



Slutrapport angående projektet

” Bekämpningsstrategier mot hållbar produktion av jordgubbar i substrat med projekt nr 1605-1704”

Projekt ansvarig: *Sammar Khalil*

Medsökande: Birgitta Svensson

Institution för Biosystem och Teknologi, SLU, Box 103, 230 53 Alnarp, E-mail: sammar.khalil@slu.se

Projektets syfte och mål

Syftet med projektet är att möjliggöra en mer hållbar produktion av jordgubbar i substrat. Studien bidrar till en helhetssyn på system för biologisk kontroll mot rotsjukdomar i substratbaserad odling samt ger större precision vid användning av strategier inom integrerat växtskydd.

Detaljmålen

- 1- Undersöka substratets hämmande effekt på utveckling av rotsjukdomar i en kommersiell odling
- 2- Utvärdera förekomst av rotpatogener i en kommersiell odling
- 3- Följa utveckling av och identifiera grupper av mikroorganismer som kan förbättra effekten av (Binab®Bär) och/eller kaliumfosfit
- 4- Förmedling av kunskap till odlare och intressenter inom jordgubbsindustrin specifikt och trädgårdsnäringen i allmänhet

Slutsatser

De uppnådda resultaten visar på att

1. Binab och kaliumfosfit kan användas som effektiva bekämpningsstrategier i jordgubbsodling mot rotpatogener tillhörande *Phytophthora* svampar
2. Behandling med antingen Binab eller kaliumfosfit ökar halten av de nyttiga mikroorganismerna såsom *fluorescerande Pseudomonader*, *Trichoderma* och *Aktinomyces*, vilket i sin tur ökar substratets hämningsförmåga mot rotsjukdomar. Detta kunde uppnås både i pilotförsöket samt i kommersiell odling.
3. Tillsats av Binab eller kaliumfosfit i närvaro av rotpatogenen *Phytophthora cactorum* (PC) har positiv effekt på minskad mängd patogen i systemet.
4. Tillsats av Binab eller kaliumfosfit i närvaro av rotpatogenen PC har positiv effekt på planttillväxt och avkastning.
5. Kombinerad av kaliumfosfit och Binab i jämförelse med enskild behandling orsakar mer rotskador på grund av ökad förekomst av rotpatogener, lägre tillväxt samt lägre halt av nyttiga mikroorganismer.

Resultatförmedling och publikationer

Information om projektet presenterades på ett seminarium för gruppen Hortikulturell mikrobiologi. Rollup med information om projektet visades på Borgeby fältdagar i juni 2016. Presentation på Hooks odlardagar i november 2016 samt på Bär konferens i Riga januari 2017 utfördes. En kurs för odlare och rådgivare utfördes också hösten 2017. Resultaten kommer också att presenteras i

1- Nationella publikationer

-Viola: En publikation i Viola december 2017

- Faktablad:

- Resultaten presenterades i ett SLU faktablad.
- Resultaten presenterades också i ett faktablad inom ramen för faktablad informationsprojekt våren/ sommaren 2017, med titel: "Hållbara odlingssubstrat med sjukdomshämmade egenskaper för odling av grönsaker och bär i tunnlar och växthus".

2- Internationella Publikationer

- Manuskript: Plant and microbial growth of substrate cultivated strawberries as affected by potassium phosphite. Inskickas snart till publikation i Crop Protection

- Acta publikation: Planerad 2018/2019 inom ramen för XXX International Horticultural Congress: IHC2018 i Turkiet augusti 2018 (<http://www.ihc2018.org>)

Bakgrund

Jordgubbar är den viktigaste och mest värdefulla kultur i trädgårdsproduktion med ett uppskattat värde på 452 miljoner kronor, 2014 (JO 28 SM 1501). Odling av jordgubbar i tunnlar har varit av intresse under de senaste åren som ett sätt att förlänga odlingssäsongen. Behovet av att flytta tunnlarna på grund av markbrist och utarmning av jordar är en nackdel för produktion i tunnlar. Problemet kan lösas genom att skifta till en odling i begränsat substrat och som följd öka möjlighet för förlängda säsonger från Maj-okt (Svensson 2012). Det förutsätter dock ökad kunskap om bland annat och spridningen av rotpatogener, näringsstrategier, bevattningsstrategier och användningen av samma substrat i mer än en säsong.

Rotsjukdomar är ett allvarligt och återkommande problem som ofta sprids med infekterat plantmaterial. Odling av jordgubbar i substrat i tunnlar kan ge avsevärt högre avkastning än odling i jord men systemet är mycket känsligt för rotsjukdomar. Intresset för en utvecklad odling i substrat ökar parallellt med att tunnelodling blir mer omfattande. Kontroll av dessa patogener med hjälp av mikroorganismer har undersökts i olika studier (Elad et al 1981; Martin & Bull 2002, et al. Kurze 2001). Olika bakterie- och svampstammar med antagonistisk potential har använts (Elad et al. 1981; Kurze et al. 2001). Dessutom har den naturliga mikrofloran i odlingssubstrat visat sig vara ett effektivt verktyg för att kontrollera patogener hör till de ovannämnda släktena i substratodling (Vallance et al. 2011). I en så kallad suppressiva mekanism, den friska delen av mikrofloran har en antagonistisk effekt och kan inhibera förekomsten och utvecklingen av roten sjukdomar (Postma et al., 2000). Kunskapen om samspeltet mellan kaliumfosfit och mikroorganismer hos substratsodlade jordgubbar är ganska begränsad. I det aktuella projektet undersöktes den naturliga mikrofloran i samspel med biologiska växtskyddsmedlet Binab®Bär (*Trichoderma spp.* som aktiva isolat) och växtnäringensprodukten kaliumfosfit dels i kommersiell odling och dels i pilotprojekt i Trädgårdslabbet, Alnarp.

Hypotes och frågeställningar

Hypotes:

- Mikroorganismer som utvecklas i substrat i kommersiell odling kan hämma rotsjukdomar (suppressivt)
- Symbios som utvecklas med hjälp av Binab®Bär och kaliumfosfit kan kontrollera rotpatogener i substratodlade jordgubbar i tunnel
- Naturligt förekommande mikroorganismer med antagonistisk potential mot rotpatogener förekommer både i försöksodling och i kommersiell odling

Genomförande

Försöksodlingen utfördes under perioden juli- augusti med upprepning i september- oktober 2016 i tunnel vid Trädgårdslabb i Alnarp. Jordgubbssorter (*Fragaria* × *ananassa* cv. salsa) användes (bild 1). Efter diskussion med Anna Karin Nilsson på Eriksgården, Sjöbo, vid planering av försök valdes Rumba som försökssort. Dåligt växtmaterial på den sorten, som levererades från Holland i juni, och som också orsakade dålig tillväxt gjorde att försöken planerades om och försöksperioden ändrades än det som var planerat. Val av sorter utfördes därefter i samråd och diskussion med Eva Axelsson, Ringstads Gård, Norrköping och sorten salsa valdes in, (*Fragaria* × *ananassa* cv. Salsa). *Phytophthora cactorum* (PC) används som modellpatogen.



Foto: Sammar Khalil

Figur 1. Odlingssystemet som användes i försöken.

Behandlingar och odlingssystem

Projektet utfördes i två former:

- 1- Pilotprojekt: Effekten av Binab®Bär och växtnäringsprodukt kaliumfosfit, enskilt eller i kombination jämfördes. Behandlingar genomfördes med och utan närvaro av rotpatogen *Phytophthora cactorum* (PC). Undersökningen utfördes på jordgubbar odlade i torvsubstrat vid Trädgårdslaboratoriet, Alnarp.
- 2- Demonstrationsprojekt: Effekten av Binab eller kaliumfosfit på den naturliga mikroflora i substrat samt på förekomsten av rotpatogener tillhörande svamp släktet *Phytophthora* undersöktes.

I pilotprojektet, ett tunnelförsök utfördes som block försök med åtta behandlingar och varje behandling omfattade fyra replikat enligt följande:

- 1- Behandling med substrat utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit (kontroll)
- 2- Behandling med substrat med tillsats av rotpatogenen PC
- 3- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit
- 4- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit+ PC
- 5- Behandling med substrat med tillsats av Binab
- 6- Behandling med substrat med tillsats av Binab+ PC
- 7- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit+ Binab
- 8- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit+ Binab+ PC

Torv substrat användes. Upprepning i 3 block utfördes. Plantorna odlas i tråg med fyra plantor per tråg och droppbevattningssystem användes för näringsförsörjning (Figur 1). Standard näringslösning för jordgubbar användes och plantorna vattnades tre gånger om dagen i 10 minuter per gång vid soligt väder och en gång vid molnigt väder. Innan plantering doppades plantrötter i 0,3% kaliumfosfit blandning. Binab tillsattes som 1% suspension och blandades med substrat 24 timmar innan tillsats av plantor och kaliumfosfit. Rotpatogenen tillsattes i systemet 48 timmar efter tillsats av Binab. Plantorna odlades i två månader i första respektive andra upprepning.

Följande behandlingar ingick i demonstrationsprojektet:

- 1- Behandling med substrat utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit (kontroll)
- 2- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit

- 3- Behandling med substrat med tillsats av Binab
- 4- Behandling med substrat med tillsats av kaliumfosfit+ Binab

Försöken utförs med sex replikat per behandling. Plantorna odlas i tråg (container) med fyra plantor per tråg och bevattnas med standard näringslösning för jordgubbar. Plantering av jordgubbar (*Fragaria × ananassa* cv. Charlotte), A+-plantor, provtagning utfördes april-september.

Analyser

Följande analyser utfördes:

1- Pilotprojekt

Odlingsrelaterade parametrar

Plantornas tillväxt och utveckling registrerades en gång per vecka. Vid försöksavslutningen registrerades blad- och rotbiomassan (torr- och färskvikt) samt skörd med vägning av bär.

Växtpatologiska parametrar

I slutet av odlingsperioden undersöktes förekomsten av rotskador (skala 1-5) enligt Khalil et al. (2009). Sjukdomsangrepp mäts i form av ett så kallat sjukdomsindex, vilket är en gradering av hur sjuk roten är; 0 står för en helt frisk rot, medan 5 innebär att roten är död. Förekomsten av rotpatogener tillhörande svampsläktet *Phytophthora* i odlingssubstratet undersöktes med hjälp av PCR tekniken enligt beskrivning av Li et al. (2011). Provtagning sker en gång per månad under odlingsperioden.

Mikrobiologiska parametrar

Halten och bedömning av den naturliga mikrofloran i odlingssubstratet vid skörden bedömdes med hjälp av den molekylära analysmetoden TRLFP enligt (Elliott et al 2015).

2- Demonstrationsprojektet

Växtpatologiska parametrar

I slutet av odlingsperioden undersöktes förekomsten av rotskador (skala 1-5) enligt Khalil et al. (2009). Sjukdomsangrepp mäts i form av ett så kallat sjukdomsindex, vilket är en gradering av hur sjuk roten är; 0 står för en helt frisk rot, medan 5 innebär att roten är död. Förekomsten av rotpatogener tillhörande svampsläktet *Phytophthora* i odlingssubstratet undersöktes under odlingsperioden med hjälp av PCR tekniken enligt beskrivning av Li et al. (2011).

Mikrobiologiska parametrar

Halten och bedömning av den naturliga mikrofloran i odlingssubstratet bedömdes med hjälp av den molekylära analysmetoden TRLFP enligt (Elliott et al 2015). Provtagning utfördes en gång per månad under odlingsperioden.

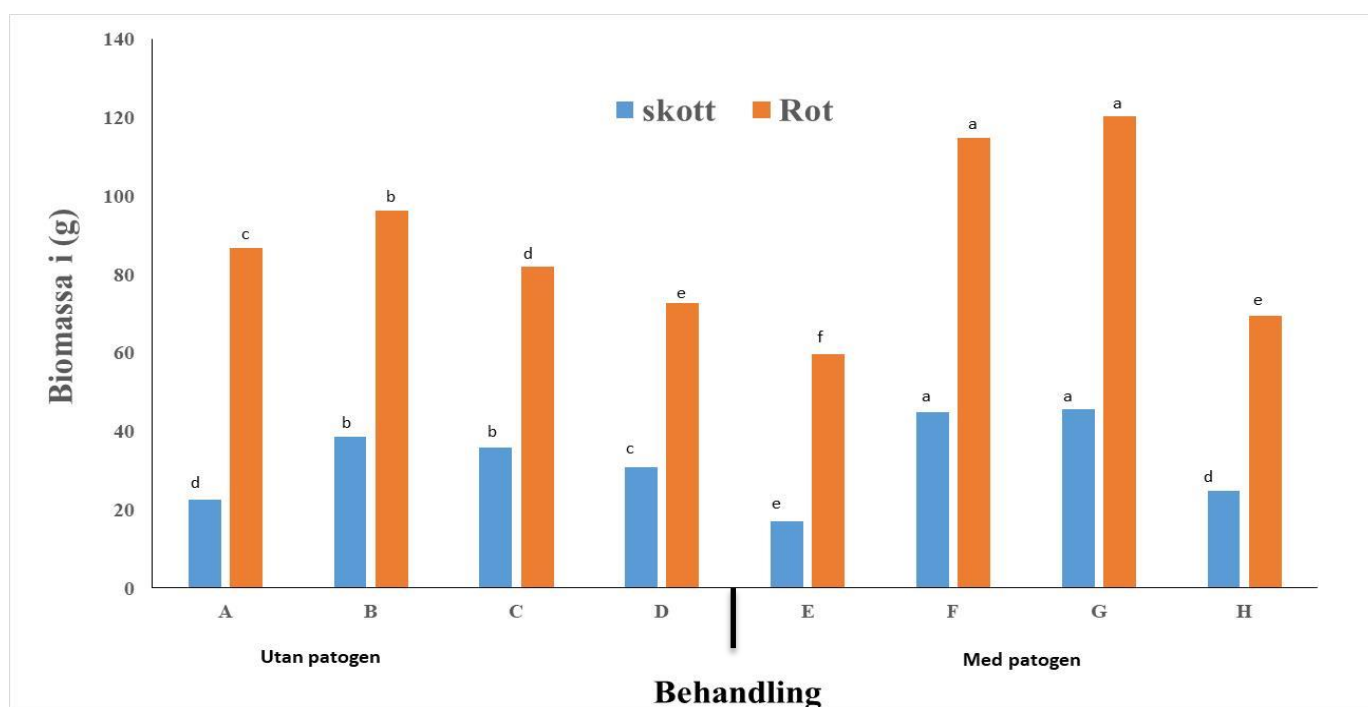
Resultat och diskussion

I pilotprojektet, inga signifikanta skillnader mellan blocken kunde indikeras. Resultaten från ett block är därför presenteras.

Effekt på planttillväxt

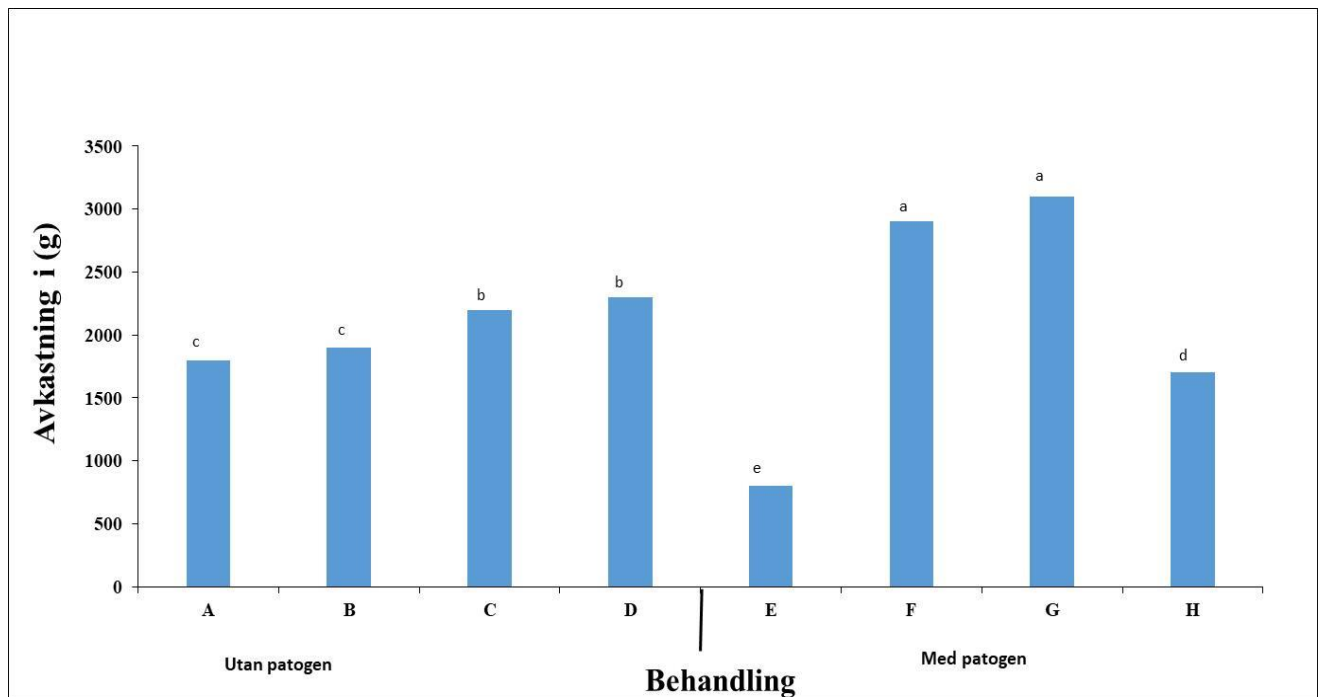
De utförda undersökningarna i pilotprojektet visade att tillsats av Binab påverkade planttillväxt. Jämfört med kontrollen, behandlingen med Binab i eller utan närvaro av

rotpatogenen PC indikerade bästa skott- och rottillväxt hos jordgubbsplantor (figur 2). Bästa tillväxt indikerades dessutom i behandling med kaliumfosfit i närvaro av PC. Effekten i behandlingarna med Binab beror på förmåga hos *Trichoderma* isolat att främja tillväxt. I samspel med patogener använder *Trichoderma* svampar bla tillväxtfrämjning som en mekanism för att bekämpa sjukdomar (Inbar et al. 2001). Denna mekanisms används också av fosfit grupper i bekämpning av patogener (Moor et al. 2009) vilket indikeras i behandling med kaliumfosfit i närvaro av rotpatogenen. Dock visade tillsats av kaliumfosfit utan närvaro av PC (behandling C) lägre effekt på planttillväxt. Däremot visade kombinationsbehandlingen med kaliumfosfit och Binab med eller utan närvaro av patogenen lägre tillväxt jämfört med enskilt tillsats av antingen Binab eller kaliumfosfit. Planttillväxt var lägst i behandling med enbart PC (behandling E). Minskad effekt vid kombinationen av dessa strategier behöver nog undersökas djupare med tanke på dosering, applikationsformen, etc.



Figur 2. Tillväxt av jordgubbsplantor i torv substrat efter behandling med Binab®Bär eller kaliumfosfit med och utan närvaro av rotpatogenen *Phytophthora cactorum* (PC). A= Kontroll behandling utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit, B= Behandling med Binab, C= Behandling med kaliumfosfite, D= Behandling med Binab+ kaliumfosfit, E= behandling med *Phytophthora cactorum* (PC), F= Behandling med Binab + PC, G= Behandling med kaliumfosfite + PC, H= Behandling med Binab + kaliumfosfit + PC.

Vid skörden mättes avkastningen (Figur 3) för varje behandling. Bästa avkastning hade behandling med antingen Binab eller kaliumfosfit i närvaro av PC jämfört med de andra behandlingarna. Lägsta skörden indikerades i behandlingen med enbart PC. Detta indikerar att båda Binab och kaliumfosfit har effekt inte bara på de vegetativa parameterna utan också den generativa.



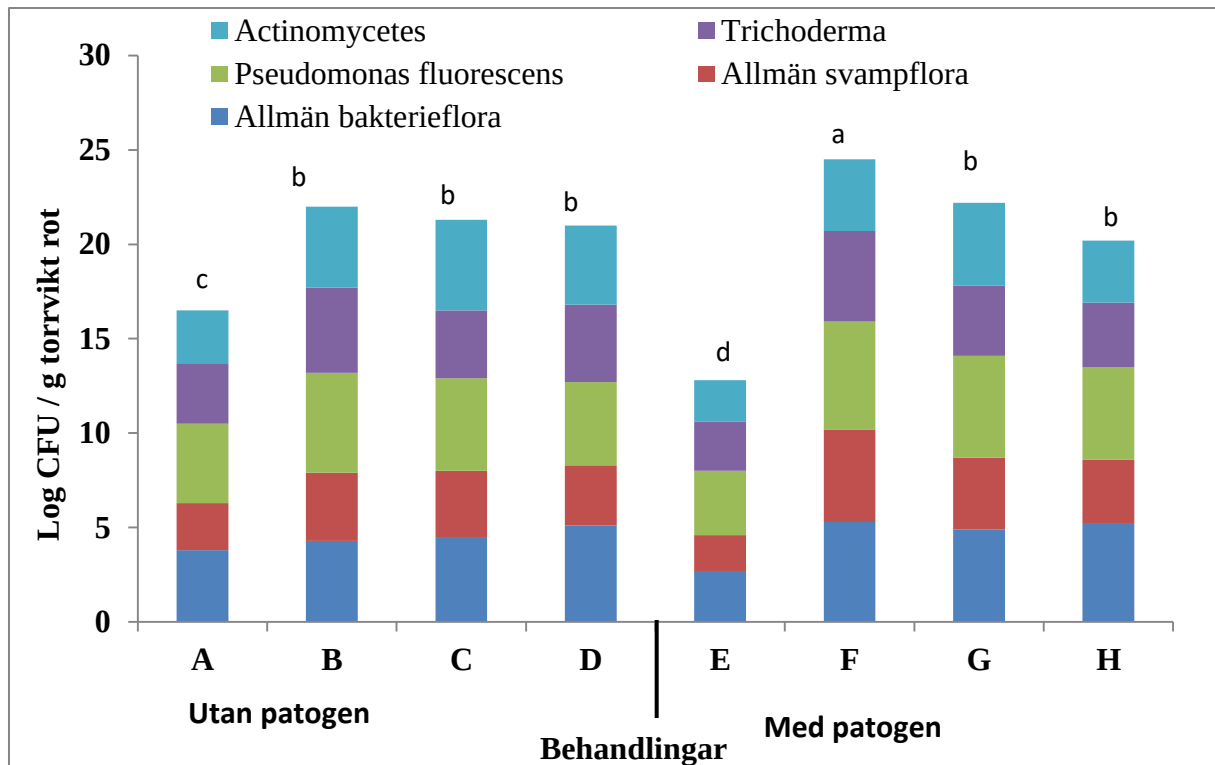
Figur 3: Avkastning i (g) hos jordgubbsplantor odlade i A= Kontroll behandling utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit, B= Behandling med Binab, C= Behandling med kaliumfosfite, D= Behandling med Binab+ kaliumfosfit, E= behandling med *Phytophthora cactorum* (PC), F= Behandling med Binab + PC, G= Behandling med kaliumfosfite + PC, H= Behandling med Binab + kaliumfosfit + PC.

Resultaten visar på att biomassan och skörden påverkas positivt vid tillsats av Binab eller kaliumfosfit i och utan närvaro av PC. Dock negativ effekt på dessa parametrar indikeras vid tillsats av kaliumfosfit tillsammans med Binab och PC. Något som är av stort intresse för vidare undersökning.

Effekt på mikroflora

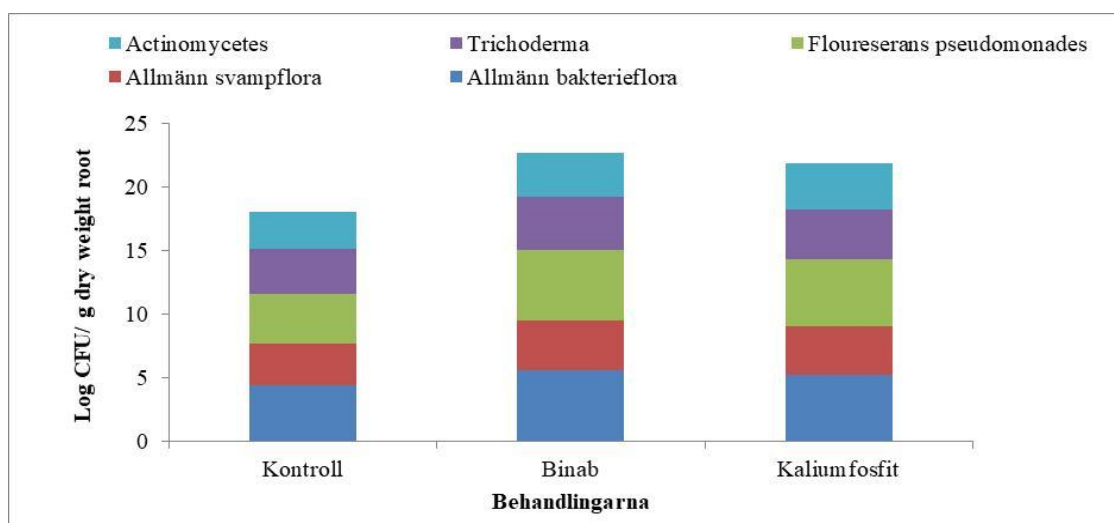
Rotprover samlades i slutet av odlingsperioden visade positiv effekt på de mikrobiella samhällena vid tillsats av kaliumfosfit och Binab enskilt eller i kombination med varandra. Denna effekt visade båda utan eller i närvaro av rotpatogenen, *P. cactorum* (Figur 4).

Tillsats av patogen med antingen Binab eller kaliumfosfit ökade mängd *Trichoderma*, *aktinomyceter*, *fluorescerande Pseudomonader* i substratet. Detta indikerar att samspillet mellan kaliumfosfit eller Binab och rotpatogenen främjar de nyttiga mikroorganismerna såsom *Trichoderma*, *aktinomyceter*, *fluorescerande Pseudomonader* som har stor antagonistisk samt tillväxtfrämjande effekt (Inbar et al. 2001).



Figur 4: Effekt av kaliumfosfit och Binab enskilt eller i kombination med varandra med eller utan närvaro av rotpatogenen *Phytophthora cactorum* (PC) på rotmikroflora hos jordgubbsplantor odlade i två månader. A= Kontroll behandling utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit, B= Behandling med Binab, C= Behandling med kaliumfosfite, D= Behandling med Binab+ kaliumfosfit, E= behandling med *Phytophthora cactorum* (PC), F= Behandling med Binab + PC, G= Behandling med kaliumfosfite + PC, H= Behandling med Binab + kaliumfosfit + PC.

Resultaten från demonstrationsprojektet indikerades att mängd mikroorganismer ökade i behandling med Binab respektive kalium fosfit i jämförelse med kontrollen. Ingen skillnad i mängd mikroorganismer i behandling med Binab jämfört med kaliumfosfit kunde dock indikeras (Figur 5).



Figur 5: Effekt av kaliumfosfit och Binab på rotmikroflora hos jordgubbsplantor odlade i fyra månader i ett kommersiellt odlingsystem.

Effekt på rotpatogener

Bedömning av rotskador i pilotprojektet följde skala 1-5 låg rötterna odlade i gammal torv med eller utan kaliumfosfit mellan 3- 5 där 3= mörkfärgade enskilda rötter, 4= mörkfärgade rotpartier och 5= totalt missfärgade rotsystem.

Resultaten från pilotprojektet visade på att rötter behandlade med kaliumfosfit låg mellan 1-3. Rötter behandlade med Binab låg mellan 0-2. Däremot låg rötterna behandlade med båda Binab och kaliumfosfit mellan 3-4. Detta indikerar att tillsatts av Binab och kaliumfosfit separat kan minska angrepp av rotpatogenen PC. Däremot är bekämpningseffekten svagare vid kombinationsbehandling.

Molekylära analysen med hjälp av qPCR på prover samlade efter fyra respektive åtta veckor från pilotprojektet visar på att mängd patogen i systemet var högst vid behandling med enbart PC (Tabell 1). Däremot minskades patogen mängden vid behandling med Binab eller kaliumfosfit. Lägst var den i proverna samlade i slutet av odlingsperioden i behandling med antingen Binab eller Kaliumfosfite. Patogen mängden var högre i proverna med kombinationsbehandling jämfört med individuell behandling med antingen Binab eller kaliumfosfit.

Proverna samlade i det kommersiella odlingssystemet (demonstrationsprojektet) under en period på fyra månader indikerade förekomst av rotpatogener tillhörande svamp släktet *Phytophthora* i kontroll behandling. Däremot indikerades ingen förekomst av rotpatogener i behandling med antingen Binab eller kaliumfosfite (Tabell 2).

Tabell 1: Effekt av kaliumfosfit och Binab enskilt eller i kombination med varandra med eller utan närvaro av rotpatogenen *Phytophthora cactorum* (PC) på mängd patogen hos 4- respektive 8-veckors gamla jordgubbsplantor odlade i substrat. Proverna är analyserade med hjälp av qPCR 4 respektive 8 veckor i två månader. A= Kontroll behandling utan tillsats av varken Binab eller kaliumfosfit, B= Behandling med Binab, C= Behandling med kaliumfosfite, D= Behandling med Binab+ kaliumfosfit, E= behandling med *Phytophthora cactorum* (PC), F= Behandling med Binab + PC, G= Behandling med kaliumfosfite + PC, H= Behandling med Binab + kaliumfosfit + PC.

Behandling		Mängd patogen , cfu/g torrsvikt substrat	
		after 4 weeks	after 8 weeks
Utan patogen	A	0	0
	B	0	0
	C	0	0
	D	0	0
Med patogen	E	38* 10 ^{4a}	4* 10 ^{6a}
	F	32* 10 ^{2b}	26* 10 ^c
	G	46* 10 ^{2b}	31* 10 ^c
	H	63* 10 ^{3c}	54* 10 ^{3b}

Tabell 2: Effekt av antigen kaliumfosfit eller Binab på förekomsten av rotpatogener tillhörande svampsläktet *Phytophthora* hos 1, 2, 3 respektive 4- månaders gamla jordgubbsplantor odlade i substrat.

Behandling	Mängd patogen i cfu/g substrat			
	1 månad	2månader	3månader	4månader
Kontroll	0	26	27	4 200
Binab	0	0	0	0
Kaliumfosfite	0	0	0	0

Framtiden

Resultaten från detta projekt visar att behandling med Binab eller kaliumfosfit kan främja tillväxt samt utveckla en positiv mikroflora i substrat som kan leda till hämmande effekt på rotpatogener. Dock är mekanismerna bakom samspelet mellan Binab eller kaliumfosfit och mikroorganismerna inte undersökta i detta projekt, något som bör undersökas vidare. Optimering av förhållanden i dessa substrat behövs för att nå en bättre bekämpningseffekt. Bevattningsstrategi är en aspekt som behövs undersöka. Lägre växtskydd och tillväxt vid kombinationsbehandling med Binab och kaliumfosfit är en till aspekt som behöver optimeras när det gäller bla dosering och applikationstekniken.

Litteratur

Litteratur

1. Elliott D.R., Caporn S. J. M., Nwaishi F., Nilsson R. H., Sen R. 2015. Bacterial and Fungal Communities in a Degraded Ombrotrophic Peatland Undergoing Natural and Managed Re-Vegetation. PLoS One 10(5): e0124726.
2. Fag X.L., You M.P. & Barbetti M.J. (2012). Reduced severity and impact of Fusarium wilt on strawberry by manipulation of soil pH, soil organic amendments and crop rotation. European Journal of plant pathology 134: 619-629
3. Fag X.L., Philips D., Li H. & Sivasithamparam K. (2011) Severity of crown and root diseases of strawberry and associated fungal and oomycete pathogens in Western Australia. Australian Journal of plant pathology 40:109-119
4. Hunter P. J., Petch G. M., Calvo-Bado L. A., Pettitt T.R., Parsons N.R., Morgan J. A. W. & Whipps, J.M. 2006. Differences in microbial activity and microbial populations of peat associated with suppression of damping-off disease caused by *Pythium sylvaticum*. Applied and environmental microbiology 72 6452-6460.
5. Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D. and Chet, I., 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. Eur J Plant Path 100, 337-346.

6. Khalil S. & Olsson O. 2013. Influence of micronutrients on the biological control of *Pythium ultimum* in a closed soilless system. *Canadian Journal of Plant Protection* 1 (4): 134-141
7. Khalil S. 2011. Influence of electrical conductivity on biological activity of *Pythium ultimum* and Binab T in a closed soilless system. *Journal of Plant Diseases and Protection* 118 (3/4), 102–108
8. Khalil S. & Alsanius B.W. 2011. Effect of growing medium water content on the biological control of root pathogens in a closed soilless system. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 86 (3) 298–304
9. Khalil S., Alsanius B.W., Hultberg M. (2009). Effect of growing media on the interaction between biocontrol agents and root pathogens in closed hydroponic system. *Journal of horticultural Science and Biotechnology* 84(5):489-494
10. Li M., Asano T., Suga H., Kageyanna K. (2011). A multiplex PCR for detection of *Phytophthora nicotiana* and *P. cactorum*, and Survey of their occurrence in strawberry production areas in japan. *Plant disease* 95:1270-1278
11. Moor, U., Pořldma, P., Tořnutare, T.N., Karp, K., Starast, M., Vool, E. 2009. Effect of phosphite fertilization on growth, yield and fruit composition of strawberries. *Scientia Horticulturae* 119: 264–269
12. Nilsson U. & Carlson-Nilsson U. (2003). Jord- och plantburna rotsjukdomar I svenska jordgubbsodling. SLF- rapport nr ISSN 1104-6082
13. Svensson B. (1994). Svampsjukdomar på jordgubbar. Faktablad om växtskydd. Trädgård
Utgivare: SLU Info/Växter
14. Nallanchakravarthula S. 2013. Root- Associated Microbial communities of different strawberry cultivars as influenced by soil type, *veticilium dahlie kleb.* and biofumigation. Doctorla thesis No. 2013:48
15. Vallance J., D'eniell F., Le Floch G., Gu'erin-Dubrana L., Blancard D., Rey P.2011. Pathogenic and beneficial microorganisms in soilless cultures. *Agronomy for Sustainable Development* 31:191–203.