att översätta rekommenderade fältdoser till lämpliga doser i ett artificiellt försök där enskilda blad behandlas istället för en ytenhet som fältdoserna utgår från. Därför valdes fem doser ut efter nivåer som använts i ett liknande försök för ett inledande test. Resultatet från det inledande testet ledde fram till de tre dosnivåer som sedan användes i det riktiga försöket. Doserna valdes så att den högsta dosen var 10 ggr starkare än den mellersta dosen och 100 ggr starkare än den lägsta dosen. Målet med de valda doserna var att inte få några infektioner alls med den starkaste dosen, åtminstone tillsammans med destvatten. Med den mellersta dosen var tanken att få några infektioner och den lägsta dosen skulle ge många infektioner. Doserna skiljde sig åt för de olika preparaten och därför kan inga jämförelser göras mellan respektive preparat.

Försöket visar att den högsta dosen som väntat gav signifikant mindre infektioner medan mellersta och lägsta dosen ligger nära varandra, se figur 5. På grund av svårigheterna med att jämföra doserna i försöket är det svårt att dra direkta slutsatser om hur påverkan skulle blivit i fält.

7.2 Direkt och 24 timmar

Jämförelsen mellan behandling direkt efter blandning och blandning med 24 timmars väntan före behandling visar på en förändrad bekämpningseffekt, se figur 6. Skillnaden beror dock troligtvis på att när pH justerades användes inte buffert utan

justeringen gjordes med HCl respektive NaOH. Efter 24 timmar har det sura ledet stigit i pH och de basiska leden har sjunkit i pH. Därmed kan man inte dra några slutsatser eftersom pH inte varit stabilt. På grund av detta har leden där blandningen fått stå 24 timmar innan behandling strukits och ingen statistisk analys har gjorts på dem.

För ledet med destvatten, se figur 7, justerades inte pH utan det pH som blev berodde på att koldioxid löste sig och ställde sig i jämvikt. Därmed kan man jämföra direkt behandling med behandling efter 24 timmar. Då ser man att det finns tendenser till en sämre bekämpningseffekt när vatten och fungicider blandats 24 timmar före behandling.

7.3 Vatten

Det gjorda försöket med test av bekämpningseffektivitet visar på skillnader beroende på vilket vatten som används för blandning med de tre bladmögelstängselnerna Infinito, Revus Top och Ranman Top.

7.3.1 Svagt basiskt vatten

Signifikanta skillnader för Ranman Top och Infinito men inte för Revus Top och för kontrollen. På grund av att kontrollen inte skiljer sig signifikant, se figur 9, kan det antas att ett högre pH inte har direkt effekt på *P. infestans*. Däremot verkar det ha en negativ inverkan på effekten av Ranman Top och Infinito men inte av Revus Top.

7.3.2 Hårt vatten

I jämförelsen mellan hårt vatten och destillerat vatten, se figur 10, finns signifikanta skillnader för Infinito, Revus Top och för kontrollen utan fungicid medan det inte finns signifikanta skillnader för Ranman Top. Skillnaden mellan kontrollleden indikerar att det finns någon form av påverkan av Ca^{2+} och/eller Mg^{2+} direkt på *P. infestans* som ger betydligt mindre infektioner. En förklaring skulle kunna vara att koncentrationerna av Ca^{2+} och Mg^{2+} ligger utanför det koncentrationsoptimum som hittades av Halsall & Forrester (1977). Om så är fallet verkar den effekten störas ut av Infinito som istället lett till större infektioner vid hårt vatten än med destvatten. En annan orsak kan vara att det är pH som slår igenom eftersom det är samma pH som det basiska vattnet.

7.3.3 Svagt surt vatten

I jämförelsen mellan svagt surt vatten och destvatten är det signifikant mindre infektioner för alla led utom för Infinito där surt vatten använts än där destvatten använts, se figur 11. Att även kontrollen visar på mindre infektioner tyder på att

lågt pH har någon form av verkan direkt på *P. Infestans*. Att det skulle finnas en direkt negativ påverkan som setts i detta försök motsägs av (Kong *et al.*, 2012) som istället menade att *Phytophthora* är relativt okänsligt för skiftande pH inom ett stort spann. Dock såg de skillnader mellan olika sorters *Phytophthora* och eftersom *P. Infestans* inte fanns med i deras studie kan det tänkas att det just där finns en känslighet mot låga pH

7.3.4 Järnhaltigt vatten

Vattnet med 2mg Fe²⁺/L sticker ut med ytterst få infektioner. På grund av att det blivit så extremt få infektioner har det ledet inte jämförts statistiskt eftersom det är osäkert vad som lett till det anmärkningsvärda resultatet. Järnjonerna blandades med vatten och pH justerades till 8 vilket ledde till att Fe²⁺ oxiderades och fälldes ut som rost. Eventuellt har järnet en toxisk effekt på *P. Infestans* vilket skulle vara intressant att undersöka vidare. Både Fe²⁺ och Cu²⁺ är tvåvärt positiva metalljoner med liknande storlek och koppar används som fungicid i vissa länder men är ifrågasatt på grund av dess negativa effekter på miljö och hälsa. I en studie av Byrt *et al.*, 1982 sågs ingen toxisk effekt av Fe²⁺ på *P. infestans*, men deras studie tittade på en järnkoncentration som bara var hälften så hög som i detta försök.

7.3.5 Mix

Det mixade vattnet som skulle likna ett verkligt brunnsvatten med många olika ingredienser fick en låg mängd infektioner och har därför inte analyserats statistiskt. Troligtvis är det en effekt av att järn finns med också i detta vatten och samma fenomen får som hos det rena järnvattnet får genomslag här.

7.3.6 Mix med sur buffert

Detta led fanns med för att se om ett vatten som antogs vara av ”dålig” vattenkvalitet kunde förbättras med ett av de preparat, pH-Opti, som marknadsförs som tillsats för att förbättra vattenkvaliteten vid blandning av vatten och känsliga pesticider. Det tillsattes till Mix-vattnet enligt tillverkarens dosering som baserades på vattnets hårdhet. Resultatet blev infektioner i betydligt högre grad än i ledet med Mix-vatten. Detta orsakades troligen av att Mix-vattnet tillretts av destillerat vatten som har en sämre buffrande förmåga än ett naturligt brunnsvatten vilket ledde till ett pH på 2,5. Det låga pH-värdet gör att järn inte fälls ut som rost utan kommer att befinna sig i jonform vilket kan ha påverkat. I försöket med svagt surt vatten blev infektionerna små både i där fungicid använts och i kontrolledet. Det tolkades som att lågt pH hade en direkt negativ verkan på *P. Infestans*. Därmed borde detta ännu

lägre pH varit än mer negativt men kanske har det låga pH-värdet varit skadligt för bladen så att cellvätska läckt ut och buffrat. Ingen statistisk analys har gjorts på detta led eftersom det råder osäkerhet kring vad som hänt.

8 Slutsats

Bekämpningseffekten verkar påverkas av vilken typ av vatten men på grund av att det är svårt att skilja på den effekt som verkat på preparatet och den effekt som verkat på patogenen är det svårt att dra säkra slutsatser.

Infinito presterar sämre med basiskt- och basiskt hårt vatten än med destillerat vatten

Ranman Top presterar sämre med basiskt vatten än med destvatten och har en tendens till sämre effekt vid hårt basiskt vatten än med destvatten.

Revus Top visar inte någon signifikant skillnad mellan destvatten och basiskt vatten. I jämförelse mellan basiskt hårt vatten och destvatten fungerar Revus sämre med destvatten.

Destvatten fungerar bättre än vatten svagt basiskt vatten men klart sämre än svagt surt vatten men det är osäkert om effekten beror på bättre verkan av preparaten eller om det handlar om direkta effekter på *P. infestans*.

Tillsats av järn till vattnet leder till förbättrad bekämpningseffekt som troligtvis beror på någon form av toxisk verkan av järnet direkt på *P. infestans*. Ett intressant resultat som skulle vara spännande att titta närmare på.

På grund av den starka effekten av järn, misstag vid justering av pH och problem vid dosering av pH-Opti kan inga slutsatser dras av vattnen Mix och Mix med sur buffert eller ledet med blandning av fungicid och vatten 24 timmar före behandling.

9 Referenslista

- Bayer Crop Science. www.cropscience.bayer.se/~media/.../Sweden/.../Infinito%202013.ashx.
- Blum, M., Boehler, M., Randall, E., Young, V., Csukai, M., Kraus, S., Moulin, F., Scalliet, G., Avrova, A.O. & Whisson, S.C. (2010). Mandipropamid targets the cellulose synthase-like PiCesA3 to inhibit cell wall biosynthesis in the oomycete plant pathogen, *Phytophthora infestans*. *Molecular plant pathology*, 11(2), ss. 227-243.
- BRAUN, C.A., WANNINGEN, R., SCHIRRING, A. & Schepers, H. Infinito®: protection against different *Phytophthora infestans* isolates of the A2 & A1 mating type. I: *Handlingar från Proceedings of the Fourteenth EuroBlight Workshop, Limassol, Cyprus, 12-15 May 2013* 2014: PAV, Praktijkonderzoek voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt, ss. 117-121.
- Buhler, D.D. & Burnside, O.C. (1983). Effect of water quality, carrier volume, and acid on glyphosate phytotoxicity. *Weed Science*, ss. 163-169.
- Byrt, P.N., Irving, H.R. & Grant, B.R. (1982). The effect of cations on zoospores of the fungus *Phytophthora cinnamomi*. *Microbiology*, 128(6), ss. 1189-1198.
- Caten, C. E. & Jinks, J. L. (1968). Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. *Canadian Journal of Botany*, 46(4), pp 329–348.
- Cobière, R. & Andrivon, D. (2003). Preparation of a simple pea medium for culturing *Phytophthora infestans*. Available from: <http://www.eucablight.org/Eucablight.asp>. [Accessed 2016-06-17].
- Crosby, D.G. (1972). Environmental photooxidation of pesticides. *Degradation of Synthetic Organic Molecules in the Biosphere*, ss. 260-278.
- Dyer, A., Matuzak, J., Drenth, A., Tooley, P., Sujkowski, L., Koh, Y., Cohen, B., Spielman, L., Deahl, K. & Inglis, D. (1993). Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Dis*, 77, ss. 653-661.
- FAO *International Year of the Potato 2008*. www.fao.org/potato-2008/en/potato/ [2016-03-17].
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular plant pathology*, 9(3), ss. 385-402.
- Fry, W.E. & Goodwin, S.B. (1997). Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience*, 47(6), ss. 363-371.
- Gisi, U. & Sierotzki, H. (2008). Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *European Journal of Plant Pathology*, 122(1), ss. 157-167.
- Govers, F., Drenth, A. & Pieterse, C. (1997). The potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* and other pathogenic oomycota. I: *Plant Relationships Part B* Springer, ss. 17-36.
- Hardi Sprutteknik. <http://www.svenskahardi.se/se/service-support/sprut-teknik#> [2016-06-11].
- Hollomon, D.W. & Thind, T. (2012). New modes of action contribute to resistance management. *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*, ss. 104-115.
- Kong, P., Lea-Cox, J.D., Moorman, G.W. & Hong, C. (2012). Survival of *Phytophthora alni*, *Phytophthora kernoviae*, and *Phytophthora ramorum* in a simulated aquatic environment at different levels of pH. *FEMS microbiology letters*, 332(1), ss. 54-60.
- Kundu, S., Pal, A. & Dikshit, A.K. (2005). UV induced degradation of herbicide 2,4-D: kinetics, mechanism and effect of various conditions on the degradation. *Separation and Purification Technology*, 44(2), ss. 121-129.

- Mitani, S., Araki, S., Yamaguchi, T., Takii, Y., Ohshima, T. & 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), ss. 92-99.
- Nationalencyklopedin (2016) [Databas]. <http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/hydrolys>: Nationalencyklopedin. Tillgänglig: <http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/hydrolys> [2016-06-10].
- Niederhauser, J.S. (1991). *Phytophthora infestans: the Mexican connection*: Cambridge University Press, Cambridge. Tillgänglig: https://books.google.se/books?hl=sv&lr=&id=C2twp2II3QIC&oi=fnd&pg=PA25&dq=the+mexican+connection+Phytophthora+infestans&ots=S8Mh7c3H0s&sig=GbrHfcovMF27gbCpyP10_L2BIQ&redir_esc=y#v=onepage&q=the%20mexican%20connection%20Phytophthora%20infestans&f=false.
- O'Sullivan, P.A., O'Donovan, J.T. & Hamman, W.M. (1981). INFLUENCE OF NON-IONIC SURFACTANTS, AMMONIUM SULPHATE, WATER QUALITY AND SPRAY VOLUME ON THE PHYTOTOXICITY OF GLYPHOSATE. *Canadian Journal of Plant Science*, 61(2), ss. 391-400.
- Ohshima, T., Komyoji, T., Mitani, S., Matsuo, N. & Nakajima, T. (2004). Development of a novel fungicide, cyazofamid. *Journal of Pesticide Science*, 29(2), ss. 136-138.
- Pesticide Properties Database (2016) [Databas]. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/index.htm>: University of Hertfordshire. Tillgänglig: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/index.htm> [2016-06-03].
- Ratajkiewicz, H. (2004). Effect of water quality on efficacy of fungicides in controlling rose rust. *Journal of Plant Protection Research*, 44(1), ss. 35-40.
- SCB (2010). *Växtskyddsmedel i jord- och trädgårdsbruket 2010. Användning i grödor. (MI31 - Bekämpningsmedel i jordbruket.* <http://www.scb.se/sv/Hitta-statistik/Publiceringskalender/Visa-detaljerad-information/?publobjid=15130>: Statistiska centralbyrån.
- Serrati, L., Cestari, P., Brunelli, A., Canova, A. & Collina, M. Mandipropamid: new fungicide against oomycete phytopathogens. I: *Handlingar från Phytopathological Meeting 2006, Riccione (RN), 27-29 March 2006. Proceedings, second volume.* 2006: Università di Bologna, ss. 9-16.
- Stahlman, P.W. & Phillips, W.M. (1979). Effects of Water Quality and Spray Volume on Glyphosate Phytotoxicity. *Weed Science*, 27(1), ss. 38-41.
- Tharp, C. & Petroff, R. (2003). *Water Quality and Pesticide Performance*. Montana State University.