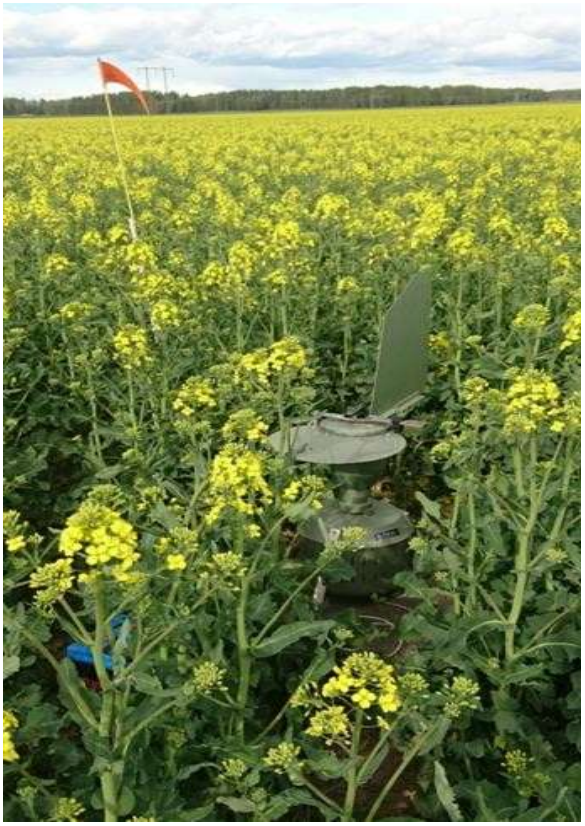
KUNSKAP FÖR LANDETS FRAMTID



Beslutsstöd för riskbedömning av angrepp av bomullsmögel i höstraps med stöd av DNA-analys

Anslag Dnr 4.1.18- 16779/2019 från Jordbruksverkets FoU-medel, ekologisk produktion

Maria Algerin[1], Carl Blackert[2], Paul Letheus[4], Martin Pettersson[3], Eva Edin[3] & Ann-Charlotte Wallenhammar[3]

2021, Högskolan i Skövde[1], Hushållningssällskapet Halland[2], HS Konsult AB[3], HIR Skåne[4],



Europeiska jordbruksfonden för landsbygdsutveckling. Europa investerar i landsbygdsområden

Förord

Bomullsmögel orsakas av svampen *Sclerotinia sclerotiorum* och kan orsaka stora skördeförluster i raps. Många höstrapsodlare överraskades 2016 och 2017 av kraftiga angrepp av bomullsmögel i olika delar av Sverige, och bedömdes vara var den enskilt största orsaken till skördebortfall i Skåne 2017. Projektgruppen har stor erfarenhet av utvecklingsprojekt med bomullsmögel med fokus i vårraps och höstraps och har utvecklat molekylära analystekniker, real-tids PCR, för att identifiera DNA av *S. sclerotiorum* på växtdelar och tejpprover. Vi såg ett stort behov av att närmare använda de verktyg vi utvecklat i tidigare projekt för att analysera sjukdomsutbrott de kommande åren, och för att identifiera indikatorer som är viktiga för sjukdomsutveckling. Rådgivarna i gruppen har stort intresse för höstraps och ett engagemang i skadebedömning och insamlande av fältdata genom HIR- verksamheten (Hushållningssällskapets Individuella Rådgivning) som varit avgörande för uttolkningen av resultaten.

Sammanfattning

Bomullsmögel orsakas av svampen *Sclerotinia sclerotiorum* och kan orsaka stora skördeförluster i raps. Den jordbundna smittan i form av sklerotier har stor betydelse för utvecklingen av angrepp i ett specifikt fält. Vid gynnsam marktemperatur och fuktighet utvecklas apothecier från sklerotier nära maktytan. Askosporer sprids med hög hastighet uppåt i beståndet och till övre luftlager. Tidigare angrepp i raps och andra mottagliga grödor på fältet har stor betydelse för hur kraftiga angreppen kan bli. Bekämpning måste göras i förebyggande innan symtomen är synliga, och därför är en fältbaserad bedömning nödvändig för att fatta beslut. Med syfte öka kunskapen om sjukdomsutveckling i olika regioner och därmed förbättra underlaget för beslutsstöd genomfördes detta samarbetsprojekt. Data samlades in under 2018 och 2019 om sporspridning med en stationär sporfälla, förekomst av svampens DNA genom insamling och analys av lägst sittande bladet tio rapsplantor i utvalda fält, utveckling av angrepp genom bedömning av plantor i obehandlade rutor, klimatet i fält och odlingshistorik i samarbete mellan rådgivare och höstrapsodlare i Skåne, Halland och Örebro län. DNA-baserade metoder användes för analys av luft- och bladprover för att följa det epidemiologiska förloppet hos svampen och för att identifiera förekomst på bladen i tidig blomning. Genom ett unikt samarbete mellan rådgivare och forskare har vi använt molekylära metoder storskaligt, och kunnat kartlägga svampens sporspridning i odlingen från knoppstadiet till avslutad blomning. Vi har med tydlighet visat att bladanalyserna är nyckeln till en ökad precision i beslutsfattandet. Skånska rapsfält utan känd odling de senaste tio åren visade högsta förekomst av *S.sclerotiorum* DNA. Förklaringen till detta finns på landskapsnivå, då raps med bomullsmögelangrepp odlats på de angränsande fälten två år tidigare. Hittills har odlingshistoriken i ett specifikt fält bedömts ha störst betydelse för tillgång på platsbunden smitta. Resultaten visar att temperaturen under maj månad varit avgörande för apotheciebildning och sporspridning. Den stora sporspridningen som uppmättes i luftprover i Örebro inträffade båda åren efter avslutad blomning vilket sannolikt minskade angreppets styrka jämfört med om sporspridningen skulle ha inträffat under blomningen. Stora variationer i fältangrepp förekom i alla regioner och tydliga indikationer på sporspridning från angränsade fält, där raps odlats i närtid med angrepp, visades.

Innehåll

1 Bakgrund 5

1.1 Höstrapsproduktionen i Sverige 5

1.2 Projektets syfte och målsättning 8

2 Metodik 9

2.1 Luftprover 9

2.2 Fälturval 9

2.3 Bladprover 10

2.4 Bestämning av sjukdomsangrepp 10

2.5 Detektion och kvantifiering av *S. sclerotiorum* 11

2.6 Klimatdata 11

3 Resultat 13

3.1 Skadebedömning och datainsamling 13

3.2 Sporprover 17

3.3 Bladprover 20

3.3.1 Insamling 2018 20

3.3.2 Insamling 2019 22

4 Diskussion 24

5 Resultatförmedling 29

6 Litteratur 30

Omslagsfoto: Sporfälla (Burkhard Spore Trap) i höstrapsfält. Foto: Ann-Charlotte Wallenhammar

1 Bakgrund

1.1 Höstrapsproduktionen i Sverige

Höstraps är en lönsam produktionsgren och har sedan 2015 omfattat mer än 90 % av den totala rapsodlingen som varit närmare 100 000 ha de senaste åren. I Mellansverige där vårrapsodlingen tidigare dominerat odlas numera höstraps på ca 90 % av rapsarealen. I södra Sverige ligger höstrapsarealen på en stabil nivå. Mer höstraps i växtföljden innebär också ökad risk för skördebortfall orsakade av sjukdomar. Bomullsmögel orsakas av svampen *Sclerotinia sclerotiorum* och har under många år orsakat stora skador i vårraps och vårrybs, och svampens vilkroppar ligger kvar under lång tid i dessa fält (Twengström, 1998). När höstrapsodlingen ökade i Mellansverige flyttades vårt fokus snabbt till att undersöka förutsättningarna för bomullsmögelangrepp i höstraps. Med gården som bas bestämde vi under 2015–2016 förekomsten av bomullsmögel i olika höstrapsfält i Örebro län (Algerin et al., 2017) i ett samarbetsprojekt mellan HS Konsult AB och Högskolan i Skövde. Bomullsmögel förkom i många av fälten och i medeltal var 15 procent av plantorna angripna. DNA-teknik användes för att kartlägga när svampens sporer sprids. Många höstrapsodlingar i olika delar av Sverige drabbades av kraftiga angrepp av bomullsmögel 2016 och 2017 och ansågs vara den enskilt största orsaken till skördebortfall i skånska höstrapsfält 2017. I Halland varierade angreppet mellan 10 och 20 procent angripna plantor i ett 40-tal fält som undersöktes samma år (Blackert, muntligen). vilket inspirerade oss att fortsätta och fördjupa undersökningarna i detta samarbetsprojekt som genomfördes 2018 och 2019 i regionerna Skåne, Halland och Örebro län.

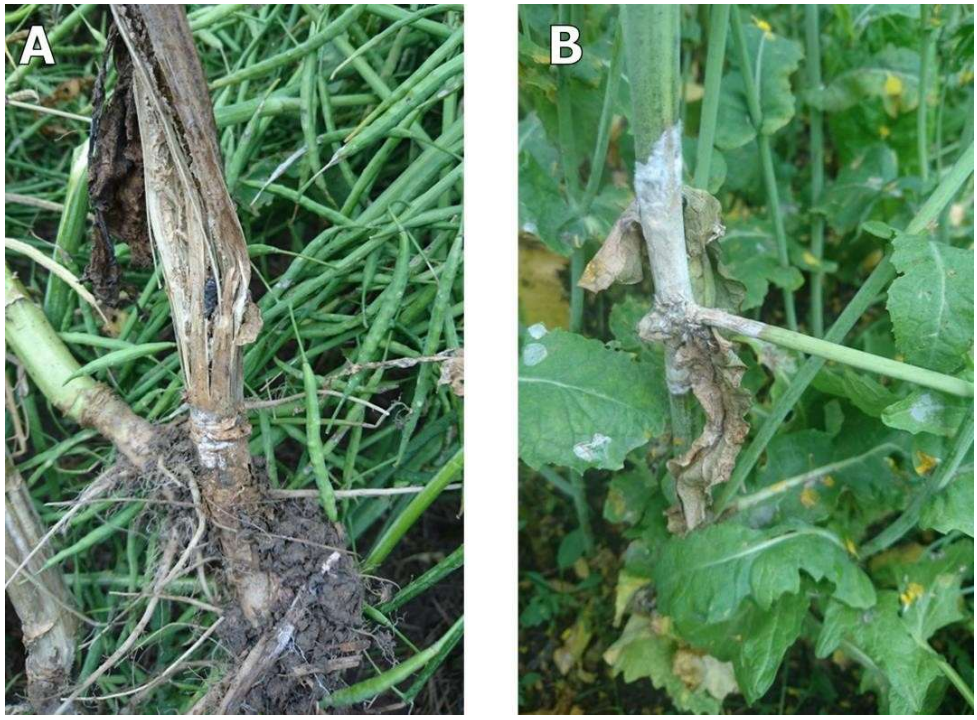
Bomullsmögel orsakar stora skördeförluster i många tvåhjärtbladiga växter och fler än 400 arter uppges infekteras världen över (Boland och Hall, 1994). Sjukdomen kan orsaka betydande skördeförluster och rankas som en av de mest ekonomiskt betydelsefulla i raps (Zheng et al., 2020). Svampen övervintrar med vilkroppar, sklerotier, i jorden. Infektionen av värdplantorna sker under relativt fuktiga och svala förhållanden, i vårt klimat vanligen med askosporer som är den primära infektionskällan, men också mycel kan bidra till fortsatt spridning. Angrepp sker vissa år och varierar från en plats till en annan beroende på mängden smitta i marken och väderleksförhållanden i samband med blomning, där sklerotier från tidigare odlingar har stor betydelse för utvecklingen av angrepp. Infektionscykeln är komplex och är ett samspel mellan markfuktighet, luftfuktighet och temperatur och ljusinstrålning. I korthet så gror vilkropparna, sklerotierna, på våren när jorden är fuktig och temperaturen överstiger 10 grader C. För groningen krävs vattenmättnad, och variationer i denna förlänger tiden till groning medan temperaturväxlingar på åtta grader mellan dag och natt påskyndar groningen (Mila och Yang, 2008). Askosporerna frigörs i ”puffande” moln från apothecier som grott ut från sklerotier nära markytan (Figur 1). Vid gynnsam marktemperatur som överstiger 7 grader under natten och luftfuktighet som överstiger 70 procent utvecklas apothecier från sklerotier nära maktytan.



Figur 1. Apothecier som vuxit ut från sklerotier i jorden. Vid gynnsam väderlek släpps askosporer ut med undertryck och kan orsaka sjukdomsangrepp under fuktiga förhållanden när de landar på en värdväxt. Foto: A-C Wallenhammar

Askosporerna som bildas i små sporsäckar sprids uppåt i beståndet med undertryck och kräver sedan fuktighet för groning och infektion. Åldrande växtdelar som fallande kronblad och andra blomdelar fungerar som näringskälla för fortsatt sjukdomsutveckling (Baurdin och Huang, 2001). Sporerna som frigörs i ”puffande” moln kan när de når övre luftlager spridas till angränsande fält då askosporerna kan transporteras flera hundra meter i luften (Clarkson et al., 2002), vilket dokumenterats i Halländska höstrapsodlingar av Blackert (2017). Askosporspridning, sporernas överlevnad och förmåga att orsaka en infektion påverkas av olika miljöfaktorer, där temperaturer över 21 °C ökade dödligheten hos sporerna (Caesar och Pearson, 1983) Symtom utvecklas under blomningen då sporerna främst koloniserar kronblad och andra blomdelar som fäster vid blad, bladskaft och på stjälken innan infektionen växer in i stjälk och bladskaft (Figur 2 a och b). Ofta börjar angreppet vid bladskaftet och utvecklas vidare i in i stjälken. Kraftiga angrepp innebär att epidermis flisas upp, stjälken försvagas med stjälkbrott som följd. Svarta sklerotier bildas av mycel inuti stjälkarna och vid fuktiga förhållanden även utanpå stjälken och kräver vintervila för att på våren gro och bilda apothecier.

Skördeskadan består av försämrad utveckling av fröskidorna, minskad inlagring och ökad drösning hos de brådmogna plantorna som ger fältet en färgskiftning i gult (Figur 3).



Figur 2. Symtom av bomullsmögel på A) stjälkbasen av rapsplanta där svarta sklerotier bildas inuti stjälken och B) bladveck med tydlig myceltillväxt på stjälk och bladskaft. Mycelsamlingar syns som vita knoppar som kommer att övergå i svarta sklerotier som faller till market och kan bevaras livsdugliga i jorden i mer än 10 år. Notera kronbladen som fallit ner på rapsbladen. Foto: A-C Wallenhammar

Skördeförlusterna varierar från några få procent till 50 procent eller mer (Gunnarsson, 2019) beroende på angreppets styrka. Behandling med fungicid i förebyggande syfte ger kontroll, men svampens epidemiologi och behovet av en förebyggande bekämpning är komplex. Bekämpning måste göras innan symtomen är synliga, och därför är det centrala en fältbaserad riskbedömning för att fatta beslut. Risken för angrepp och därmed behovet av kemisk bekämpning har tidigare bedömts med en riskvärdering utarbetad för vårraps av SLU, som dock har haft begränsad träffsäkerhet för det individuella fältet.

Analys av *S. sclerotiorum* DNA i bladprover ger nya möjligheter för att bedöma risken för angrepp. Den metod baserad på realtids-PCR som utvecklades av Almquist och Wallenhammar (2014) ger också möjlighet att veta när sporerna sprids. Med en sporfälla, en så kallad Burkhard spore trap, placerad i ett höstrapsfält har luftprover samlats in och svampens DNA bestämts. I en tidigare studie i höstraps bestämdes svampens DNA i luftprover för första gången i början av maj och de högsta nivåerna nåddes i början av juni i samband med blomningen (Algerin et al., 2017). Insamlade data från tre års tidigare undersökningar (2015–2017) tillsammans med data från undersökningarna i detta samarbetsprojekt lägger grunden för att utveckla ett beslutsstöd med DNA–teknik som stöd och som kan användas för att bedöma risken för angrepp i ett specifikt fält.



Figur 3. Rapsplantor som angripits av bomullsmögel brådmognar eftersom vatten och näringstransporten hindras i stjälken. Fröskidorna gulnar och fröfyllnaden avstannar. Foto: A-C Wallenhammar.

1.2 Projektets syfte och målsättning

Projektets syfte är att utveckla och förbättra beslutsunderlaget för att bedöma risken för angrepp av bomullsmögel i specifika höstrapsfält baserat på underlag och erfarenheter från olika regioner i landet med gården som bas.

Det övergripande målet är att utveckla och förbättra underlaget som rapsodlare kan använda för att ta beslut om bekämpning av bomullsmögel i ett specifikt höstrapsfält. Enligt artikel 55 i EU-förordningen 1107/2009 skall integrerat växtskydd tillämpas i alla medlemsstater idag, och detta kräver att förbättrade verktyg för riskvärdering och prognos utvecklas för att bestämma bekämpningsbehovet. Efter projektets slut finns underlag för att sätta upp en kommersiell bladanalys som ger samtliga ca 4000 höstrapsodlare möjlighet att analysera sina fält för att fatta ett beslut angående bekämpningsbehovet. Underlag till ett webbaserat beslutsstöd för att bedöma risken för angrepp av bomullsmögel presenteras.

Med effektmålet vill vi att 80 procent av landets höstrapsodlare skall bedöma bekämpningsbehovet baserat på lokala klimatdata inom 3 år samt att precisionen ökar och 20 procent av odlingarna analyseras för förekomst av bomullsmögel-DNA inom 5 år.

Ekonomisk nytta och miljömål: Projektet bidrar till ekonomisk nytta för lantbrukare då bekämpning sätts in i de fält där risk för angrepp föreligger. Merskördar uppmätta i fungicidförsök i vårraps på 550 och 1000 kilo per hektar har vid ett rapspris på 4 kronor per kilo givit ett bekämpningsnetto motsvarande 1600 - 3500 kronor per hektar. Samtidigt blev kostnaden för körning i fält där behov inte fanns ca 600 kr per hektar. Med ett rapspris på 5 - 6 kronor per kg och högre avkastningspotential är intresset stort för att behandla höstraps. Miljökvalitetsmålet giftfri miljö uppfylls då beslutsstödet ger tydlig vägledning om vilka fält där risk för angrepp föreligger och en bekämpning motiveras.

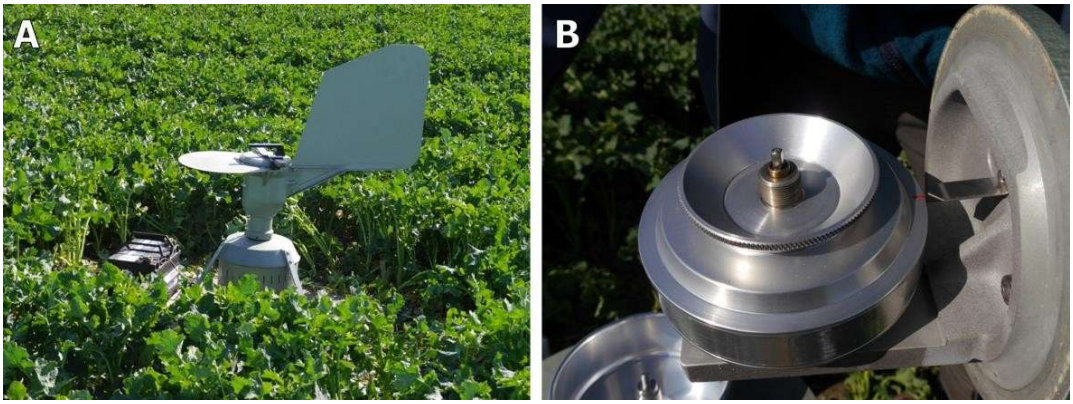
2 Metodik

Datainsamlingen består av tre delar; (i) insamling av luftprov med en stationär sporfälla som inköpts och använts av HS Konsult AB i olika projekt sedan 2009 (ii) bladanalyser (iii) bestämning av angrepp i obehandlade ytor i 10 utvalda fält i varje region.

2.1 Luftprover

En sporfälla, Burkhard 7-day volumetric (Burkhard Manufacturing Co Ltd, Hertfordshire, UK)) som ägs av HS Konsult AB, Örebro placerades i höstrapsfält i Örebro län med känd historik av rapsodling den 7 maj 2018 och 23 april 2019 (Figur 4a-b).

Trumman för sporinsamling byttes veckovis under 9–10 veckor och tejpen klipptes i delar motsvarande dygnsfångster. Varje dygnssektion delades i två delar och placerades individuellt i 1,5 ml Eppendorf-rör och förvarades i -20 °C till extraktionstillfället. Dessa tejpprover analyserades med realtids PCR enligt och förekomsten av sporer från bomullsmögel i luften bestämdes.



Figur 4: Insamling av in luftburna askosporer av *Sclerotinia sclerotiorum*. A) Sporfällan placerades i rapsfältet i Örebro län. B) Trumman för sporinsamling byttes veckovis under 9–10 veckor och tejpen klipptes i delar motsvarande dygnsfångster för senare molekylär analys av DNA- förekomst. Foto: A-C Wallenhammar.

2.2 Fälturval

I regionerna Halland, Skåne och Örebro län kontaktades 10 höstrapsodlare per län och en yta om 60–120 m² (sprutbredden, vanligen 24 m x 50 m) markerades med 2,0 m långa käppar innanför fältets vändteg och lämnades obehandlad för senare avläsning av sjukdomsangrepp.

2.3 Bladprover

Bladinsamlingen var planerad att göras i begynnande blomning DC 60. Vid provtagningen insamlades nedersta bladet från 10 slumpmässigt utvalda rapsplantor per fält (Tabell 1). Det nedersta bladet avlägsnades och placerades individuellt i zip-lock plastpåsar och förvarades i -20 °C till extraktionstillfället.

Tabell 1. Datum för provtagning och skadebedömning.

Område och år	Datum - insamling blad	Datum - skadebedömning	Kommentar
Örebro			
2019	9 maj	10–12 och 15 juli	
2018	21 och 29 maj	12 juli	
Halland			
2019	3 maj	3–4 och 9 juli	
2018	18 juni	9 augusti	Vårraps
Skåne		5 juli	
2019	18 maj		
2018	19 juni	9–10 juli	

2.4 Bestämning av sjukdomsangrepp

Skadenivåerna av bomullsmögel bestämdes i totalt 30 fält under 2018 och 29 fält under 2019. Rapsplantorna graderades i början i utvecklingsstadium 80 enligt BBCH, motsvarande begynnande mognad (Tabell 1). 25 plantor undersöktes på fyra platser i det markerade området och totalt undersöktes 100 plantor i varje fält. Skadenivån anges som andelen infekterade plantor. För att kvantifiera skadan beräknades ett sjukdomsindex (SI). Varje planta bedömdes beroende på hur kraftigt angreppet var (0–4) och ett värde för fältet beräknades genom följande formel:

$$\mathrm{DSI} = \frac{\sum_{n=0}^{5} n \cdot (antalet\ plantor\ i\ klassen)}{(totala\ antalet\ plantor) \cdot (antal\ klasser - 1)} \cdot 100$$

där *n* är antalet klasser och definitionen av klasserna 0, 1, 2, 3 och 4 är, (0) frisk planta, (1) röta omsluter <50 procent av stjälkens omkrets, (2) rötan omsluter 50–75 procent av stjälkens omkrets, (3) stjälkomslutande röta, stjälken fortfarande grön respektive (4) hela plantan brådmogen/död.

2.5 Detektion och kvantifiering av *S. sclerotiorum*

Insamlade rapsblad och tejpprover har analyserats på laboratoriet vid Högskolan i Skövde genom att extrahera DNA enligt metod beskriven i Almquist & Wallenhammar (2014) som sedan analyserades med hjälp av qPCR för att detektera och kvantifiera *S. sclerotiorum*. En plasmid med målsekvensen användes vid qPCR-analyserna som material för standardkurvan (kvantifieringskurvan). Denna plasmid har konstruerats vid Högskolan genom att amplifiera upp målsekvensen med PCR och därefter klona in fragmentet i en TOPO TA kloningsvektor i syfte att transformera in den in i bakterien *Escherichia coli*. Den modifierade plasmiden innehållande målsekvensen har isolerats från bakterieodling samt klyfts med ett enzym (”singlecutter”) för att öppna upp plasmiden och göra den linjär. Mängden DNA från *S. sclerotiorum* kvantifierades från blad- och luftprover med hjälp av qPCR som beskrivs av Almquist & Wallenhammar (2014). qPCR-analyserna utfördes med ABI 7300 Real-time PCR System
(Applied Biosystems) och alla prover kördes i tre tekniska replikat (triplikat). Negativ kontroll (no template control, NTC) kördes också i triplikat i varje platta och innehöll samma qPCRblandning men med 5 µl sterilt vatten som ersatte DNA-provet. För absolut kvantifiering användes en standardkurva bestående av olika mängder av den linjära plasmiden innehållande målsekvensen från *S. sklerotiorum*. Tiofaldiga utspädningar av plasmiden analyserades i triplikat på varje platta. För varje platta analyserades sju olika utspädningar, i intervallet 10 pg (motsvarande 2 kopior) till 10 pg (motsvarande $2*10^6$ kopior) per platta. Målkopieantalet i tejpproverna uttrycks som antal målkopior per m^3, med beaktande av att varje halv bit tejp motsvarar 7,2 m^3 luft och att 5 µl av det ursprungliga DNA-extraktet analyserades. Målkopieantalet i bladproverna uttryckts som antal målkopior per blad, med hänsyn till att DNA extraherades från 1 ml CTAB-lösning och att 5 µl av det ursprungliga DNA-extraktet analyserades. Specificiteten för qPCR-analysen av *S. sclerotiorum* har analyserats av Freeman et al. (2002) samt även vid Högskolan genom att försöka detektera vissa andra vanligt förkommande växtpatogener med qPCR-metoden. Resultaten från denna specificitetsstudie visar att endast målorganismen *S. sclerotiorum* detekterades.

2.6 Klimatdata

Lufttemperatur, nederbörd, solstrålning och relativ fuktighet samlades in från Lantmets nätverk (http://www.slu.se/sv/fakulteter/nl-fakulteten/om-fakulteten/ovriga-enheter/faltforsok/vader/) från väderstationerna Säbylund (Örebro), Långås (Halland) och Borgeby (Skåne). Klimatdata för åren 2018 och 2019 presenteras i Tabell 2 för perioden som motsvarar två veckor före skadebedömningen och 46 dagar efter detta datum.

Tabell 2. Klimatdata för 2018 och 2019 i områdena Örebro, Halland och Skåne. Perioden som visas utgår från två veckor före skadebedömningen och fortgår till 46 dagar efter detta datum vilket gav följande mätperioder; 14 maj-28 juni (Örebro), 12 maj-26 juni (Skåne 2018), 7 maj-21 juni (Skåne 2019, Halland 2019) och 11 juni-26 juli (Halland 2018).

Område	Temperatur[a] (grader)	Luftfuktighet[a] (procent)	Total nederbörd (mm)	Solstrålning[a] (MJ/m$^{2)}$	Infektionstimmar[b]
Örebro[c]					
2019	14,8	80,5	86,2	23,1	155
2018	17,6	63,6	26,6	29,9	71
Halland[d]					
2019	13,8	74,8	125,8	22,5	78
2018	18,1	70,9	13,8	27,9	0
Skåne[e]					
2019	14,7	80,1	81,2	16,8	112
2018	17,7	68,0	11,8	20,2	0

[a]Dygnsmedelvärde uppmätt 1,5 m över marken [b]Antal infektionstimmar där kriteriet för att räkna en infektionstimme är att det är 23 timmar i följd där den relativa fuktigheten ≥ 80 % och dygnsmedeltemperaturen ≥ 7°C. [c]Väderstation Säbulund LantMet [d]Väderstation Långås LantMet [e]Väderstation Borgeby LantMet

3 Resultat

3.1 Skadebedömning och datainsamling

Fältinformation samlades in från odlarna avseende jordart, uppgifter om när senaste rapsodling förekom och om annan mottaglig gröda som ärt odlats och visas i Tabell 3.
Under år 2018 var skadenivåerna obefintliga då ingen bomullsmögel upptäcktes i något av de trettio fälten (fältvisa resultat visas ej här) som undersöktes i regionerna Örebro län, Halland och Skåne. Under 2019 varierade angreppen av bomullsmögel från 0 till 67 procent infekterade plantor (Tabell 3). I Örebro-området varierade angreppsnivån från 0 till 63 procent, i Halland och Skåne varierade skadenivån från 9 till 67 procent respektive 5 till 25 procent angripna plantor (Tabell 3). Medelvärdet för andelen angripna plantor i Örebro län, Halland och Skåne var 21, 26 respektive 17 procent (Tabell 4). Medelvärdet för sjukdomsindex (SI) var 16, 20 och 11 i Örebro, Halland respektive Skåne (Tabell 4).

Ett samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan senaste rapsodling visas för samtliga regioner (Figur 5a), för Halland (Figur 5b), Skåne (Figur 5c) och för Örebro län (Figur 5d).

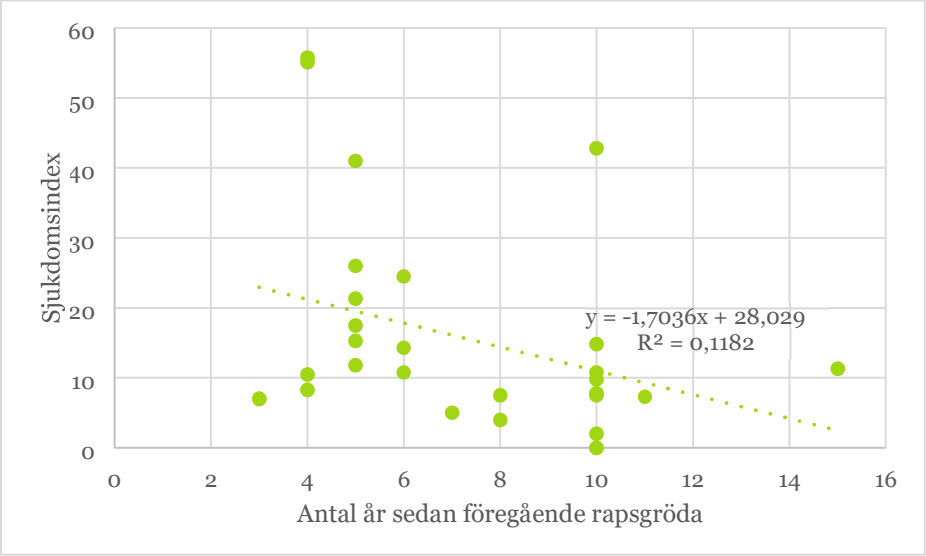
Tabell 3. Information om jordart, odlingshistorik av raps och annan mottaglig gröda. Skadebedömning av bomullsmögel uttryckt som procent angripna plantor och sjukdomsindex (SI) i 29 fält i Skåne, Halland och Örebro län 2019.

Område och fält	Jordart	Angrepp procent	SI	Raps odlades senast	År sedan senaste rapsodling	Annan mottaglig gröda odlades senast	Känd förekomst av angrepp i angränsande fält
Skåne							
Kävlinge 1	mmh LL	25	21,3	2013	5	Ärt 2012	
Kävlinge 2	mmh LL	25	17,5	2013	5		
Kävlinge 3	nmf LSa	20	14,8	Ej odlats	10		2017
Vellinge	mmh LL	20	11,3	>10år	10		
Eslöv 1	nmf Lsa	20	8,3	2014	4		
Eslöv 2	nmf lsa	15	10,5	2014	4		
Tygelsjö 1	mf LL	15	7,0	2015	3		
Tygelsjö 2	mf LL	15	7,0	2015	3		
Skivarp12	mmh lsa	12	7,8	2008	10	Ärt 2015	
Skivarp 2	mmh lsa	5	5,0	2011	7		
Medelvärde		17,2	11,0				
Halland							
Falkenberg 1	mmh LL	67	55,8	2014	4		2017
Falkenberg 2	nmh lMo	60	41,0	2013	5		2016, 2018
Falkenberg 3	mmh LL	33	26,0	2013	5		
Falkenberg 4	mmh LL	26	24,5	2012	6	Åkerbönor 2016	
Falkenberg 5	mr lmo	17	11,8	2013	5		

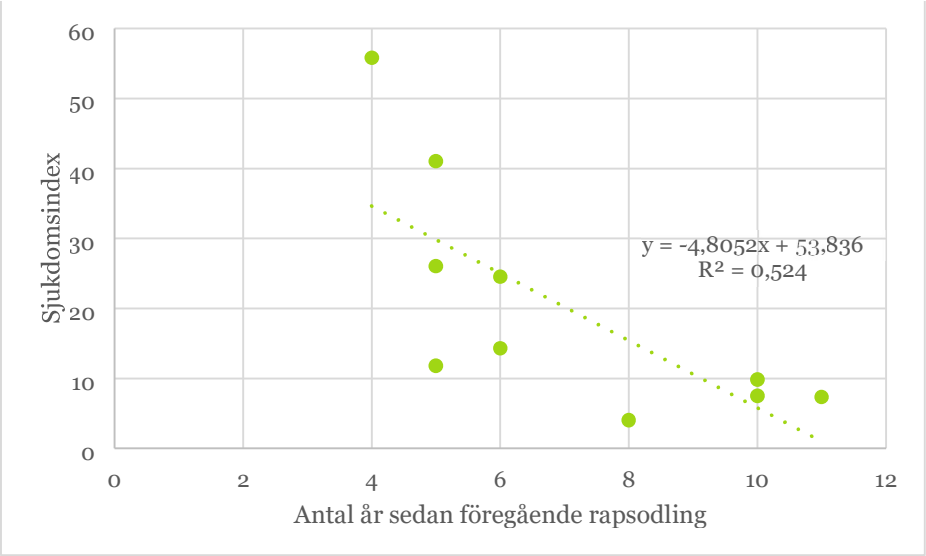
Falkenberg 6	mmh lmo	15	14,3	2012	6	Konservärter 2016
Falkenberg 7	mmh LL	13	7,3	2007	10	
Falkenberg 8	mmh LL	11	9,8	2008	10	Konservärter 2015
Falkenberg 9	mmh LL	10	4,0	>8 år sedan	8	
Falkenberg 10	mr lmo	9	7,5	>10 år sedan	10	Konservärter 2016
Medelvärde		26,1	20,2			
Örebro län						
Kumla 1	mm GL	63	55,1	2014	4	
Hallsberg 1	mmh lmo	54	42,8	2008	10	Ärter 2012
Örebro 1	nmh ML	21	10,8	>6 år sedan	6	
Örebro 2	nmh ML	18	10,8	>10 år sedan	10	
Kumla 2	nmh LL	16	15,3	2013	5	
Hallsberg 2	nmh lmo	16	7,5	>8 år sedan	8	
Kumla 3	mh mo	2	2,0	2004 (vårrybs)	10	
Örebro 3	nmh LL	0	0,0	>10 år sedan	10	
Örebro 4	nmh LL	0	0,0	>10 år sedan	10	
Medelvärde		21,1	16,0			

Tabell 4. Sammanställning av skadebedömning av bomullsmögel i fält under 2019 uttryckt som procentangripna plantor och sjukdomsindex (SI).

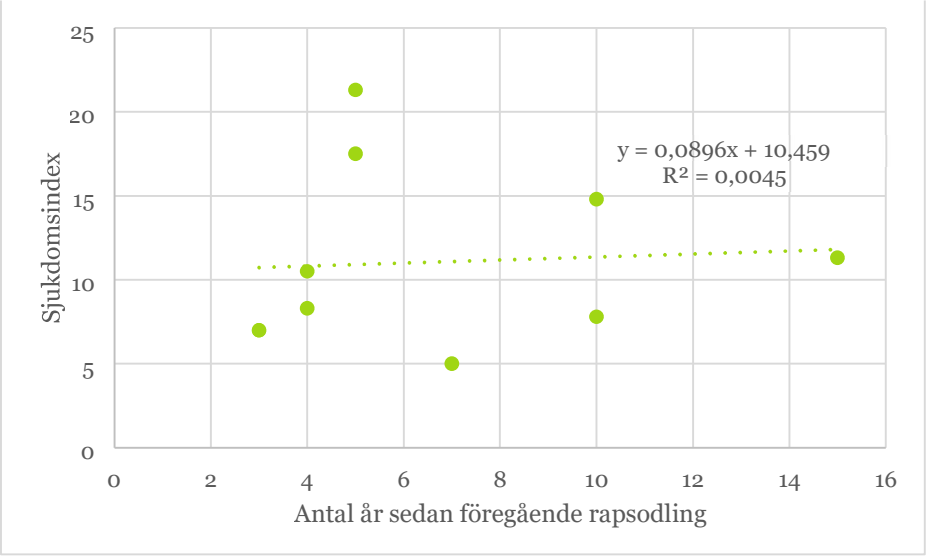
Område	**Angrepp bomullsmögel (procent)**			**Sjukdomsindex (SI)**		
	Medel	**Max.**	**Min.**	**Medel**	**Max.**	**Min.**
Skåne	17	25	5	11	21	5
Halland	26	67	9	20	56	4
Örebro	21	63	0	16	55	0



Figur 5a. Samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsgröda. Halland, Skåne och Örebro län, n=29. För samtliga fält är R^2 = 0,1182 vilket inte ger ett tydligt samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsodling.

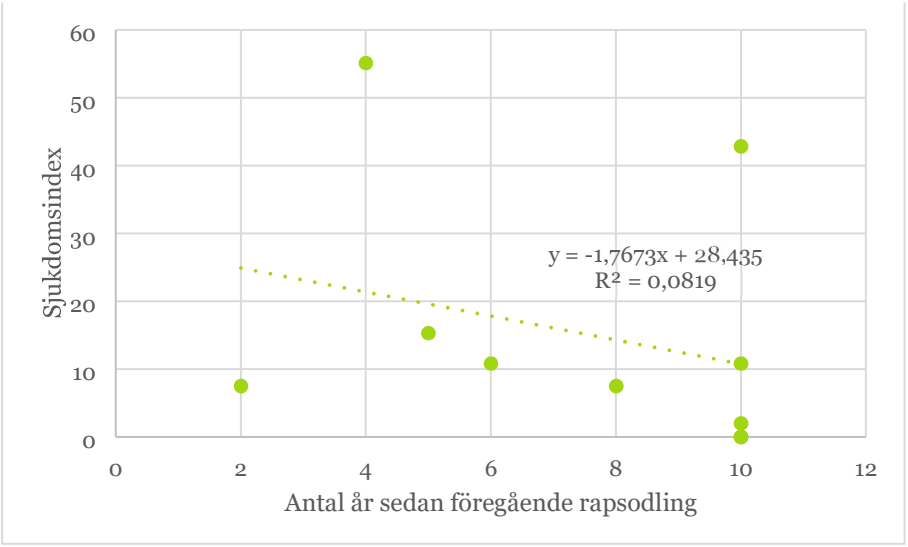


Figur 5b. Samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsgröda, Halland n=10. Sambandet mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsgröda odlades på fältet har ett R^2 = 0,524 vilket ger en bra förklaringsgrad.



Figur 5c. Samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsgröda, Skåne n=10. För fältet utan tidigare känd odling sattes 15 år

För fälten i Skåne saknas samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsodling då R^2= 0,0045. Tydliga avvikelser finns för några fält med förhållandevis höga angrepp med SI 21,3 repektive 17,5 efter fem års odlingsuppehåll (tabell 3) Bladtestade fält som Kävlinge 3 och Vellinge också visade höga värden för målkopior av DNA (tabell 6) trots att mer än 10 år förflutit sedan tidigare rapsodling eller att raps inte odlats alls. Angreppen i fält motsvarade SI 14,8 respektive 11,3.



Figur 5d. Samband mellan sjukdomsindex och antal år sedan föregående rapsgröda, Örebro län, n=9.

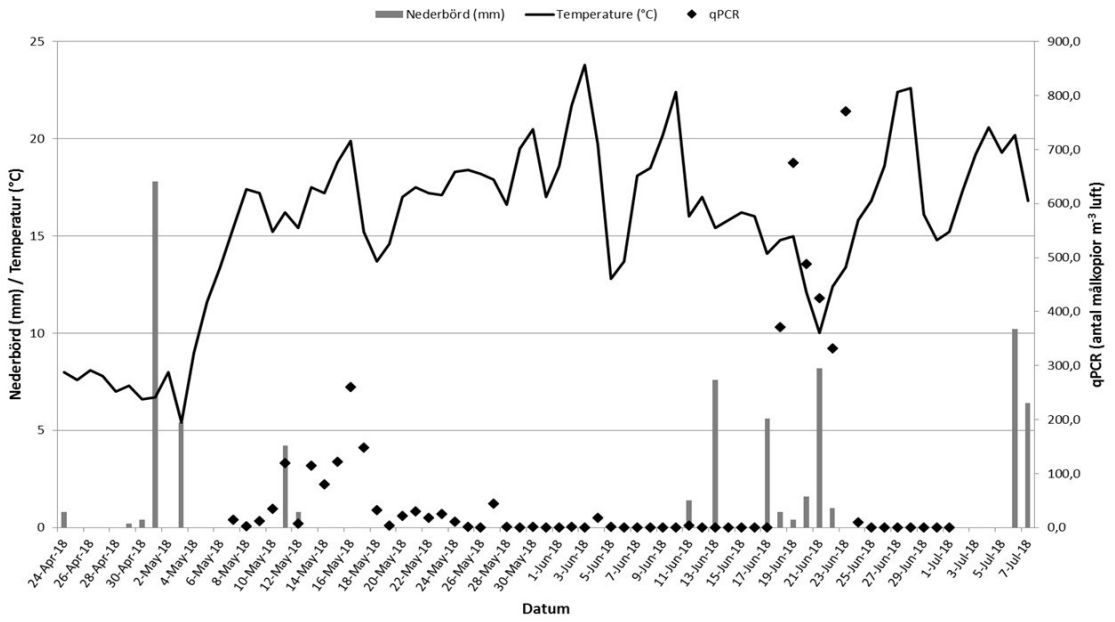
För fälten i Örebro län saknas också tydligt samband, då R^2= 0,0189. Här finns också några ”outliers” som avviker starkt från trendlinjen. En punkt från fältet Kumla 1 representerar ett fält där grödan drabbades av frost i maj och blomningen blev fördröjd.

3.2 Sporprover

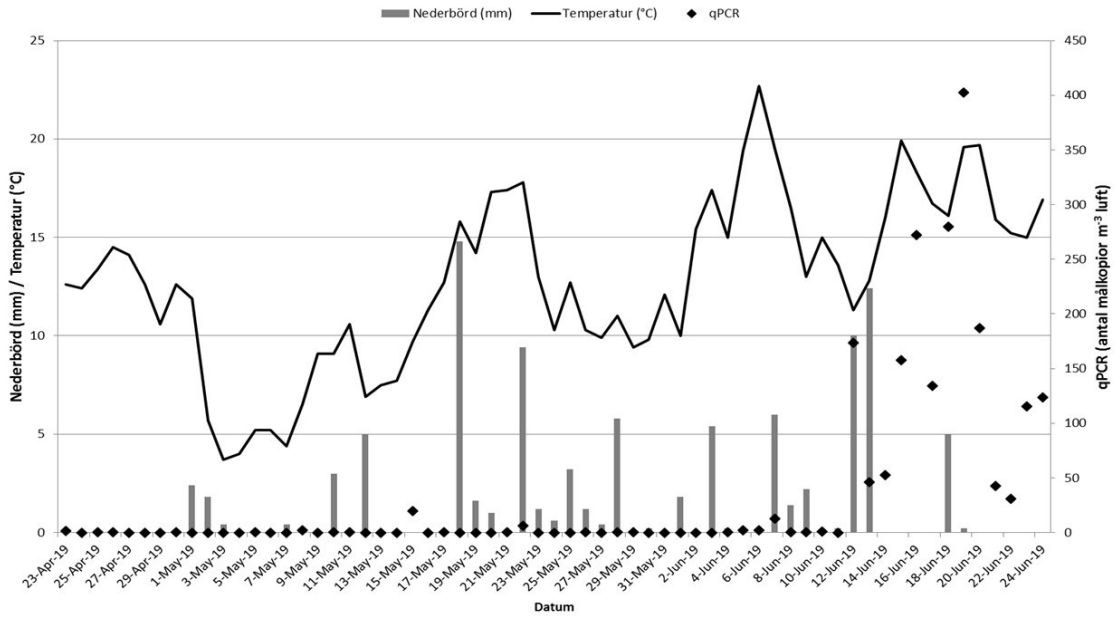
För att analysera mer i detalj när *S. sclerotiorum* sprider sina sporer samlades tejpprover in under vår och försommar 2018 och 2019 med hjälp av en sporfälla som placerats i ett rapsfält i Örebro. Dessa tejpprover analyserades för förekomsten av sporer från bomullsmögel i luften. DNA extraherades från tejpdelarna och proven analyserades sedan med qPCR för att detektera och kvantifiera mängden DNA från *S. sclerotiorum*. Data som erhållits vid analys av tejpproverna har kombinerats med klimatdata för att få större kunskap om under vilka klimatförhållanden som svampen frigör sporer. Resultaten från qPCR-analyserna visar att låga mängder av *S. sclerotiorum* detekterades vid första mättillfället som var 7 maj 2018 och 23 april 2019 (Tabell 5, Figur 6–9).

Tabell 5. Mätperiod för insamling av sporprover i med en Burkhard Spore trap i fält Örebro 1 (2018) och Hallsberg 1 (2019), datum för första detektionen, andel dagar med detektion, maximal detektion och datum för högsta detektion samt datum för insamling av bladprover

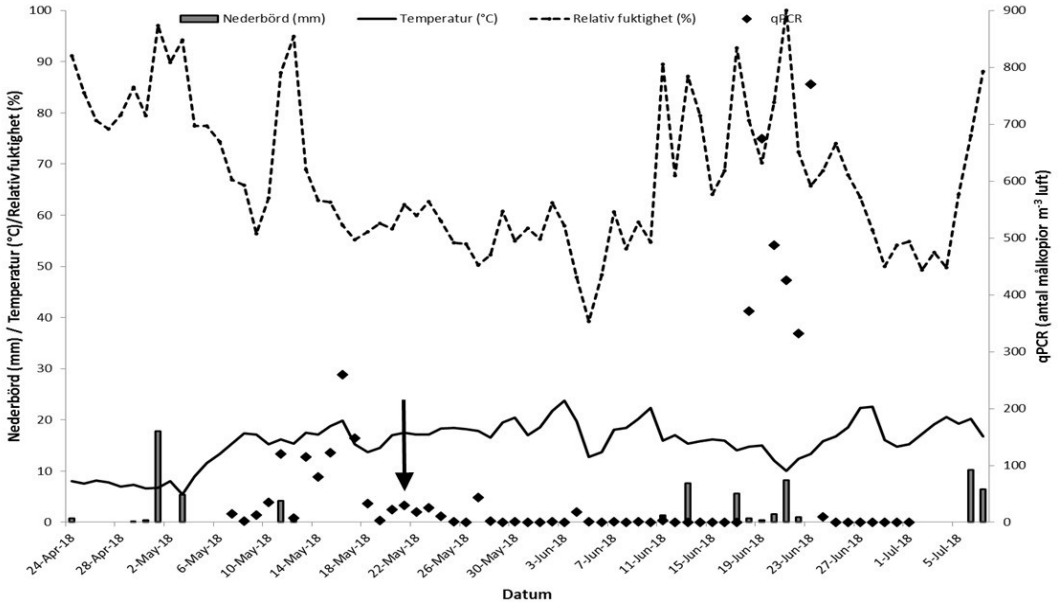
År	Mätperiod (antal dagar)	Första detektionen	Andel dagar med detektion (procent)	Högsta detektion (kopior per m^3 luft)	Högsta detektion (datum)	Insamling bladprover (datum)
					23 juni	21-29 maj
2018	7 maj–1 juli (56 dagar)	7 maj	75	771		
2019	23 april–24 juni (63 dagar)	23 april	35	403	19 juni	9 maj



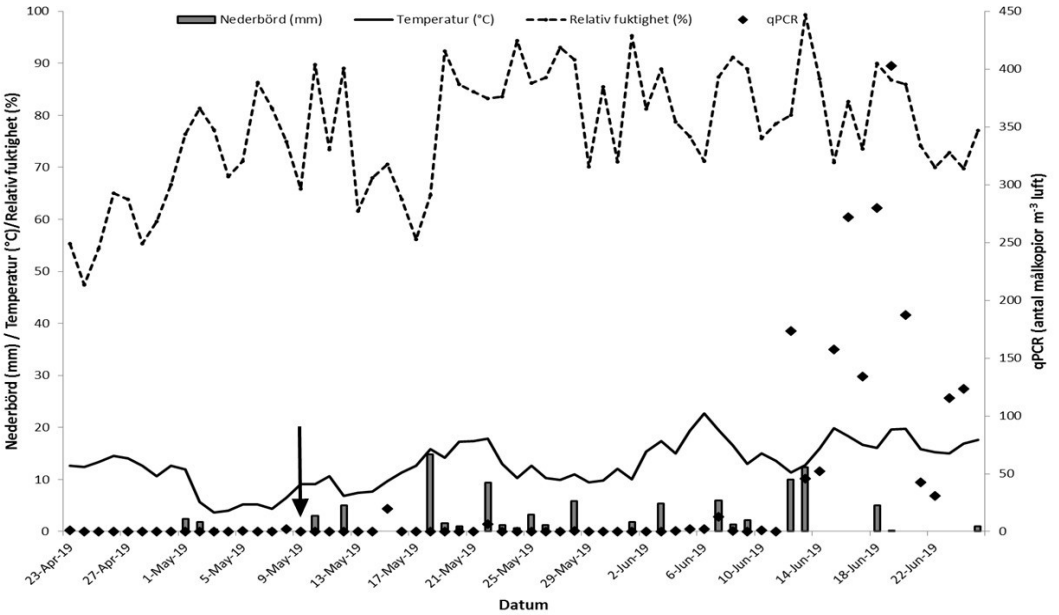
Figur 6. Klimatdata (nederbörd och temperatur) tillsammans med detekterad mängd av *Sclerotinia sclerotiorum* i luftprover 2018. Sporfällan var placerad i ett höstrapsfält i Örebro kommun (Ö1).



Figur 7. Klimatdata (nederbörd och temperatur) tillsammans med detekterad mängd av *Sclerotinia sclerotiorum* i luftprover 2019. Sporfällan var placerad i ett höstrapsfält i Hallsbergs kommun (H1).



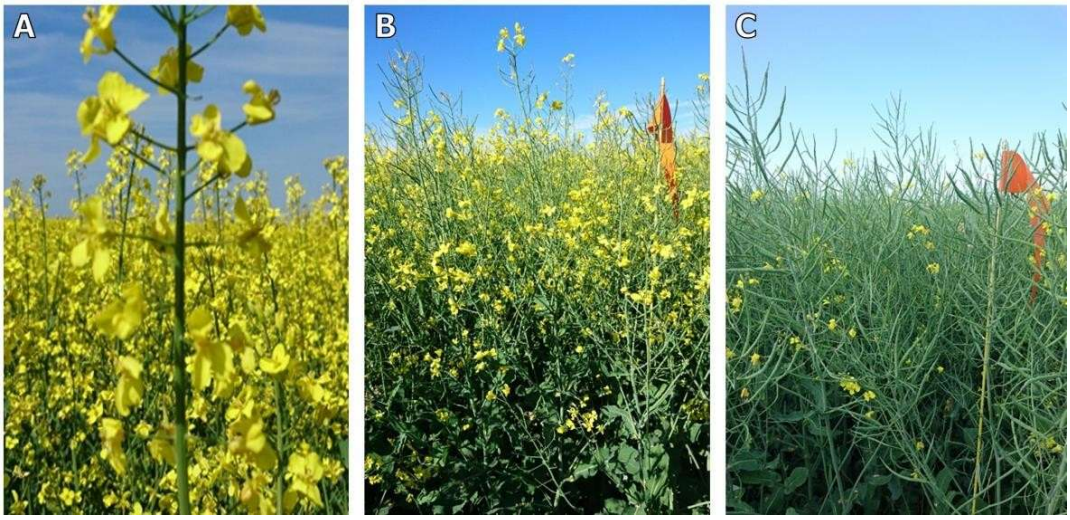
Figur 8. Sammanställning av resultat från sporprover av *Sclerotinia sclerotiorum* insamlade 2018 och nederbörd, temperatur och relativ luftfuktighet. Pilen i figuren visar när bladproven samlades in. Sporfällan var placerad i ett höstrapsfält i Örebro kommun (Ö1) (Samma data som i Figur 6 men med annan skala på grund av skalan för luftfuktighet).



Figur 9. Sammanställning av resultat från sporprover av *Sclerotinia sclerotiorum* insamlade 2019 och nederbörd, temperatur och relativ luftfuktighet. Pilen i figuren visar när bladproverna samlades in. Sporfällan var placerad i ett höstrapsfält, i Hallsbergs kommun (H1). (Samma data som i Figur 7 men med annan skala på grund av skalan för luftfuktighet).

Högsta detektion uppmättes 23 juni 2018 (771 kopior/m^3 luft) och 19 juni år 2019 (403 kopior/m^3 luft), Tabell 5. Under år 2018 syns en ökning av *S. sclerotiorum* vid två tillfällen under mätperioden (Figur 6, 8). En första lite mindre sporspridning i perioden 9–19 maj och ett större sporsläpp under perioden 18–24 juni (Figur 6, 8). Vid dessa ökningar av *S. sclerotiorum* DNA som detekteras i luften kan man se att nederbörd har fallit innan eller i direkt samband med den förhöjda detektionen (Figur 6, 8). Dygnstemperaturen innan, alternativt under perioden när de förhöjda nivåerna av *S. sclerotiorum* förekommer, överstiger oftast 15 grader (Figur 6, 8). Resultaten från 2019 visar att inga förhöjda nivåer av *S. sclerotiorum* detekterades innan 12 juni (Figur 7, 9). Trots relativt rikligt med nederbörd under maj så är den troliga anledningen till de låga nivåerna av *S. sclerotiorum* den låga temperaturen under denna period med en dygnstemperatur generellt under 15 grader (Figur 7, 9).

Tidpunkterna för blomning och mognad följdes kontinuerligt när trumman i sporfällan bytes samma veckodag och tidpunkt (Figur 10 a-c).



Figur 10. Blomningstidpunkter i höstrapsfältet i Örebro 2018. A) Full blom, 21 maj 2018. B) Avtagande blomning, 28 maj 2018. C) Fröskidorna börjas fyllas vid avslutande blomning, 4 juni. Foto: A-C Wallenhammar.

3.3 Bladprover

3.3.1 Insamling 2018

DNA extraherades från rapsblad insamlade från 9 fält 2018 och 11 fält 2019 och förekomsten av *S. sclerotiorum* analyseras med qPCR. Resultaten visar att det var relativt låg detektion av *S. sclerotiorum* på bladen insamlade 2018 i fälten från Skåne och Halland (Tabell 6). Däremot detekterade *S. sclerotiorum* i större utsträckning i fälten i Örebro-området, speciellt i fältet Ö1 där detektion uppvisades på nio av tio insamlade blad (Tabell 6) och maximalt antal genkopior var 1090 per blad. Trots att *S. sclerotiorum* detekterades i 90 % av bladproverna ledde inte detta

till sjukdomsangrepp i fältet (0 procent angripna plantor). Resultaten stämmer överens med de analyserade luftproverna (Figur 6, 8). Där kan man se ett första, lite mindre, sporsläpp i perioden 9–19 maj vilket resulterade i att *S. sclerotiorum* kunde detekteras på bladprover insamlade 21–29 maj.

Tabell 6. Odlingshistoriken på de provtagna fälten. Andel blad med detektion och kvantifiering (antal målkopior per blad) av *Sclerotinia sclerotiorum* med qPCR. DNA extrades från det lägst sittande bladet på rapsstjälken insamlade från 10 rapsplantor per fält 2018 och 2019.

År	**Område**	**Fält**	**Raps odlades senast**	**Andel blad med detektion**	**Antal målkopior/blad**		
				(%)	Medel	Min.	Max.
2018	Skåne	Vellinge	>10 år	20	80	10	150
		Kävlinge	>10 år	0	i.d[c]	i.d.	i.d.
		Oid	-	0	i.d.	i.d.	i.d.
	Halland	Varberg 1	2012 (vårraps)	10	34	34	34
		Falkenberg 1	2006, 2012 (konservärt)	30	51	125	13
		Falkenberg 2	2013 (vårraps)	20	49	71	27
	Örebro	Örebro 1	2012	90	318	1 090	43
		Örebro 2	>10 år, ärt 2015	20	38	45	31
		Örebro 3	>10 år	0	i.d.	i.d.	i.d.
2019	Skåne	Kävlinge 3	Ej odlats	60	1 123	5 424	36
		Vellinge	>10 år	100	9 205	55 739	589
	Halland	Falkenberg 1	2014	60	2 553	15 219	2
		Falkenberg 2	2013	100	33	57	7
		Falkenberg 8	2008	100	305	2 224	10
	Örebro	Kumla 1	2014	0	i.d.	i.d.	i.d.
		Hallsberg 1	2008	10	60	60	60
		Örebro 1	>6 år	20	24	41	6
		Kumla 2	2013	10	53	53	53
		Hallsberg 2	>8 år	0	i.d.	i.d.	i.d.
		Kumla 3	2004 (vårrybs)	20	111	171	51

[a] Minst två av tre tekniska replikat måste uppvisa detektion för att provet ska bedömas som positivt.
[b] Data från de prover som uppvisade detektion redovisas
[c] i.d. ingen detektion av *S. sclerotiorum*

3.3.2 Insamling 2019

För bladproverna insamlade i Skåne och Halland 2019 detekterades *S. sclerotiorum* DNA i 60 procent och 100 procent av proverna (Tabell 6). Mängden, antal genkopior per blad, var generellt mycket högre än mängderna som uppmättes för proverna från 2018 (Tabell 6). Bland Skåneproverna 2018 fanns *S. sclerotiorum* DNA i Vellingefältet, med mer än 10 år till föregående odling på samma fält, kan konstateras att ett fält i närheten (inte i direkt anslutning) var angripet av bomullsmögel 2016. Analyserna från Skåne 2019 visar höga förekomster, särskilt höga i Vellingefältet. Här konstateras att odlingen 2017 var omgärdad av flera rapsfält med bomullsmögelangrepp 2017 (Letheus, muntligen). I Kävlingefältet finns ingen känd rapsodling, men 2017 odlades raps på ett direkt angränsande fält där kraftiga angrepp av bomullsmögel förekom. Denna information om tidigare odlingar med angrepp på landskapsnivå, visar askosporernas förmåga att transporteras betydande sträckor. Bladproverna insamlade från fält i Örebroområdet visade detektion i fyra av sex analyserade fält däremot i låga nivåer (Tabell 6). Bladproverna från Örebro-området samlades in 9 maj och innan detta datum var dygnstemperaturen låg (Tabell 7 och 8).

Tabell 7. Klimatobservationer; temperatur, luftfuktighet, total nederbörd och solinstrålning två och fyra veckor innan insamling av rapsblad för qPCR-analys.

Område	Temperatur [a] (°C)		Luftfuktighet[a] procent		Total nederbörd[b] millimeter		Solinstrålning Mega Joule per kvadratmeter	
	2 v	4v	2 v	4v	2 v	4v	2 v	4v
Örebro[c]								
2019	9,1	7,7	68,6	64,7	5,0	5,0	23,1	21,8
2018a[d]	16,4	12,3	66,0	73,6	5,0	33,4	28,6	22,7
2018b[e]	17,6	15,1	57,7	67,6	0	28,6	34,1	27,8
Halland[f]								
2019	11,0	8,5	69,5	62,3	1,2	7,7	23,1	21,8
2018	17,4	17,8	69,1	66,3	10,9	20,4	26,3	27,7
Skåne[g]								
2019	8,7	9,9	75,5	74,7	15,8	23,0	16,5	15,5
2018	17,9	18,3	69,2	66,5	6,4	6,6	19,4	20,5

[a] Dygnsmedelvärde under perioden två och fyra veckor innan bladprovtagning. [b] Total nederbörd under perioden två och fyra veckor innan bladprovtagning. [c] Väderstation Säbulund LantMet [d]Rapsblad insamlat 21 maj Örebro 1 [e]Rapsblad insamlat 29 maj (Örebro 2 och Örebro 3) [f]Väderstation Långås LantMet [g]Väderstation Borgeby LantMet

Tabell 8. Temperaturobservationer; medeltemperatur, minimitemperatur och maximumtemperatur en, två och fyra veckor innan insamling av rapsblad för qPCR-analys

Område	Temperatur (grader)			Min. temperatur[b] (grader)			Min. temperatur[c] (grader)		
	1 v	2 v	4 v	1 v	2 v	4 v	1 v	2 v	4 v
Örebro[d]									
2019	5,0	9,1	7,7	-2,7	-2,7	-8,5	13,8	22,5	22,5
2018 a[e]	16,9	16,4	12,3	2,4	2,4	-1,3	30,3	30,3	30,3
2018 b[f]	18,3	17,6	15,1	4,2	2,4	-1,3	29,9	32,0	32,0
Halland[g]									
2019	11,3	11,0	8,5	6	0	-3,8	22,9	22,9	22,9
2018	16,3	17,4	17,8	11,8	10,2	7,2	22,2	26,1	29,0
Skåne[h]									
2019	9,7	8,7	9,9	0,1	-0,9	-0,9	20,5	20,5	24,4
2018	16,9	17,9	18,3	8,4	6,9	5,4	22,3	28,4	29,6

[a]Dygnsmedelvärde under perioden två och fyra veckor innan bladprovtagning.

[b]Minsta uppmätta temperaturen under perioden en, två och fyra veckor innan bladprovtagning.

[c]Högsta uppmätta temperaturen under perioden en, två och fyra veckor innan

[d]Väderstation Säbulund LantMet

[e]Rapsblad insamlat 21 maj (Örebro1)

[f]Rapsblad insamlat 29 maj (Örebro 2 och Örebro 3)

[g]Väderstation Långås LantMet [h]Väderstation Borgeby LantMet

4 Diskussion

Molekylär diagnostik kan vara mycket användbar för att förutsäga risken för angrepp av sjukdomar, för vilka mängden luftburen smitta eller när tidpunkten för sporspridningen är en viktig faktor för sjukdomsutveckling (West, 2008). Med stöd av en sporfälla placerad i höstrapsfält med naturlig smitta av *S. sclerotiorum* där dygnsfångster av luftprov och blad analyserats med qPCR, och avläsning av angrepp i obehandlade rutor i kommersiella höstrapsfält har vi samlat in data som ger en ökad förståelse för komplexiteten och förutsättningarna för att ett angrepp av bomullsmögel skall utvecklas.

Vi har följt sporspridningen från grödans knoppstadium under två säsonger i höstrapsfält i Örebro län. Båda åren förekommer ett tidigt sporsläpp i mitten av maj, i samband med begynnande blomning. Den stora sporspridningen sker runt den 20 juni båda åren, och vi den tidpunkten har rapsen blommat över (Figur 6 - 9). Angreppet i det fält där sporfällan placerades 2019, Kumla 2, motsvarade SI 15,3 och klassas som medelhögt (Wallenhammar et al., 2014). Genom den tidiga blomningen i förhållande till tidpunkten för huvudsporspridningen har grödan undgått ett kraftigt angrepp, något som vi sett i tidigare studier (Almquist och Wallenhammar 2014). Enligt tidigare uppfattning antogs källan till infektion vara askosporerna som sprids uppåt i beståndet till kronbladen, som sedan när de faller ner på bladen ger upphov till infektion ofta i plantans bladfäste (Figur 2). Detta bekräftades med agartester där förekomsten av sporer vidimerades på kronbladen (Turkington et al.1991). Agartester har också använts i Sverige för att identifiera infekterade kronblad, men en övertygande samstämmighet med fältangrepp kunde inte visas (Wallenhammar et al., 2007). DNA-teknik har öppnat nya vägar för att identifiera sporer av *S. sclerotiorum* på plantans olika delar. På sin väg uppåt i beståndet kan sporer också landa på bladen, vilket visats med DNA-teknik av Almqvist och Wallenhammar (2014). Dessa studier visade också att test av kronblad inte fungerade som indikator på förekomst av *S. sclerotiorum* DNA, då sporspridingen kan ske innan blomningen vilket visades i vårrapsfält. Analyser visade att DNA av *S. sclerotiorum* fanns på rapsplantans blad på olika bladnivåer men inte på kronbladen (Almquist och Wallenhammar, 2014). Vi valde i detta projekt därför att analysera det lägst sittande bladet som i den tidigare studien visade högst förekomst av DNA när plantans olika bladnivåer analyserades.

Under 2018 fanns förutsättningar för infektion då ett mindre sporsläpp bestämdes mellan den 1 och 20 maj (Figur 6 och 8) följt av en stor sporspridning med maximal nivå den 23 juni då närmare 800 genkopior per kubikmeterluft kvantifierades i höstrapsfältet i Örebro. Att bomullsmögel inte utvecklades 2018 i någon av regionerna beror i huvudsak generellt på höga temperaturer, liten nederbörd och låg luftfuktighet vilket inte gynnar infektionen av *S. sclerotiorum*. Studier från Storbritannien visar att höga temperaturer och hög relativ fuktighet är skadligt för sporernas överlevnad (Clarkson et al, 2017). För perioden 14 maj till 28 juni 2018 i Örebro-området var medeltemperaturen 17,6°C, medelluftfuktigheten 63,6 procent och den totala nederbörden 26,6 mm (Tabell 2). Dessa observationer kan jämföras med 2019 då medeltemperaturen under samma period var 14,8 °C, medelluftfuktigheten 80,5 procent och den totala nederbörden 86,2 mm (Tabell 2). 2019 var angreppen av bomullsmögel högre i Örebro län och i Halland som mest med 63 procent respektive 67 procent infekterade plantor med motsvarande sjukdomsindex 56 och 55, jämfört med fälten i Skåne där skadenivån varierade från 5 till 25 procent angripna plantor (Tabell 3) med motsvarande index på 5 och 19.

Flera olika orsaker till de regionala skillnaderna kan lyftas fram. I Halland och Örebro län förekom blandad odling av vårraps och höstraps samt en liten odling av vårrybs innan odlingen

av vårformerna dök 2015. Andelen vårraps var 2014 i Halland 31 procent och i Örebro län 46 procent medan andelen i Skåne var liten, endast 1 procent av totala oljeväxtarealen och där infektionsnivåerna är lägre och extremangrepp inte har påträffats. Genom årliga inventeringar i obehandlade rutor i vårraps har angrepp dokumenterats och variationen mellan år i medelangrepp är stor och orsakas av skillnader i klimat mellan åren (Redner och Wallenhammar, 2013).

Klimatdata för Halland och Skåne visar också att väderleksförhållandena under 2019 var mer gynnsamma för utvecklingen av bomullsmögel i jämförelse med 2018. Medeltemperaturen var 3,0 och 4,3 grader lägre under 2019 jämfört med 2018 (Tabell 2). Den totala nederbörden som föll från begynnande blom till två veckor innan skadebedömningen skiljde sig även markant mellan de båda åren. I Halland var den totala nederbörden under perioden 13,8 mm under 2018 och motsvarande siffra för 2019 var 125,8 mm. I Skåne var den totala nederbörden 11,8 mm och 81,2 mm för 2018 respektive 2019 (Tabell 2). En annan faktor som kan vara avgörande för sporernas överlevnad och i förlängningen utvecklingen av bomullsmögel är solstrålningens intensitet. Medelvärdet för solstrålning i Örebroområdet skiljde sig mellan de båda åren då värdet för den tidigare angivna perioden var 29,9 MJ/m^2 för 2018 och 23,1 MJ/m^2 för år 2019 (Tabell 2). I Skåne och Halland var solinstrålningen också högre under 2018 jämfört med 2019 (Tabell 2). Antalet infektionstimmar (minst 23 timmar i följd där den relativa fuktigheten överstiger 80 procent och temperaturen är högre än 7°C) från begynnande blom till två veckor innan skadebedömningen var 71 timmar 2018 i området Örebro (Tabell 2), medan antalet infektionstimmar för 2019 var 155 i området Örebro (Tabell 2). I både Halland och Skåne var antalet infektionstimmar noll under 2018. Däremot var det fler infektionstimmar under 2019, 78 timmar i Halland och 112 timmar i Skåne (Tabell 2).

Bladprover

DNA isolerades från rapsblad och förekomsten av bomullsmögel analyserades med qPCR. Under 2018 var detektionen av *S. sclerotiorum* relativt låg för proverna från Skåne och Halland medan detektionen var lite högre i Örebroområdet (Tabell 6). *S. sclerotiorum* detekterades i sex utav nio fält som analyserades 2018. I fältet Örebro 1 detekterades *S. sclerotiorum* i 90 % av bladproverna men trots detta så ledde det inte till något sjukdomsangrepp i fältet. Anledningen till att inga sjukdomsangrepp observerades trots att *S. sclerotiorum* detekterades på bladen insamlade under 2018 beror i huvudsak på generellt höga temperaturer, liten nederbörd och låg luftfuktighet vilket inte gynnar infektionen av *S. sclerotiorum* (detaljer beskrivet under skadebedömning). Temperaturer över 21 ℃ är generellt skadliga liksom hög relativ luftfuktighet och ultraviolett strålning (Clarkson et al., 2003) då sporerna är genomskinliga och saknar skydd. Att bladanalysen lyckas detektera *S. sclerotiorum* i stor utsträckning i fältet Örebro 1 stämmer med vad vi kan se från sporfällan (Figur 6 och 8), dvs att vi har en sporspridning innan bladen samlas in för analys. Innan maj månads ingång fanns det få dagar som var gynnsamma för svampen att gro och sprida sina sporer. Insamlingsdatum bestämdes utifrån rapsens utvecklingsstadium och togs i BBCH 61–63 vilket motsvarar att 10–30 procent av knopparna på toppskottet blommar. Anledningen till att vi har samlat in materialet vid denna tidpunkt är att vi vill utveckla en metod som kan fungera kommersiellt. Om en lantbrukare ska beställa ett test där förekomsten av bomullsmögel ska analyseras så måste svaret (och rådgivning) komma innan det är för sent att spruta med fungicider mot svampen. En fungicidbehandling måste göras innan symptomen är synliga i samband med blomning och optimal behandlingstidpunkt för att ge full täckning av plantan är i full blom (BBCH 65), då 50 procent av knopparna på toppskottet blommar. Behandlingen kan utföras fram till och med BBCH 69 enligt anvisningar från leverantören. Det är dock viktigt att optimera tidpunkten

för bladprovtagningen, och där krävs en varm period för att apotecier skall utvecklas givet att markfukt finns med följande sporspridning. I Örebro län gjordes provtagningen 2019 i begynnande blomning, men perioden innan var temperaturen låg och understeg 5 grader vilket gjorde att sporspridningen dröjde (Figur 7, 9), därav de låga förekomsterna på bladen. DNA av *S. sclerotiorum* påträffades dock i fyra av sex provtagna fält (Tabell 6). För fälten i Halland och Skåne detekterade *S. sclerotiorum* i alla fälten under 2019 (Tabell 6). Nivåerna för vissa av fälten var även väldigt höga där närmare 56 000 målkopior per blad påträffades i ett fält där raps inte odlats på mer än 10 år.

Angreppets storlek

Inga angrepp av bomullsmögel påträffades 2018 i något av de trettio fälten (fältvisa resultat visas ej här) som undersöktes i regionerna Örebro län, Halland och Skåne. Under 2019 varierade angreppen av bomullsmögel från 0 till 67 procent infekterade plantor (Tabell 3). I Örebro-området varierade angreppsnivån från 0 till 63 procent. I fälten i Halland och Skåne varierade skadenivån från 9 till 67 procent respektive 5 till 25 procent angripna plantor (Tabell 3). Medelvärdet för andelen angripna plantor i Örebro län, Halland och Skåne var 21, 26 respektive 17 % (Tabell 4). Medelvärdet för sjukdomsindex (SI) var 16, 20 och 11 i respektive område Örebro, Halland, Skåne (Tabell 4).

Sambandet mellan sjukdomsindex och antal år sedan senaste rapsodlingen för fälten i Halland (Figur 5b) visar ett linjärt samband där R^2 år 0,5. Sjukdomsindex är högre desto kortare avståndet i tid är till föregående odling, något som tidigare visades av Twengström (1998). Detta visar tydligt hur viktig kunskapen är om fältets odlingshistorik är i ett beslutsstöd, och det är av stor vikt att lantbrukaren följer upp fältangrepp i samband med skörd.

För fälten i Skåne och Örebro än finns avvikande punkter som gör att sambandet blir sämre (Figur 5c och 5d). För ett av fälten i Skåne 2019, Vellinge, där raps inte odlats tidigare kan angreppet härledas till sporspridning från direkt angränsande fält där höstraps odlats 2017 med angrepp av bomullsmögel. För fältet i Kävlinge 3 fanns angrepp i ett grannfält 2017. Detta har varit känt tidigare i internationell litteratur, och observerades och dokumenterades av Blackert (2017) i halländska odlingar och är en viktig faktor ta hänsyn till i ett beslut. Denna information om tidigare odlingar med angrepp på landskapsnivå, visar askosporernas förmåga att transporteras betydande sträckor, och är en viktig faktor att ta hänsyn till vid riskbedömning. Med en utvecklad synkronisering av spridning av tusentals sporer, skapar dessa en luftström som bär sporerna genom den stillastående luften runt apotecierna upp till atmosfäriska strömmar och nya infektionsplatser vilket visats av Roper et al. (2010).

Ett beslut beror på den ekonomiska skadan ett angrepp förväntas orsaka, och bestäms av rapspris och kostnaden för att köra (preparat och körskada, arbete). En analys två försök i försöksserien L-8540, fungicidbehandling i höstraps (Gunnarsson, 2019), med dokumenterade angrepp av bomullsmögel, ger indikationer på ekonomisk skadetröskel vid två olika skördenivåer. Vid en skördenivå på 4700 kg per ha och ett rapspris på 5 kr per kg motsvaras den ekonomiska skadetröskeln av ett sjukdomsindex (SI) på 5 och vid ett pris på 6 kr per kg frö sänks tröskeln till 4. Vid lägre skördenivåer är skadetröskeln högre, och vid en skördenivå på 3700 kg frö per ha motsvaras skadetröskeln av sjukdomsindex 11 vid ett fröpris på 5 kr, och av SI 9 vid ett fröpris på 6 kr.

En hållbar produktion kan uppnås först när vi kostnadseffektivt kan detektera och förutsäga risk för angrepp i varje enskilt rapsfält. Med ett rapspris på ca 5–6 kr per kg finns det utrymme för

att betala en bladanalys. Våra resultat visar att det fungerar bra att bestämma förekomst av smitta genom att analysera svampens DNA på rapsstjälkens nedersta blad, vilkets visats tidigare i vårraps (Almquist och Wallenhammar, 2014) där smittan var signifikant högre på plantans nedersta bland jämfört med det översta. Det är dock viktigt att vänta med bladprovtagningen tills medeltemperaturen överstiger +15 grader.

Bladanalyserna visade sporförekomst i fält där raps aldrig odlats (Kävlinge 3) samt i fält där tiden till föregående odling var 10år eller mer. Detta överensstämmer med resultat från ett tidigare projekt där DNA-baserade metoder validerades i 10 vårrapsfält i Örebro län, och *S. sclerotiorum* DNA detekterades på blad i fält där avståndet till föregående odling var 10 år eller mer (Wallenhammar et. al., 2014).

Beslutsstöd

Vi har identifierat en rad viktiga indikatorer som odlaren skall ta hänsyn till vid bedömning av bekämpningsbehov (Tabell 9).

Tabell 9. Indikatorer som påverkar utveckling av bomullsmögel i ett specifikt fält

Indikatorer	Händelse	Risknivå
På landskapsnivå Före blomning		
Nederbörd två veckor innan DC60	Vattenmättnad i markytan gynnar apotheciebildning	***
Dygnsmedeltemperatur 10 - 15 grader senaste veckan Dygnsmedeltemperatur >15 grader senaste veckan	Sporspridning Sporspridning	** ***
Är luftfuktigheten >70 % denna period?	Sporspridning och infektion	***
Under blomningen		
Förväntad nederbörd under blomningen	Gynnar infektion	***
Sporspridning sammanfaller med blomning	Sporer landar på kronblad	****
Fältspecifik information		
Bladanalys positiv	Om detektion finns S. sclerotiorum i fältet	*****
Antal år sedan föregående rapsodling (de senaste tio åren)	1–4 4–6 6–10	**** *** **
Kända angrepp i föregående odling	Sklerotierna finns kvar minst 10 år	****
Annan mottaglig gröda har odlats på fältet de senaste 10 åren, tex ärt	Sklerotier finns kvar	***
Angrepp i angränsande fält de senaste åren	Sporer sprids från detta fält	****

Slutsats och råd till näringen

Höstrapsodlingen ökar, framför allt på gårdar där raps odlas regelbundet. Ökad frekvens av raps i växtföljden ökar risken för angrepp av bomullsmögel i det specifika fältet, och i fält som ligger nära ett fält där angrepp förekommit ett tidigare år. Beslut om fungicidbehandling måste tas innan symtomen är synliga och kräver att odlaren gör en aktiv riskbedömning (Figur 11). Vi har använt moderna verktyg för riskbedömning baserade på analys av svamp-DNA. Riskbedömning baserad på analys av svampens DNA på de lägst sittande bladen är en effektiv metod för att lokalisera fältsmitta. Hur stort angreppet blir beror ytterst på väderleken, framför allt luftfuktigheten i beståndet, temperatur och solinstrålning under blomningen. Sporfällan har ökat förståelsen av hur lokala miljöfaktorer påverkar sporspridning och infektion. Analys av luftprover ger oss information om när sporspridningen startar på en bestämd lokal, och vi har sett att denna tidpunkt varierar mellan år. Detta är ett effektivt verktyg som kan ingå i växtskyddscentralernas rutiner. Sporfällor är ett verktyg som inte utnyttjas i prognosverksamhet eller uppföljning som vi anser har stor potential, och bör utvecklas vidare.

Riskvärdering baserad på DNA-analys av lägst sittande blad och fältets odlingshistorik presenteras. Fältbaserade tester har en stor potential, och fortsatt utveckling av snabbtest kan förenkla analysproceduren ytterligare. Utveckling av sporfällor och optimering av tekniken så att analyser dagligen kan sändas som textmeddelanden tillsammans med lokala väderprognoser kommer att vara hörnpelare i ett aktivt beslutsstöd.

Sammantaget ger projektets resultat en stor affärsnytta för lantbrukaren, då en fältbaserad sammanvägning av indikatorer förbättrar beslutsunderlaget i specifika fält, och en behovsanpassad fungicidbehandling minskar avtrycken i miljön.



Figur 11. Med stöd av framtagna indikatorer kan ett fältspecifikt beslut fattas om bekämpningsbehov i full blom. Foto: A-C Wallenhammar

5 Resultatförmedling

Resultaten har presenterats på följande möten och konferenser

Konferenser

Algerin, M., Tilevik, D., Wallenhammar, A-C. 2019. Detection of ascospore release of *Sclerotinia sclerotiorum* with real time PCR- an important tool in understanding .15th International Rapeseed Congress, Berlin, Tyskland, 16-19 June 2019. Abstract book. Muntlig presentation

Wallenhammar, A-C., Pettersson, M. 2019. Beslutsstöd för riskbedömning av bomullsmögel i höstraps. Mellansvenska Konferensen 4–5 december 2019, Örebro. Muntlig presentation

Beslutsstöd för riskbedömning av bomullsmögel. HIR-konferensen 3 oktober 2020 (digitalt möte)

Möten

Beslutsstöd för riskbedömning av bomullsmögel. VD-möte Hushållningssällskapens Förbund, Stockholm 24 maj 2019.

Beslutsstöd för riskbedömning av bomullsmögel. Svampa rapsen- Digitalt lunchmöte Sveriges Frö- och Oljeväxtodlare 5 maj 2021 (Digitalt möte)

Övriga informationsinsatser

Beslutsstöd för riskbedömning av bomullsmögel.

Digitalt möte för växtodlingsrådgivare vid HS Konsult AB 3 maj 2021.

Digitalt möte för Jordbruksverkets växtskyddskonsulenter, SFO och projektgruppen 4 maj 2021.

Digitalt möte för Jordbruksverkets växtskyddskonsulenter 24 november 2021.

Digitalt möte för Jordbruksverkets växtskyddskonsulenter, 24 januari 2022.

Planeringsmöte med Skanbi Intertek Diagnostics för att sätta upp en kommersiell metod för analys av *Sclerotinia sclerotiorum* 11 maj 2021.

På grund av rådande pandemi har fältaktiviteter uteblivit under 2020 och 2021. På Brunnby Lantbrukardagar medverkade Martin Pettersson 2019.

Föreläsning

Maria Algerin, föreläsning på Mastersprogrammet i Molekylär bioteknik, *Detection of plant pathogens using molecular techniques,* Högskolan i Skövde 2019–2021.

Examensarbete

Neeraj Patil, *Detection of Sclerotinia sclerotiorum using qPCR assays and comparison between three qPCR systems to check sensitivity*, Examensarbete kandidatnivå, 30 hp, Högskolan i Skövde, 2021.

6 Litteratur

Algerin, M., Tilevik, D., Wallenhammar, A-C. 2017. Detection of *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape using real-time PCR. 12th European Foundation for Plant Pathology (EFPP) and 10th French Society for Plant Pathology (SFP) Conference. Dunkerque, France, 29 May-2 June 2017. Book of Abstracts (236 pp), 83 (poster 14).

Almquist, C., Wallenhammar, A-C. 2014. Monitoring of plant and airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* in spring oilseed rape using real-time PCR. Plant Pathol,. DOI:10.111/ppa.12230

Caesar, A.J. and Pearson, R.C. (1983) Environmental Factors Affecting Survival of Ascospores of Sclerotinia sclerotiorum. Phytopathology, 73, 1024-1030. http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-73-1024

Clarkson, JP, Stavely, J., Phelps, K, Young, CS, Whipps, J. 2003. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. Mycol. Res. 107 (2):213-222. DOI: 10.1017/S095376203007159.

Del Rio, LE, Bradely, CA, Henson,RA, Endres, GJ, Hanson, BK, McKay, K, Halvorson, M., Porter, PM, Le Gare, DG, Lamey, HA. Impact of Sclerotinia Stem Rot on Yield of Canola. 2007. Plant Disease 91(2),191-194. DOI:10.1094/PDIS-91-2-019

Freeman, J., Ward, E., Calderon, C., McCartney, A. 2002. A polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of inoculum of Sclerotinia sclerotiorum. Eur. J. Plant Pathol. 108:877-886.

Gunnarsson, A., 2019. Svampbekämpning i rapsens blomning. Sverigeförösken 2019. 344-345.

Mila, A.I., Yang, X.B. 2008. Effects of Fluctuation Soil Temperature and Water Potential on Sclerotia Germination and Apothecial Production of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease. 92, 1, 78-82. Doi:10.1094/PDIS-92-2-0078

Redner, A., Wallenhammar, A-C. 2013. Bomullsmögel i våroljeväxter- fältets historik avgörande. HS Medlemskontakt, 3.

Roper, M., Seminara,A., Bandi, M.M., Cobb, A., Billard, H.R., Pringle, A. Dispersal of fungal spores on a cooperatively generated wind. PNAS. vol 107, 41. 17474-17479 Doi/10173/pnas1003577107

Turkington, T.K., Morall,R.A:A: Rude, S:V. 1991. Use of petal infestation to Forecast Sclerotinia Stem Rot of canola: The impact of diurnal and weather-related inoculum fluctuations. Can J of Plant Pathol. 13(4): 347-355.

Twengström, E., Sigvald, R., Juhen, J. 1998. Forecasting Sclerotinia stem rot in spring sown oilseed rape in Sweden. Crop Prot., 17, 405–11.

Wallenhammar, A-C., Almquist, C., Redner, A., Wallenhammar, A., Stoltz, E., Jonsson, A. 2014. Utveckling av beslutsstöd för riskbedömning av *Sclerotinia sclerotiorum* i

vårraps genom kvantifiering av luftburen smitta och studier av infektionsprocessen. Slutrapport projekt H0960195 Stiftelsen Lantbruksforskning. Hämtat 20 november 2021 från https://www.lantbruksforskning.se/projektbanken/utveckling-avbeslutsstod-for-riskbedomning-avscl/?page=1&app_year=2009&category=&pub_year=2014&search=&hide_ongoing=y es

Wallenhammar, A-C., Sjöberg, A., Redner, A. 2007. Development of methods improving precision of risk assessment of Sclerotinia stem rot in oilseed rape. Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, mars, 2007.'

West, J.S., Atkins, S.D., Emberlin, J., Fitt, B., D., L. 2008. PCR to predict risk of airborne diseases. Trends in Microbiol. 16, 380-387.

Zheng, X., Koopman, B., Ulber, B., Von Tiderman, A. A Global Survey on Diseases and Pests in Oilseed Rape- Current Challenges and Innovative Strategies of Control. Frontiers in Agronomy. 1 - 15. 2:590908. Doi:10. 33889/fagro.2020.590908.

Ann-Charlotte Wallenhammar
www.hushallningssallskapet.se | 018-56 04 00 | hskonsult@hushallningssallskapet.se