



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för skoglig
mykologi och växtpatologi

Reducerade fungiciddoser vid bekämpning av potatisbladmögel

– Vilka blir följderna?

Reduced doses of fungicide for the control of potato late
blight

– What are the consequences?

Magnus Jönsson och Gabriella Olsson



Reducerade fungiciddoser vid bekämpning av potatisbladmögel

- Vilka blir följderna?

Reduced doses of fungicide for the control of potato late blight

- What are the consequences?

Magnus Jönsson och Gabriella Olsson

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

Btr handledare: Lina Sjöholm, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

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

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A1E

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi – magisterarbete, 30 hp

Kurskod: EX0732

Program/utbildning: Agronom mark/växt

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Omslagsbild: Potatisbladmögel på Kuras 2015. Foto: Gabriella Olsson

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

Nyckelord: potatisbladmögel, *Phytophthora infestans*, aggressivitet, fungicidtolerans, Infinito, Ranman Top, Revus Top

Key word: potato late blight, aggressiveness, fungicide tolerance, Infinito, Ranman Top, Revus Top

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap

Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Abstract

Potato late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans*, is the most devastating crop disease in potato crop globally and annually cost growers 5 billion USD in losses and control measures. Large quantities of fungicides are used for the control of potato late blight in order to avoid yield loss and to limit the risk of tuber blight. New fungicides have a better ability to achieve a good level of control at lower doses compared to older fungicides. A field trial was conducted to investigate if it is possible to lower the dose while maintaining both yield level and a good protection against tuber blight. In the trial, the control of potato late blight using full recommended dose of fungicide was compared to half recommended dose. Generally crop protection salesmen and farmers advice against using half the recommended fungicide dose for the control of potato late blight. It is alleged that this practice results in a selection of phenotypes of *P. infestans* which are more aggressive and have a higher fungicide tolerance. To examine if these claims are valid, isolates of *P. infestans* were collected from plots treated with full dose of fungicide (K2), half dose fungicide (K1) and untreated plots (K0). The collected isolates were tested for aggressiveness by measuring latency period, lesion growth and spore production. In addition, test for mycelial growth on agar amended with three levels fungicide were performed. Tests were carried out with all three fungicide used in the field trial; Infinito, Ranman Top and Revus Top. Microsatellites were used as markers to detect genotypic differentiation between the three sets of samples.

Results from the aggressiveness tests showed that no significant differences in aggressiveness could be found between the isolates from K2 and the isolates from K1. Only isolates from K0 were significantly less aggressive. The mycelial growth on fungicide amended agar was significantly higher for isolates from K2 in all tests except one dose level, in one fungicide. The differences in mycelia growth among isolates from K0 and K1 varied. The infection of *P. infestans* in the field trial was low and no differences in yield or occurrence of tuber blight were found. No genotypic differentiation was detected despite the significant differences in aggressiveness between samples collected from the different treatments. This indicates that the observed differences in phenotype are due to changes in the gene expression rather than in the population structure.

Collectively the results show that usage of half the recommended dose of fungicide did not increase aggressiveness, reduce yield, increase fungicide tolerance or occurrence of tuber blight in the field trial. Full dose however increased phenotypic fungicide tolerance.

Sammanfattning

Globalt sett är potatisbladmögel den mest förödande sjukdomen inom potatisodling och medför årligen kostnader på omkring 5 miljarder US dollar i utebliven produktion och kontrollåtgärder. Bladmögel orsakas av oomyceten *Phytophthora infestans*. Stora mängder fungicider används för att bekämpa potatisbladmögel för att undvika skördebortfall och minska risken för brunröta. Till skillnad från äldre preparat, uppnår moderna bladmögel-fungicider redan vid låga doser en bekämpningseffekt som är jämförbar med den vid full rekommenderad dos. För att belysa möjligheten att minska dosen samtidigt som samma skördenivå och låga förekomst av brunröta bibehålls genomförde Lyckeby Starch ett fältförsök 2015. I fältförsöket bekämpades bladmögel med full respektive halv rekommenderad fungiciddos. Växtskyddsförsäljare avråder ofta från bekämpning med reducerade fungiciddoser. Detta för att reducerade doser påstås selektera fram aggressivare och mer fungicidtolerant bladmögel. För att undersöka om dessa påståenden stämmer samlades isolat av *P. infestans* in från parceller behandlade med full dos (K2), halv dos (K1) och parceller som var obehandlade (K0). De insamlade isolaten undersöktes på laboratorium för aggressivitet genom att mäta latenstid, lesionstillväxt och sporproduktion. Dessutom mättes isolatens myceltillväxt på agar där tre olika nivåer av fungicid hade tillsatts. Alla tre fungiciderna som ingick i bekämpningsprogrammet i fältförsöket; Infinito, Ranman Top och Revus Top, undersöktes. Genotyp bestämdes med mikrosatelliter för att utreda om populationsstrukturen skiljde mellan de olika leden.

Aggressivitetstesterna visade att det inte fanns några skillnader i aggressivitet mellan isolat från K2 respektive K1. Endast isolat från K0 hade signifikant lägre aggressivitet. Myceltillväxten på agar där fungicid hade tillsatts var signifikant högre för K2 i alla led förutom en dosnivå för ett preparat. Skillnaderna i tillväxt mellan K1 och K0 varierade. I fältförsöket var skillnaderna i bladmögelangrepp små och inga skillnader i skörd eller i förekomst av brunröta uppmättes. Ingen genetisk populationsdifferentiering detekterades, trots signifikanta skillnader i aggressivitet mellan isolaten som samlats in från de olika behandlingarna. Detta tyder på att skillnaderna i fenotyp beror på en förändring i genuttrycket snarare än förändring i populationsstruktur.

Sammantaget visar resultaten att halverade doser, inte ger aggressivare bladmögel, lägre skörd, högre fungicidtolerans och större förekomst av brunröta i fältförsöket. Däremot selekterade full dos fram fenotyper med högre fungicidtolerans.

Innehållsförteckning

| | |
|---|-----------|
| Förkortningar | 7 |
| 1 Inledning | 8 |
| 2 Syfte | 9 |
| 2.1 Avgränsningar | 9 |
| 3 Bakgrund | 10 |
| 3.1 <i>Phytophthora infestans</i> historia | 10 |
| 3.2 <i>Phytophthora infestans</i> livscykel | 11 |
| 3.3 Verkningsmekanismer hos fungicider | 13 |
| 3.3.1 Infinito | 13 |
| 3.3.2 Ranman Top | 14 |
| 3.3.3 Revus Top | 14 |
| 3.4 Aggressivitetstester | 14 |
| 3.5 Effektorer och R-gener | 15 |
| 3.6 Populationsstudier | 16 |
| 3.6.1 Mikrosatelliter, SSR (Simple sequence repeat) | 17 |
| 3.7 Brunröta och bladmögel – samspel? | 17 |
| 4 Bakgrund till fältförsök | 19 |
| 4.1 Tidigare försök | 19 |
| 4.1.1 Dos-responskurvor | 20 |
| 4.2 Försöksupplägg av det studerade fältförsöket | 21 |
| 5 Material och metod | 22 |
| 5.1 Insamling av material | 22 |
| 5.2 Aggressivitetstester | 22 |
| 5.3 Genotypning | 25 |
| 5.4 Fungicidtester | 27 |
| 5.5 Bestämning av parningstyp | 28 |
| 5.6 Statistik | 28 |
| 6 Resultat | 30 |
| 6.1 Ekonomi – skörderesultat, bladmögelförekomst i fältförsöket | 30 |
| 6.1.1 Bestämning av parningstyp | 33 |
| 6.2 Aggressivitetstester | 34 |
| 6.2.1 Latenstid | 34 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 6.2.2 | Area per lesion (mm ²) | 35 |
| 6.2.3 | Antal sporer per mm ² | 35 |
| 6.2.4 | Antal sporer per blad | 36 |
| 6.3 | Genotypning | 36 |
| 6.4 | Fungicidstester | 39 |
| 6.4.1 | Infinito | 39 |
| 6.4.2 | Ranman Top | 41 |
| 6.4.3 | Revus Top | 43 |
| 6.4.4 | Sammanställning av samtliga preparat | 45 |
| 7 | Diskussion och slutsatser | 48 |
| 7.1 | Aggressivitetstester | 48 |
| 7.2 | Fungicidtester | 49 |
| 7.3 | Fältförsöket | 50 |
| 7.4 | Genotypning | 51 |
| 7.5 | Sammanfattande diskussion och slutsatser | 51 |
| 7.6 | Forskningsbehov | 53 |
| 8 | Referenslista | 54 |
| 9 | Tackord | 61 |

Förkortningar

K0: isolat från parceller som är obehandlade

K1: isolat från parceller bekämpade med 50 % av rekommenderad dos

K2: isolat från parceller bekämpade med 100 % av rekommenderad dos

PCR: Polymerase Chain Reaction

Isolat: enskilt renodlat prov av *Phytophthora infestans*

Lesion: fläck på blad orsakad av infektion av *Phytophthora infestans*

1 Inledning

Potatisbladmögel orsakas av en oomycet, *Phytophthora infestans*, som bland odlade grödor angriper potatis och tomat (Agrios, 1988). Globalt sett är potatisbladmögel den mest förödande sjukdomen inom potatisodling och medför årligen kostnader på omkring 5 miljarder US dollar i utebliven produktion och kontrollåtgärder (Judelson & Blanco, 2005). Alla delar av potatisplantan är mottagliga för infektion av *P. infestans* vilket gör att sjukdomen förtjänar sitt namn ”plant destroyer” (Fry, 2008).

För att bekämpa sjukdomen i kommersiell potatisodling används stora mängder av fungicider, men bekämpningsbehovet varierar dock. En viktig faktor är olika potatissorters motståndskraft mot *P. infestans*. Risken för angrepp är också starkt kopplat till väder och förekomst av angrepp i närområdet. Det borde därför vara möjligt att anpassa dosen för vilket skulle vara önskvärt för att reducera fungicid-användningen och för att öka lönsamheten i lantbrukarens odling.

För att undersöka möjligheten att reducera fungiciddoserna i stärkelsepotatisodlingen beslöt sig Lyckeby Starch att beställa ett fältförsök som genomfördes under 2015 där full och halv dos fungicid testades.

I diskussioner kring reducerade doser argumenterar en del för att reducerade doser leder till selektion mot aggressivare *P. infestans* jämfört med om full dos används genomgående. För att studera detta samlades prover av potatisbladmögel in från de olika behandlingarna (obehandlat, hel fungiciddos och halv fungiciddos) i fältförsöket. Proverna undersöktes avseende fenotyp (aggressivitet) och genotyp (mikrosatellitmarkörer). För att ytterligare utreda effekterna av eventuell selektion undersöktes om isolaten som samlats in i försöksrutor med full respektive halv dos hade olika förmåga att tolerera fungicider.

2 Syfte

Arbetets syfte är att undersöka möjligheten att reducera fungiciddosen till 50 % av den rekommenderade dosen vid bekämpning av potatisbladmögel i stärkelsepotatis samt vilka följder halverade doser kan ha gällande aggressivitet hos *P. infestans*. De hypoteser som arbetet utgår ifrån är:

(I) Halv rekommenderad fungiciddos vid bekämpning av potatisbladmögel ger lika hög skörd som fulla doser.

(II) Bekämpning av potatisbladmögel med full rekommenderad fungiciddos selekterar fram vissa genotyper.

(III) Bekämpning av potatisbladmögel med halv rekommenderad fungiciddos selekterar inte fram mera aggressiva fenotyper av *Phytophthora infestans* jämfört med full dos.

(IV) Bekämpning av potatisbladmögel med halv rekommenderad fungiciddos selekterar inte fram fler fungicidtoleranta fenotyper av *Phytophthora infestans* jämfört med full dos.

2.1 Avgränsningar

I arbetet har endast isolat från en av sorterna i fältförsöket (Kuras) genotypbestämts, fungicidtestats och aggressivitetstestats. I fungicidtestet jämförs inte preparatens effekt. Det som undersöks är istället tillväxten hos isolaten inom KO (insamlade i obehandlat led), K1 (insamlade i led behandlat med halv dos) och K2 (insamlade i led behandlat med full dos). Fungiciddoserna i testet kan inte relateras till fältdos.

3 Bakgrund

3.1 *Phytophthora infestans* historia

Phytophthora infestans är en viktig orsak till ”The Great Potato Famine” på Irland 1845-1849 (Turner, 2005). Uppskattningsvis dog 1,5 miljon irländare och ungefär lika många emigrerade framförallt till USA (Agrios, 1988). År 1861 kunde Anton deBary bevisa att potatisbladmögel orsakas av en organism som då antogs vara en svamp (Agrios, 1988). I Kungliga lantbruksakademins handlingar och tidskrift från 1916 beskriver Jakob Eriksson sjukdomen ”I bägge fallen kommer utbrottet helt plötsligt och svampen har inom mycket kort tid, högst 3-4 dagar, tagit i besittning en överraskande stor yta av det angripna organet, i ena fallet stammen och i det andra bladet” (Eriksson, 1916).

Senare konstaterades det att *P. infestans* har två parningstyper; A1 och A2 (Gallego & Galindo, 1958). Framtill 1980-talet förekom endast parningstyp A1 globalt, med utantag för centrala Mexico där parningstyp A1 och A2 samexisterade. Det innebär att möjligheten för sexuell reproduktion inte förkom utanför centrala Mexico (Fry *et al.*, 1992). Vintern 1976-1977 ankom en skeppslast (25 000 ton) potatis från Mexico till Europa som innehöll knölar smittade av individer av *P. infestans* med parningstyp A2 (Lucas *et al.*, 1991). Dessa nya genotyper etablerade sig och spred snabbt den nya parningstypen i Europa. I Västeuropa är dock populationerna fortfarande klonala med begränsad genotypisk diversitet och sexuell reproduktion av *P. infestans* är ovanligt (Flier *et al.*, 2007). Dock visar Cooke *et al.*, (2012) att det förekommer drastiska skiften mellan vilka klonala linjer som dominerar.

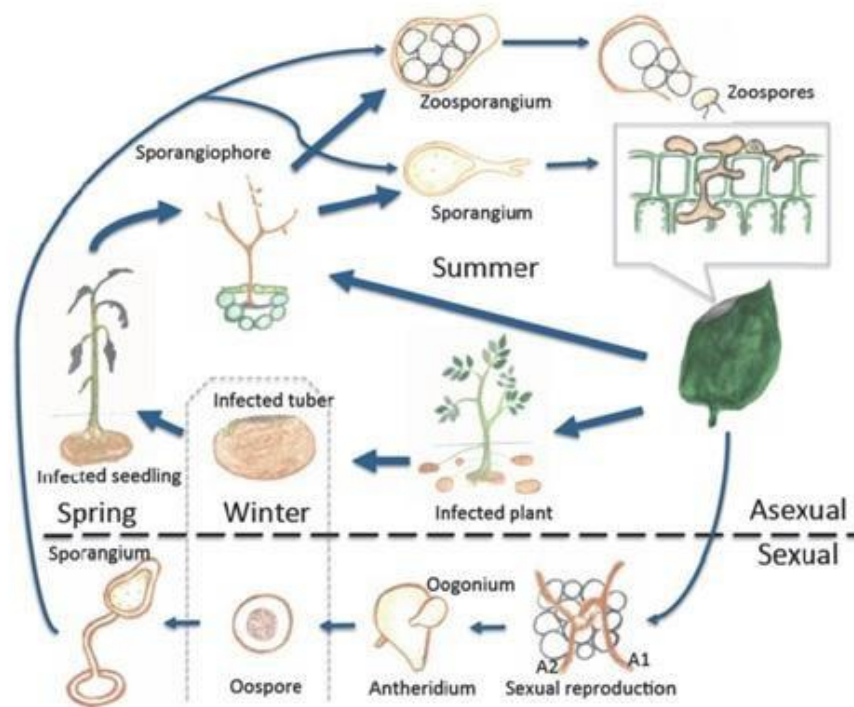
Det är främst i Norden som de båda parningstyperna förekommer i lika proportioner vilket innebär att förutsättningar för sexuell förökning finns (Brurberg *et al.*, 2011). För att en population ska kunna föröka sig sexuellt krävs att båda parningstyper förekommer på samma fält, infekterar samma blad och ger upphov till oosporer. Produktion av oosporer medför inte nödvändigtvis att de kommer bli grun-

den för en kommande epidemi eftersom de måste överleva och lyckas infektera plantor kommande växtsäsong (Yuen & Andersson, 2013). En studie av Widmark *et al.*, (2007) indikerar dock starkt att jordburet inokulum i form av oosporer signifikant kan bidra till att starta bladmögél-epidemier.

3.2 *Phytophthora infestans* livscykel

Phytophthora infestans tillhör gruppen oomyceter som till skillnad från äkta svampar har en cellvägg som i huvudsak består av cellulosa. Äkta svampars cellväggar innehåller kitin (Erwin & Ribeiro, 1996). Oomyceter förökas sexuellt genom produktion av oosporer efter sammansmältning av två gametangia där meios sker innan befruktning (Sansome, 1965). Fry (2008) beskriver *P. infestans* som en nästan obligat, hemibiotrofisk patogen i jordbruket. *Phytophthora infestans* uppvisar en hög grad av värdspecificitet och andra typiska biotrofa drag som haustorier men orsakar samtidigt relativt snabb nekros i angripen vävnad (Lucas & Dickinson, 1998; Fry, 2008). Vid infektion av *P. infestans* syns oftast inga symptom inom 2 dagar, vilket är typiskt för en hemitrof men därefter syns små nekroser (Fry, 2008).

Phytophthora infestans livscykel delas in i en sexuell cykel och en asexuell cykel (figur 1). Den asexuella cykeln möjliggör snabb spridning och har kort generationstid. Sjukdomsförloppet påbörjas då mycelet i den infekterade knölen sprids till skotten på plantan. På infekterade skott och blad bildas sporangier fästa på sporangieforer (Mizubuti *et al.*, 2000). En lesion kan producera upp till 300 000 sporangier vilket delvis kan förklara hur ett fält kan vissna ner på mindre än en vecka under för patogenen gynnsamma väderförhållanden (Fry, 2008). Bildandet av sporangier sker vid hög luftfuktighet. Erwin & Ribeiro (1996) anger en temperatur kring 21 °C som temperaturoptimum. Sporangier kan sedan antingen gro via en groddslang eller genom att frigöra rörliga zoosporer med flageller. Vid temperaturer över 15 °C inträffar framförallt groningen direkt via groddslang medan vid temperaturer under 15 °C inträffar företrädesvis groningen via zoosporer (Agrios, 1988). Optimum för direkt groningen via groddslang är 20-25 °C och optimum för groningen via zoosporer är 10-15 °C (Fry, 2008). Ett sporangium kan producera upp till 8 zoosporer, som var och en kan ge nya infektioner (Agrios, 1988). På korta avstånd sprids sporangierna med vattenstänk från infekterade blad och på långa avstånd sprids sporangierna med vinden (Erwin & Ribeiro, 1996). Latenstiden kan variera kraftigt mellan olika isolat men i en studie av Lehtinen *et al.*, (2009) gjord på isolat av *P. infestans* från Sverige, Norge, Danmark och Finland var den genomsnittliga latenstiden 4-8 dagar.



Figur 1. Livscykeln över *Phytophthora infestans*. Illustration av Alvar Grönberg.

När sporangier sköljs ned i marken och zoosporer gror penetreras knölnarna via lenticeller eller via sårytor vilket ger knölinfektion. Risk för knölinfektion är speciellt hög när sporulering förekommer i fältet och vid regnigt väder (Agrios, 1988).

Den sexuella cykeln kan äga rum när båda parningstyperna förkommer på samma växtvävnad, då befruktning kan ske och oosporer produceras (Agrios, 1988). I Sverige förekommer båda parningstyperna A1 och A2, vilket möjliggör sexuell förökning. (Andersson *et al.*, 1998). Förekomsten av oosporer medför att bladmögelsmittan även är jordburn eftersom oosporer kan överleva i jorden minst 3-4 år (Agrios, 1988). Innan sexuell förökning förekom överlevde *P. infestans* endast som mycel i knölar mellan säsongerna. Oosporer gror genom en groddslang som producerar ett sporangium (Agrios, 1988). Enligt Strömberg *et al.*, (2001) stimuleras groningen av oosporer av långa dagar och temperaturer omkring 10 °C, dvs. förhållanden som förekommer i Skandinavien i maj-juni. Widmark *et al.*, (2007) fann i en studie gjord i sydvästra Sverige tidigt på våren att den jordburna smittan sannolikt bidrog till den primära infektionen.

3.3 Verkningsmekanismer hos fungicider

I den kommersiella potatisodlingen i Sverige bekämpas bladmögel främst genom behandling med fungicider. I de södra delarna av landet sker upprepade behandlingar medan intensiteten i bekämpningen avtar norrut eftersom infektionstrycket där är lägre. I Kristianstad där det studerade fältförsöket med olika fungiciddoser genomfördes, krävs ett omfattande bekämpningsprogram med upprepade behandlingar. Programmen sätts samman med tanke på att optimalt utnyttja egenskaper hos olika preparat och för att minska risken för resistensutveckling. Användandet av olika verkningsmekanismer är viktigt för ett långsiktigt hållbart användande. I fältförsökets bekämpningsprogram ingick tre olika preparat; Ranman Top, Revus Top och Infinito. Preparatens olika aktiva substanser mot *P. infestans* och verkningsmekanismer finns presenterade i tabell 1.

Tabell 1. Verkningsmekanismer och risken för utveckling av fungicidresistens hos de tre fungicider som användes i försöket (FRAC, 2015).

| Preparat | Aktiv substans | Verkningsmekanism | Resistensrisk |
|------------|----------------|-------------------------|-----------------|
| Ranman Top | Cyazofamid | Respiration | Medel-hög |
| Revus Top | Mandipropamid | Cellväggssyntes | Låg till medium |
| Infinito | Fluopicolide | Mitos och celledelning | Okänd |
| | Propamocarb | Lipidsyntes och membran | Låg-medel |

3.3.1 Infinito

Preparatet innehåller två aktiva substanser, fluopicolide och propamocarb vilka har olika verkningsätt. Propamocarb verkar systemiskt och transporteras i xylemet och skyddar därmed också nytillväxten hos grödan. Fluopicolide är translaminär och transporteras genom bladen efter behandling (Bayer Crop Science, 2015). Flupicolide är en relativt ny aktiv substans med en tidigare okänd verkningsmekanism. Flupicolide är aktiv mot alla delar i *P. infestans* livscykel, sporulering, zoosporbildning, mycelltillväxt, sporgroning, och penetration av växtvävnad. Propamocarb inhiberar mycelltillväxt och utvecklingen hos sporangierna (Tafforeau *et al.*, 2005).

3.3.2 Ranman Top

Preparatet innehåller den aktiva substansen cyazofamid vilken är kontaktverkande och skyddar potatisplantan mot bladmögel men har även spordödande effekt för att förhindra knölinfektion (Nordisk Alkali, 2015). Mitani *et al.*, (2001) fann att cyazofamid starkt inhiberar alla stadier i *P. infestans* livscykel. Cyazofamid inhiberade redan vid låga koncentrationer frigörelse av zoosporer, zoosporernas rörelseförmåga, direkt sporgroning, myceltillväxt och bildandet av oosporer. Mitani *et al.*, (2001) menar att detta tyder på att verkningsmekanismen för cyazofamid är kopplad till försämring av cellens energisystem. Cyazofamid har i försök med inhibering av myceltillväxt visat sig verka selektivt på oomyceter och inte lyckats inhibera myceltillväxt hos ascomyceter, basidiomyceter och deuteromyceter. I försök av Saville *et al.*, (2014), där inhibering av myceltillväxt hos *P. infestans* testades på rågagrar där cyazofamid hade tillsatts, framkom att de flesta isolaten i studien inte växte på plattor där cyazofamid hade tillsatts.

3.3.3 Revus Top

Preparatet är både translaminärt och kontaktverkande och innehåller mandipropamid som aktiv substans mot bladmögel. Innehåller även den aktiva substansen difenokonazol mot torrfläckssjuka (*Alternaria solani*, *A. alternata*) (Syngenta, 2015). Mandipropamid verkar effektivt mot sporgroning, myceltillväxt och sporulering. Bekämpning rekommenderas i förebyggande syfte men mandipropamid har även en kurativ effekt under inkubationstiden (Serrati & Cestari, 2006). Resultaten i en studie av Cohen *et al.*, (2007) indikerar att sannolikheten för uppbyggnad av resistent underpopulationer av *P. infestans* i fält är låg.

3.4 Aggressivitetstester

Van Der Plank, (1963) definierar aggressivitet som kvantiteten av sjukdom som en patogen orsakar på en mottaglig värd. Aggressiviteten hos en patogen är ett kvantitativt mått på dess förmåga att angripa en viss värd och beror också på värdens motståndskraft (Cook *et al.*, 2006). Miljön, till exempel relativ luftfuktighet, temperatur och ljusförhållande kommer att ha stor påverkan på utgången av interaktionen av patogen och värd. Därför hålls dessa parametrar konstanta när variationen i aggressivitet ska mätas (Carlisle *et al.*, 2002). Andrivon, (1993) menar att ett attribut som läggs i begreppet aggressivitet är möjligheten att mäta denna under standardiserade förhållanden. Aggressivitet blir då ett reproducerbart resultat av en

specifik kombination av patogen och värd. De komponenter som ofta läggs i begreppet aggressivitet vad gäller *P. infestans* är latenstid, lesionstillväxt och sporuleringsförmåga (Flier & Turkensteen, 1999). Ett problem med alla studier på aggressivitet är att aggressiviteten tenderar att minska när patogenen odlas kontinuerligt i laboratorium (Cook *et al.*, 2006). Även tillståndet på plantmaterialet kan vara en viktig felkälla vid aggressivitetstester (Lehtinen *et al.*, 2009a). De publicerade exemplen på snabb och reversibel anpassning hos *P. infestans* förklaras av Cook *et al.*, (2006) med en förändring i genuttrycket snarare än mutationer.

3.5 Effektorer och R-gener

Eftersom *P. infestans* uppvisar en mycket hög sjukdomsalstrande potential har många försök gjorts att förädla fram resistent sorter (Fry, 2008). Ett av de mest framgångsrika sätten att bekämpa växtsjukdomar har varit tillgången till sorter med vertikala resistensgener s.k. rasspecifik resistens. Denna typ av resistens är enkel att föra in i ett förädlingsprogram och är effektiv till dess att raser av patogenen som dessa sorter inte har resistens mot blir etablerade (Flor, 1971). Detta innebär att rasspecifik resistens inte är så hållbar vilket Malcolmson, (1969) exemplifierar med sorten Pentland Dell. När den introducerades 1961 uppvisade den fullständig resistens mot angrepp av *P. infestans*, men 1967 drabbades sorten av omfattande bladmögelangrepp. Rasspecifik resistens kontrolleras av en eller ett fåtal gener som ofta kallas för R-gener, som kontrollerar viktiga steg i växtens system för att känna igen patogener, och som gör det möjligt för potatisplantan att känna igen de effektorproteiner som *P. infestans* utsöndrar (Govers & Gijzen, 2006). Vid rasspecifik resistens så förefaller patogen och värdväxt vara inkompatibla (Agrios, 1988). Det finns alltid genotyper av *P. infestans* inom populationen där R-generna är ineffektiva (Fry, 2008).

Plasticiteten i genomet för *P. infestans* som beskrivs av Goodwin *et al.*, (1998) medför att förhoppningarna om att R-gener ska bidra till en stabil nedsättning av sjukdomstrycket har minskat (Fry, 2008). Detta har lett till ett större fokus på förädling för generell resistens även kallat "fältresistens" (Collins *et al.*, 1999). Black, (1970) skriver att fältresistens kan definieras som den grad av resistens som en växt uppvisar mot alla raser av *P. infestans* där ingen hypersensitivitetsreaktion sker. Turkensteen, (1993) menar att hållbar resistens mot *P. infestans* är ofullständig och polygenisk. R-gener kan försvåra förädling för fältresistens eftersom dessa gener kan dölja fältresistens. Det krävs att en ras som är virulent mot de R-generna som finns i plantan förekommer i fältet för att avslöja om det finns fältresistens (Turkensteen, 1993). R-gener som medför en hög grad av resistens istället för total immunitet gör det svårt att skilja mellan resistens på grund av R-gener och fältresi-

stens (Landeo & Turkensteen, 1989). Stewart *et al.*, (2003) menar att ett sätt att undvika detta problem är att förädla för fältresistens med en population som saknar R-gener. Vidare skriver Stewart *et al.*, (2003) dock att även om kvarstående effekter av R-gener är små jämfört med effekterna av en effektiv R-gen och hög nivå av fältresistens så är effekten signifikant. Därför kan eliminering av kloner med R-gener ur en population minska chansen att selektera för den högsta nivån av resistens (Stewart *et al.*, 2003).

3.6 Populationsstudier

Populationsbiologi inriktar sig på de biologiska processer som påverkar en population. Inom växtpatologi är detta betydelsefullt eftersom det är populationer, inte enskilda individer av patogener som orsakar angrepp på jordbruksgrödor (Macdonald, 2004). Detta kan anses gälla speciellt för *P. infestans* i Norden. Yuen & Andersson, (2013) menar att flera studier pekar på att populationsstrukturen av *P. infestans* i Norden uppvisar en större genotypisk diversitet jämfört med Västeuropa där enstaka kloner dominerar populationen. I en studie av Brurberg *et al.*, (2011) hittades 169 olika genotyper i ett urval av 191 isolat. Även i en studie av (Sjöholm *et al.*, 2013a) var resultatet liknande då de flesta genotyper endast påträffades en gång bland de insamlade isolaten och den största genotypiska variationen fanns inom fälten och variationen mellan fält var liten. Detta är troligtvis resultatet av regelbunden sexuell reproduktion hos *P. infestans* i Norden. Förekomsten av båda parningstyperna och fynden av oosporer i grödan är starka indikationer på detta (Yuen & Andersson, 2013). Bilden av dominansen av klonala linjer av *P. infestans* i Västeuropa bekräftas av en studie av Mariette *et al.*, (2015) där 1274 isolat insamlade mellan 2001 och 2008 dominerades av fyra multiloci-linjer som utgjorde 80 % av de insamlade isolaten.

Epidemiologi och populationsgenetik ingår i begreppet populationsbiologi. Epidemiologi fokuserar på sjukdomsutveckling och populationsgenetik fokuserar på de processer som leder till genetisk förändring över tid. Vissa egenskaper är viktiga inom bägge områden exempelvis latensperiod (Macdonald, 2004). Det som observeras i fält kan ibland vara svårt att studera med laboriemetoder och speciellt kan det vara svårt att definiera en population (Sjöholm, 2012).

Selektion är en evolutionär riktad process som leder till att förekomsten av vissa alleler eller genotyper ökar (McDonald & Linde, 2002). Genotypdata bestämd med hjälp av mikrosatelliter är ett användbart verktyg för att studera förändringar i populationsstruktur orsakad av *P. infestans* över en växtsäsong (Widmark *et al.*, 2011).

3.6.1 Mikrosatelliter, SSR (Simple sequence repeat)

Mikrosatelliter även kallat SSR:er består av repetitiv DNA-kod som är en till sex baser lång. Dessa finns bland den genetiska informationen i cellkärnan hos alla eukaryoter som testats och koden är ofta jämnt utspridd i genomet (Tautz & Renz, 1984; Lagercrantz *et al.*, 1993). Sekvensen hos mikrosatelliter karakteriseras vanligtvis av en hög grad polymorfism vilket gör dem ideala för genetiska studier där co-dominanta, singel-locus markörer behövs (Lees *et al.*, 2006). För *P. infestans* utvecklades en uppsättning med 12 SSR markörer av Lees *et al.* (2006) som vidare utvecklades av Li *et al.* (2013) till ett en-steps multiplex PCR metod för snabbare analys (Li *et al.*, 2013).

3.7 Brunröta och bladmögel – samspel?

Hur samspelet mellan brunröta och bladmögel ser ut och vilka mekanismer som påverkar detta är relativt dåligt kartlagt och mer forskning behövs. Mycket tyder på att lerhalten i jorden har inverkan på om *P. infestans* ger brunröta i knölarna. Zan, (1962) fann att den maximala tiden som sporangier i jord kunde bibehålla sin förmåga att infektera var 77 dagar i en lerjord vid 15 % vattenhållande förmåga och vid 15°C. Persistensen ökade med minskande temperatur och var som högst vid 15-25 % av vattenhållande förmåga (Zan, 1962). I försök av Andrivon, (1994) var resultaten liknande och förmågan att infektera knölar varierade mellan 15 och 45 dagar beroende på jordart. Bain & Möller, (1998) skriver i sin sammanställning att generellt förlorade patogenen sin förmåga att infektera fortare i sandjordar än ler- och mo/mjåla-jordar samt att fuktig jord vid 20-25 % av dess vattenhållande förmåga behöll sin förmåga att infektera längre än torr eller vattenmättad jord. Zan, (1962) fann att det fanns en större sannolikhet att sporangier som sköljdes ner längs stjälkarna nådde knölarna och infekterade.

I ett försök vid Statens växtskyddsanstalt i Solna på ett fält med heterogena jordförhållande analyserades jord- och skördeprov för att kartlägga orsakerna till brunröta. Sambanden mellan förekomst av brunröta och lerhalt, sandhalt, mullhalt, pH-värde respektive bladmögelförekomst analyserades. Resultaten visade en stark positiv korrelation mellan lerhalt och förekomst av brunröta. Sandhalt och förekomst av brunröta var negativ korrelerade. Övriga parametrar visade ingen korrelation med förekomsten av brunröta (Olofsson, 1977).

I en sammanställning av Bain & Möller, (1998) beskrivs att i obehandlade fält förekom knölinfektion vid 1-2 % angrepp av bladmögel medan i fungicidbehandlade fält förekom knölinfektion först vid 5 % angrepp av bladmögel. Dock menar Bain & Möller, (1998) i sammanställningen att det finns både rapporter om myck-

et knölinfektion utan synliga symptom på blast och rapporter om mycket lite knölinfektion trots starka angrepp av bladmögel.

4 Bakgrund till fältförsök

Odlingsrådgivare Henrik Knutsson (pers. kom. 2015) menar att reducerade doser är mer regel än undantag i bladmögelbekämpningen i Danmark. Bladmögelförsöken i Danmark har ofta inga obehandlade kontroller eller smittorader vilket gör att försöken mer liknar en praktisk odling jämfört med det försöksupplägg som är vanligt i Sverige (Knutsson, pers. kom. 2015). Tidigare försök genomförda i stärkelsepotatis i Danmark visar att halv dos kan vara tillräcklig för att uppnå tillfredställande bekämpningseffektivitet (tabell 2) och därför beslutade Lyckeby att bekosta ett försök med full respektive halv dos under svenska förhållanden.

4.1 Tidigare försök

Under åren 2009-2014 genomfördes 20 försök i Danmarks så kallade landsforsøg där full dos, halv dos och ett danskt system för anpassning av fungiciddoser ”Skimmelstyrning” testades. Skimmelstyrning är en varningsmodell för bladmögel som tar hänsyn till lokalt väder, bladmögl förekomst och sortens resistens (Nielsen, 2015a). Modellen utvecklades för att möjliggöra en anpassning av fungiciddosen baserat på infektionsrisken.

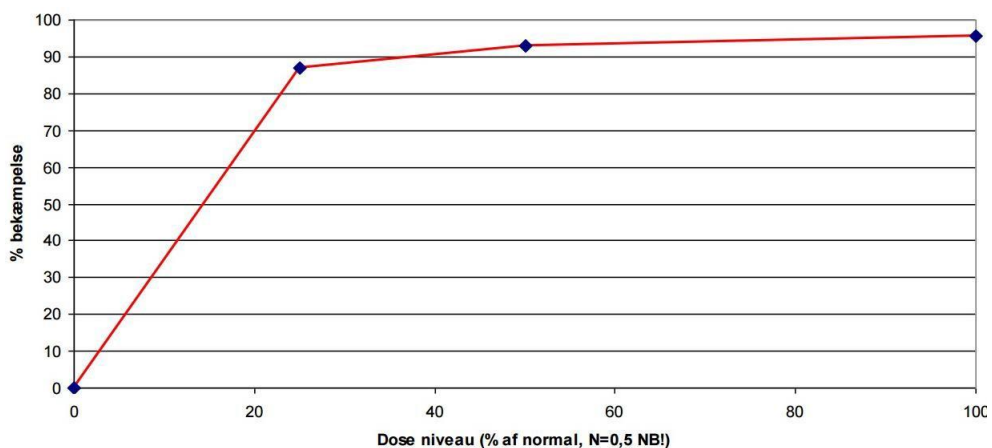
Tabell 2. Sammanställning av 20 försöksresultat under åren 2009-2014. Sorten i försöken var Kuras (Nielsen, 2015a). Materialet är opublicerat.

| Led | %- bladmögel vid skörd | Knölskörd ton/ha | St-% | St-skörd ton/ha | Behandlingskostnad (SEK) |
|-----------------|------------------------------|---------------------|------|--------------------|-----------------------------|
| Full dos | 4 | 60,8 | 19,9 | 12,1 | 4 680 |
| Halv dos | 6 | 60,8 | 20,0 | 12,2 | 2 900 |
| Skimmelstyrning | 5 | 60,9 | 19,9 | 12,1 | 3 900 |

En sammanställning av de 20 försöken visar att skillnaden i både stärkelseskörd och knölskörd är mycket liten vid jämförelse mellan full dos, halv dos och enligt skimmelstyrning, se tabell 2 (Nielsen, 2015a). Preparaten som användes i försöken var; Dithane NT (aktiv substans mancozeb), Ranman och Revus. Försöken utfördes på tre platser; Flakkebjerg, Herning och Try (Nielsen, 2015b).

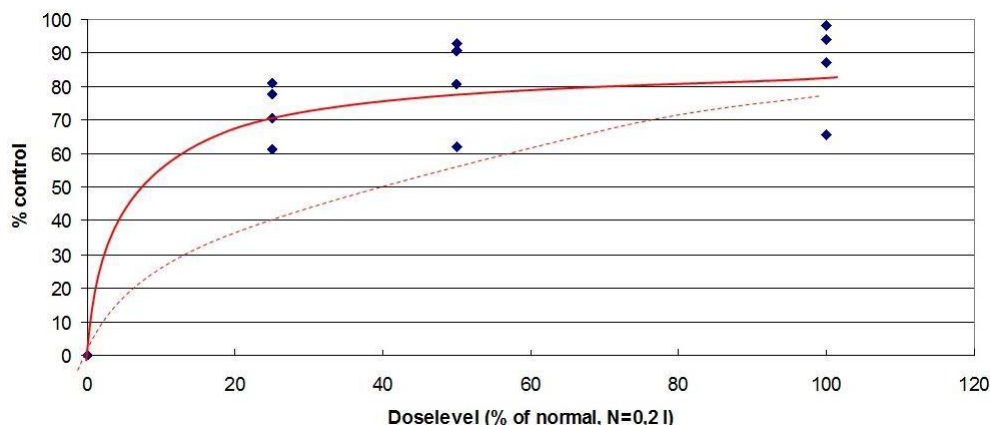
4.1.1 Dos-responskurvor

Ett sätt att bestämma fungiciders effekt är att testa olika dosnivåers effekter på bladmögel. Vid Aarhus Universitet har sådana försök gjorts på bland annat Revus och Ranman. Försöken är genomförda år 2001-2003 som fungicidregistreringsförsök där arbetet standardmässigt sker med tre dosnivåer; 100 %, 50 % och 25 % och med 7 dagars bekämpningsintervall. Försöken är genomförda i Flakkebjerg (Nielsen, 2015b).



Figur 2. Dos-responskurva över Revus. Dosnivån ställs mot effekten och kurvan är ett genomsnitt av fyra försök genomförda år 2001-2003 (Nielsen, 2015a). Materialet är opublicerat.

Vid 50 % av rekommenderad dos för Revus är effekten över 90 %, se figur 2. I försöket skedde förebyggande fungicidbehandling och behandlingsintervallet var 7 dagar. Totalt behandlades fältet med fungicid vid 12 tillfällen (Nielsen, 2015b).



Figur 3. Den heldragna röda linjen är en dos-responskurva för Ranman och den streckade röda linjen är en dos-respons kurva för Dithane NT (mancozeb-preparat). Kurvorna baseras på fyra försök genomförda år 2001-2003. Bekämpningsintervallet var 7 dagar (Nielsen, 2015a). Materialet är opublicerat.

I ett annat försök där Ranmans effekt testades uppkommer liknande dos-responskurva (figur 3). Vid 50 % av rekommenderad dos för Ranman var effekten i detta försök över 75 % jämfört med full dos. Kurvan för Ranman visar att bekämpningseffekten ökar snabbt och når ca 70 % effekt redan vid 25 % dos för att sedan plana ut när dosen ökas. Kurvan för Dithane ser däremot annorlunda ut, bekämpningseffekten ökar mer linjärt med den ökande dosen. Försöket fungicid-behandlades totalt 12 gånger (Nielsen, 2015b).

4.2 Försöksupplägg av det studerade fältförsöket

Försöket genomfördes på Mosslunda gård söder om Kristianstad. På samma fält fanns ett flertal bladmögelförsök där obehandlade led förekom. I försöket ingick sorterna Kuras och Aventura. Jordarten på fältet var mmh lSa där mullhalten var 4,2 %, lerhalten 7 % och innehållet av sand grovmo uppgick till 82 %. Försöket sattes den 23 maj med 75 cm radavstånd och 40 cm sätstavstånd. Gödsling, ogräsbekämpning och insektbekämpning skedde enligt plan, mer information i bilaga 1. Försöket lades ut som ett randomiserat blockförsök med fyra upprepningar utan smittorader och obehandlade kontroller. Varje parcell var 18 m².

5 Material och metod

5.1 Insamling av material

Vid tre olika tillfällen; 13 augusti, 27 augusti samt 4 september 2015 samlades småblad infekterade av *P. infestans* in från fältförsöket i Kristianstad. Cirka 12 blad valdes slumpvis ut i varje parcell, 50 stycken per led. Insamlingen av blad skedde i samtliga parceller och varje enskilt småblad hade en lesion orsakad av *P. infestans*. Vid varje tillfälle samlades 50 stycken småblad från ledet med halv dos (K1), 50 stycken småblad från ledet med full dos (K2) och 50 stycken obehandlade småblad (K0) från sortförsöket (FK-1200) som låg 10 m ifrån doseringsförsöket. Bladen som samlades in var i relativt god kondition trots sina angrepp. Blad med äldre lesioner som hade lett till att bladet torkat in undveks. Bladen placerades i enskilda förslutningsbara plastpåsar. Från varje småblad klipptes lesionen ut och pressades ut på FTA-kort (GE Healthcare Whatman). FTA-korten förvarades i rumstemperatur till DNA-extraktionen genomfördes.

5.2 Aggressivitetstester

Bladmögelisolat som samlades in 27 augusti användes för aggressivitetstester. Dagen efter insamlingen skars bitar ut från lesionerna och lades på potatisskivor (cv Asterix) i petriskålar. Efter tre dagars inkubering i rumstemperatur överfördes mycel till petriskålar med lika delar råg (Caten & Jinks, 1968)- och ärtagar (Cobière & Andrivon, 2003). Agarn innehöll antibiotika (0,2 g ampicillin/liter agar och 0,4 ml Pimaricin (10 mg/ml)/liter agar). Mycel från varje isolat sattes om i nya petriskålar med råg/ärtagar utan antibiotika en gång innan isolaten användes i aggressivitetstestet.

Den 23 september inleddes aggressivitetstestet med att mycel överfördes från de renodlade isolaten till potatisskivor av sorter Asterix. Potatisskivorna var ca 1 cm tjocka och en agarbit med mycel överfördes med hjälp av skalpell och placerades mitt på potatisskivorna. I testet användes 15 slumpvis utvalda isolat från respektive K0 (obehandlat led), K1 (led behandlat med halv rekommenderad fungiciddos) och K2 (led behandlat med full rekommenderad fungiciddos). Varje enskilt isolat överfördes på totalt 10 potatisskivor som placerades i en plastlåda med tätslutande lock. I botten av plastlådan lades ett fuktat filterpapper och ovanpå det ett nät som skapade ett litet luftrum mellan potatisskivorna och filterpappret. Plastlådorna ställdes i klimatskåp med en temperatur på 15 °C, 80 % luftfuktighet och 16 timmars ljus/8 timmars mörker .

Fem dagar senare bedömdes att tillräckligt med sporulerande mycel fanns på potatisskivorna. Mycelet på varje potatisskiva undersöktes i stereolupp och de två skivorna med mest sporulering valdes ut. De två potatisskivorna spolades sedan med vatten och vätskan innehållande sporangier och vatten samlades upp i en petriskål. En droppe från lösningen överfördes sedan till en haemocytometer som användes för att beräkna sporangiekoncentrationen i lösningen. Varje enskilt prov späddes till 10^4 sporangier per ml. De spädda proverna ställdes sedan i kylskåpet i tre timmar för att inducera zoosporproduktion. Fullt utvecklade småblad av jämförbar ålder från sorten Bintje som odlats i växthus valdes ut och placerades i petriskålar. Därefter pipetterades 15 µl från varje isolat och droppen placerades bredvid mittnerven och mitt på bladet i mittnervens riktning för att göra det möjligt för lesionen att tillväxa maximalt. Av varje isolat gjordes 5 upprepningar. Aggressivitetstestet omfattade därför 225 stycken petriskålar med ett småblad i varje petriskål.



Figur 4. Ett av de 225 blad som undersöktes. Sporulering har konstaterats och lesionens tillväxt mättes dagligen. Bild: Gabriella Olsson.

Två dagar efter inokuleringen avlägsnades den överflödiga vätskan i droppen med hjälp av filterpapper. Fåtalet droppar hade redan adsorberats eller avdunstat vid detta tillfälle. Tre dagar efter inokuleringen påträffades det första sporulerande isolatet. Från den 1 oktober till och med den 7 oktober undersöktes alla blad två gånger dagligen i stereolupp, en gång på förmiddagen och en gång på eftermiddagen. Syftet var att bestämma tidpunkten för bildning av de första sporangierna (latenstid). När lesioner blivit synliga för ögat mättes de med linjal en gång per dag (figur 4). Lesionen mättes längs två axlar, där lesionen var som längst och bredast. Utifrån dessa mätningar beräknades lesionsarean som en ellips.

Nio dagar efter inokulering avslutades mätningarna av lesioner och sökandet efter sporulering. Bladen stoppades i rör med 5 ml etanol (95 %) och ställdes i kylskåp. Två veckor senare vortexades provrören och sporkoncentrationen bestämdes med hjälp av en haemocytometer (figur 5).



Figur 5. Från varje prov räknas sporangier i de 9 rutor som uppstår inom den stora rutan som omges av 3 streck. Bild: Gabriella Olsson

5.3 Genotypning

I mitten av september stansades runda pappersbitar ut från FTA-korten med hjälp av en korkborr vars diameter var sex mm. Pappersbitarna lades sedan i individuella 1,5 ml eppendorfrör och tvättades med 400 μ l FTA-purification reagent (Whatman Inc.). Varje provrör skakades och inkuberades i 4 minuter i rumstemperatur. Detta steg upprepades sedan igen. Därefter tvättades pappersbitarna med 400 μ l TE (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA) buffert. Även detta steg upprepades en gång. Sedan flyttades pappersbitarna över till 0,5 ml provrör där 80 μ l TE-buffert tillsattes. Provrören skakades och inkuberades i 5 min i 95°C. Därefter lades proverna i frysen och förvarades i -20°C.

För att bestämma genotyperna användes tolv mikrosatellitmarkörer (Li *et al.*, 2013). En multiplex-mix bestående av elva av dessa kunde köras i en PCR-reaktion (tabell 3). En markör, D13, kördes separat eftersom markören inte fungerade att köras i multiplex-mixen.

Tabell 3. De elva markörerna som användes i multiplex-mixen samt deras fluorescens (Li et al., 2013).

| Markör | Fluorescens |
|---------------|-------------|
| PiG11 | NED |
| Pi02/PinfSSR3 | NED |
| PinfSSR11 | NED |
| PinfSSR8 | FAM |
| PinfSSR4 | FAM |
| Pi04 | VIC |
| Pi70 | VIC |
| PinfSSR6 | VIC |
| Pi63 | VIC |
| PinfSSR2 | PET |
| Pi4B | PET |

Multiplex-mixen innehöll: 12,5µl MM, 5µl Q-solution, 5µl primerblandning, 0,5µl H₂O. Till detta tillsattes 2µl DNA. PCR-program till multiplex: 95°C i 5 minuter därefter följde 33 cykler av 95°C i 30 sekunder, 58°C i 90 sekunder, 72°C i 20 sekunder och sedan avslutades programmet med 60°C i 30 minuter. Primern D13 kördes enligt (Grönberg *et al.*, 2011). PCR-program till D13: 94°C i 3 min därefter följde 33 cykler av 94°C i 30 sekunder, 50°C i 30 sekunder, 72° i 1 min och sedan avslutades programmet med 72°C i 25 minuter.

Totalt analyserades 343 prover. PCR-reaktionen kontrollerades med elektrofores på 1,2 % agarosgel. Till gelen tillsattes 1 µl Nancy per 50 ml gel. Gelen kördes sedan i 30 min på 250 V. Därefter kontrollerades gelen under UV-ljus. PCR-produkterna skickades till SciLifeLab, Uppsala för fragmentanalys. Resultatet från SciLifeLab behandlades sedan i programmet GeneMarker Ver. 2.6.4 (Softgenetics). I programmet avlästes toppar manuellt i de tolv aktuella regionerna för varje mikrosatellit. All data sammanställdes sedan i Excel och klonkorigerades inom varje population (K0, K1, K2) för att undvika missvisande analyser. Klonkorrigering gjordes endast inom varje population för annars skulle en del av variationen inte fångas upp. Prov ansågs vara kloner om de hade samma allelstorlekar som en annan genotyp för samtliga loci. Dock bedömdes en genotyp där en markör saknade värde vara skild från en annan genotyp med samma allelstorlekar på övriga loci. Analyserna genomfördes i GenAIEx 6.502.

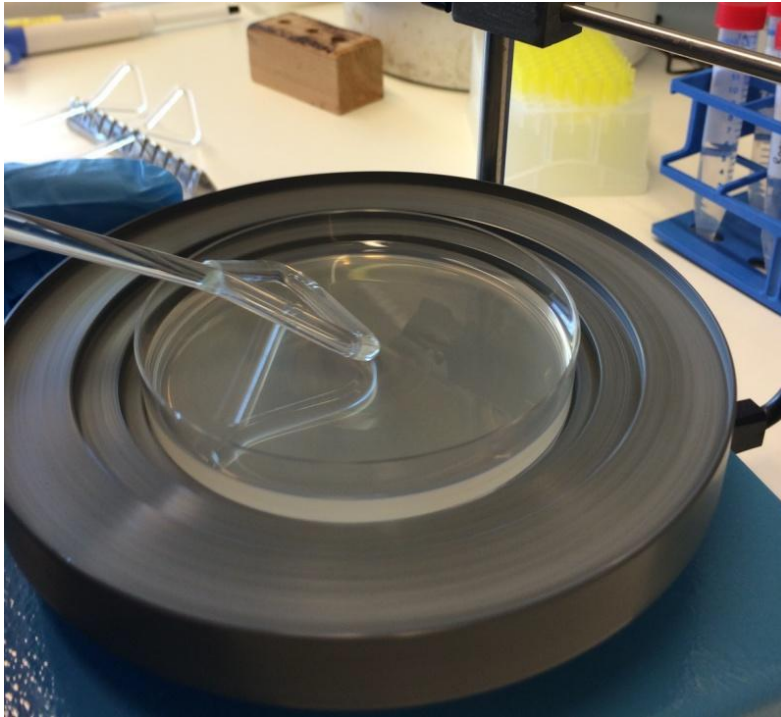
5.4 Fungicidtester

Tre förstudier gjordes för att beräkna lämpliga koncentrationer av fungiciderna Ranman Top, Revus Top och Infinito. Förstudierna skapade också möjlighet att finna en bra metodik att utföra testerna på. Baserat på resultatet från förstudierna valdes tre dosnivåer vilka visas i tabell 4. Dosnivåerna valdes så att *P. infestans*, nästan inte växte alls på den högsta dosen och i det närmaste obehindrat på den lägsta. Dosstegen sattes så att koncentrationen förändrades med tio gånger i varje steg.

Tabell 4. Koncentrationen av de olika fungiciderna i petriskålarna. För Infinito avses koncentrationen av propamocarb.

| Preparat | Aktiv substans | Koncentration | | |
|------------|---|--------------------------|------|-------|
| | | mg aktiv substans/l agar | | |
| Infinito | Propamocarb 625 g/l, Fluopicolide 62,5 g/l | 0,1 | 1 | 10 |
| Ranman Top | Cyazofamid 160 g/l | 0,1 | 0,01 | 0,001 |
| Revus Top | Mandipropamid 250 g/l, Difenokonazol 250 g/l | 0,1 | 0,01 | 0,001 |

Tillsatsen av fungiciderna till agarmediet gjordes genom att 100µl fungicidlösning ströks ut med en glastrackla medan petriskålen roterande (figur 6). Fungicidlösningen var tillredd så att rätt slutgiltig koncentration i agarn uppnåddes. Petriskålarna var fyllda med 18 ml råg/ärt-agar. Efter utstrykning fick petriskålarna stå till dagen efter för att preparatet skulle fördela sig jämnt i agarn så att inga koncentrationsskillnader skulle finnas inom varje skål. Därefter skedde utsättning av mycel från de olika isolaten. En korkborr med diametern tio mm användes för att stansa ut agarbitar med mycel, och dessa överfördes till petriskålarna innehållande fungicid. Varje isolat sattes ut i tre upprepningar för varje dosnivå samt i tre upprepningar i petriskålar utan fungicid. Av isolaten som sattes ut var tio stycken från det i fält obehandlade ledet (K0), tio stycken från det ledet som var behandlat med halv dos (K1) i fält och nio stycken från ledet som var behandlat med full dos (K2) i fält totalt 1044 petriskålar. Elva dagar efter utsättning mättes diametern på mycellet vertikalt och horisontellt och utifrån dessa mätningar beräknades en area i form av en cirkel.



Figur 6. Utstrykning av fungicid på agarplatta. Foto: Gabriella Olsson.

5.5 Bestämning av parningstyp

Parningstyp bestämdes genom att en bit mycel från varje isolat placerades på ärt/råg-agar tillsammans med referensisolat där parningstypen är känd och sedan kontrollerades förekomsten av oosporer. Varje isolat testades mot referensisolat av både parningstyp A1 och A2 (Lehtinen *et al.*, 2008). Parningstypningen genomfördes som en del av André Johanssons kandidatarbete.

5.6 Statistik

Resultatet från SciLifeLab behandlades i programmet GeneMarker Ver. 2.6.4 (Softgenetics). I programmet presenterades grafer för varje fluorescence och topparna avlästes manuellt och antecknades. Resultatet från avläsningen av markörernas storlekar skrevs sedan in i Excel. Analyserna av data utfördes sedan i GenAlEx Ver. 6.502 (Peakall & Smouse, 2012) som är en add-in i Excel. Proverna delades sedan upp efter hur de behandlats i fält; K0, K1 och K2 var för sig. Med hjälp av PCoA (Principal coordinate analysis) visualiserades genetiska mönster där de genetiska avstånden mellan populationerna beräknades. För att bedöma hur den

molekylära variationen skiljde sig mellan och inom populationerna genomfördes ett AMOVA (Analysis of molecular variance)-test i samma program. PCoA och AMOVA baserades på genetiskt avstånd. H_e är den förväntade heterozygositeten, H_o är den observerade heterozygositeten för populationen och H_T är den förväntade heterozygositeten hos den totala populationen. Jämförelse av parvisa F_{ST} -värden ger uppfattning i hur stor differentieringen är mellan populationerna. F_{ST} -värden beräknas enligt följande:

$$F_{ST}$$

F_{ST} -värden mellan 0-0,05 tyder på liten genetisk variation (Freeland *et al.*, 2011). G/N beräknas genom att dividera antalet unika multilocus-genotyper med det totala antalet genotyper.

Aggressivitetstestet gjordes med fem upprepningar och fungicidtesterna med tre upprepningar av varje enskilt isolat. Resultat från aggressivitetstestet och fungicidtestet analyserades i statistikprogrammet JMP Pro 12 med nested ANOVA. Upprepningarna nestades inom isolat. Signifikansnivån sattes till 95 %. När ingen sporulering förekom behandlades latenstid som ett missingvärde, när varken sporulering eller lesion förekom behandlades båda som missingvärde. När sporulering förekom men ingen lesion sattes lesionsarean till noll.

6 Resultat

6.1 Ekonomi – skörderesultat, bladmögelförekomst i fältförsöket

Fältförsöket fungicidbehandlades totalt tolv gånger, första gången den 3 juli och därefter var sjunde dag. Sista tillfället var den 17 september. Vid tre av tillfällena behandlades fältet med Infinito, fyra tillfällena med Revus Top och fem tillfällena med Ranman Top. Tidpunkterna för behandlingarna finns presenterade i tabell 5.

Tabell 5. Behandlingstidpunkter i fältförsöket.

| Tidpunkt | Preparat |
|------------|------------|
| 2015-07-03 | Revus Top |
| 2015-07-11 | Revus Top |
| 2015-07-17 | Infinito |
| 2015-07-24 | Infinito |
| 2015-07-30 | Infinito |
| 2015-08-07 | Ranman Top |
| 2015-08-13 | Ranman Top |
| 2015-08-21 | Revus Top |
| 2015-08-28 | Ranman Top |
| 2015-09-03 | Ranman Top |
| 2015-09-10 | Ranman Top |
| 2015-09-17 | Revus Top |



Figur 7. Bilden är tagen den 4 september 2015. Till vänster presenteras led 1 (Kuras full dos) och till höger presenteras led 2 (Kuras halv dos). Foto: Gabriella Olsson.

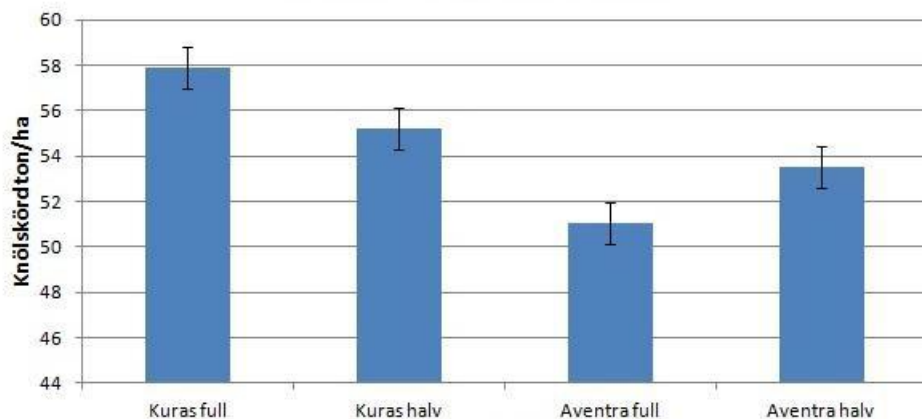
Under säsongen kunde bara små skillnader av bladmögelangrepp observeras mellan leden i försöket (figur 7). Bladmögelangrepp upptäcktes första gången i båda sorterna den 21 juli.

Tabell 6. Gradering av bladmögelangreppet i fältförsöket presenteras för varje led.

| Led | Sort | Dos | Bladmögel %, angripen bladyta | | | | | | | | |
|-----|---------|------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| | | | 21/7 | 29/7 | 5/8 | 11/8 | 18/8 | 26/8 | 1/9 | 9/9 | 16/9 |
| 1 | Kuras | Full | 0,003 | 0,000 | 0,003 | 0,005 | 0,103 | 0,040 | 0,030 | 0,250 | 0,3 |
| 2 | Kuras | Halv | 0,025 | 0,013 | 0,000 | 0,018 | 0,280 | 0,168 | 0,275 | 1,300 | 6,8 |
| 3 | Aventra | Full | 0,075 | 0,000 | 0,003 | 0,005 | 0,060 | 0,015 | 0,023 | 0,075 | - |
| 4 | Aventra | Halv | 0,000 | 0,000 | 0,003 | 0,013 | 0,140 | 0,138 | 0,030 | 0,375 | - |

* 0,01 % = 1 fläck per 50 plantor; 0,1 % = 1 fläck per planta; 1 % = 10 fläckar per planta.

I graderingen framgår att Kuras angripits mer av bladmögel jämfört med Aventra. På grund av kraftig nedvissning och angrepp av torrfläcksjuka kunde inte bladmögelangreppen i Aventra graderas den 16 september (tabell 6).



Figur 8. Visar knölskörden i ton/ha för respektive led i fältförsöket. Knölskörden i de olika leden är inte signifikant skilda från varandra. $P=0,1070$.

Skillnaderna i skörd i fältförsöket mellan de olika behandlingarna är inte statistiskt signifikanta. En förklaring till detta kan vara för få upprepningar och/eller för små parceller (figur 8).

Tabell 7. Skörderesultatet från fältförsöket i Mosslanda utanför Kristianstad.

| Led | Sort | Bekämpning | Knölskörd ton/ha | St-halt % | St-skörd ton/ha | Rel. St-skörd |
|-----|---------|------------|------------------|-----------|-----------------|---------------|
| 1 | Kuras | Full dos | 57,9 | 22,8 | 13,2 | 100 |
| 2 | Kuras | Halv dos | 55,2 | 22,4 | 12,4 | 94 |
| 3 | Aventra | Full dos | 51,0 | 20,9 | 10,7 | 100 |
| 4 | Aventra | Halv dos | 53,5 | 21,1 | 11,3 | 106 |

St-halt % = stärkelsehalt i procent. St-skörd= stärkelseskörd. Rel. St-skörd= relativ stärkelseskörd. Inga signifikanta skillnader.

I tabell 7 har skörderesultatet kompletterats med stärkelsehalt, stärkelseskörd och relativ stärkelseskörd.

Tabell 8. Visar priser på de tre fungicider som ingått i fältförsökets bekämpningsprogram.

| Preparat | Pris per liter (kr) | Full dos | Halv dos | Pris full dos (kr) | Pris halv dos (kr) |
|------------|---------------------|----------|----------|--------------------|--------------------|
| Infinito | 231 | 1,61 | 0,81 | 369,6 | 184,8 |
| Ranman Top | 510 | 0,51 | 0,251 | 255,0 | 127,5 |
| Revus Top | 685 | 0,61 | 0,31 | 411,0 | 205,5 |

Priserna är hämtade från Lantmännen där en genomsnittlig rabatt är inkluderad (tabell 8). Beroende på område i landet och kundens potatisareal kan priserna variera 8-10 % upp eller ned, enligt Andersson (pers. kom. 2015) på Lantmännen.

Tabell 9. Ekonomisk kalkyl över fältförsökets utfall. Medel innebär ett genomsnitt av intäkt potatisstärkelse för Kuras och Aventra.

| Led | Sort | Bekämpning | Stärkelse-skörd ton/ha | Intäkt potatisstärkelse (kr) | Fungicid-kostnad (kr) | Intäkt - Fungicid-kostnad (kr) |
|-----|---------|------------|------------------------|------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 1 | Kuras | Full dos | 13,2 | 41 584 | 4028 | 37 556 |
| 2 | Kuras | Halv dos | 12,4 | 38 949 | 2014 | 36 935 |
| 3 | Aventra | Full dos | 10,7 | 33 578 | 4028 | 29 550 |
| 4 | Aventra | Halv dos | 11,3 | 35 561 | 2014 | 33 547 |
| | Medel | Full dos | | 37 581 | 4028 | 33 553 |
| | Medel | Halv dos | | 37 255 | 2014 | 35 241 |

I den ekonomiska kalkylen (tabell 9) för de olika leden beaktas endast skillnaden i preparatkostnaden eftersom körkostnaden för behandling och antal behandlingar är densamma i samtliga led. Om det skulle vara verkliga skillnader i skörd så skulle det ekonomiska utfallet se ut som ovan.

Tabell 10. Visar förekomsten av brunröta i fältförsöket. Inga signifikanta skillnader.

| Led | Sort | Dos | Brunröta (%) |
|-----|---------|------|--------------|
| 1 | Kuras | Full | 0,0028 |
| 2 | Kuras | Halv | 0,0038 |
| 3 | Aventra | Full | 0,0015 |
| 4 | Aventra | Halv | 0 |

Ca 10 kg knölar togs ut parcellvis för att bestämma förekomst av brunröta (tabell 10). Proverna lagrades i Lyckeby's potatislager i Bäckaskog. I slutet av november bedömdes förekomsten av brunröta.

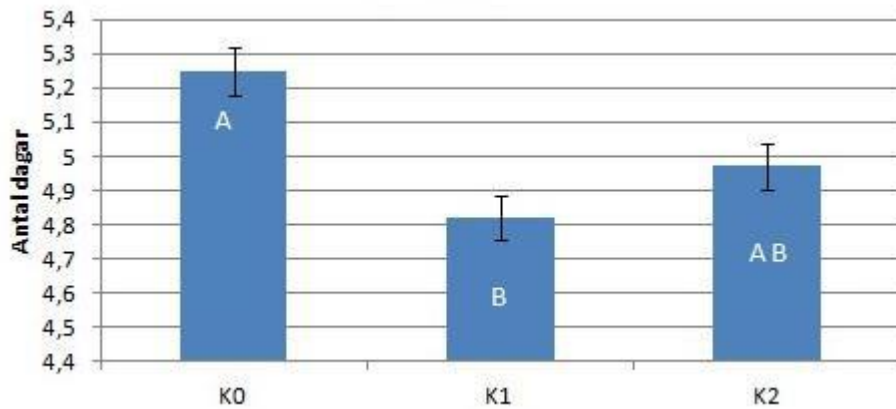
6.1.1 Bestämning av parningstyp

Från de insamlade isolaten valdes isolat slumpvis ut från K0, K1 och K2 för att bestämma parningstyp. Totalt testades 42 isolat varav 19 stycken var av parnings-

typ A1 och 23 stycken av parningstyp A2. Fördelningen var således 45 % A1 och 55 % A2 (Johansson, pers. kom. 2015).

6.2 Aggressivitetstester

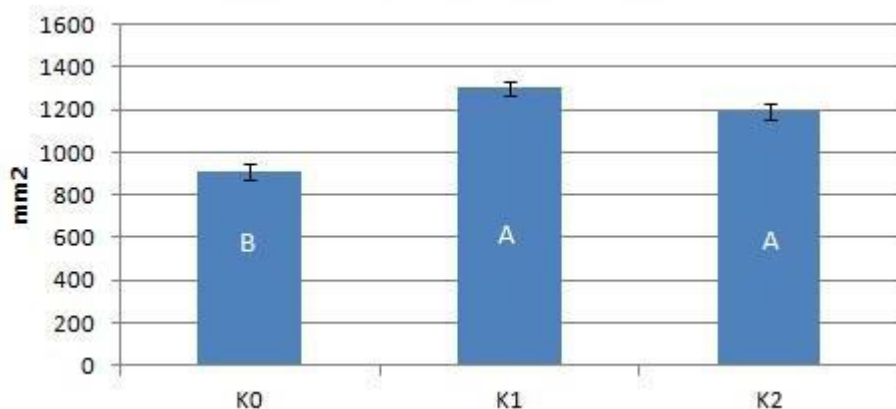
6.2.1 Latenstid



Figur 9. Latenstiden (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P=0,0439$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Latenstiden för isolaten tagna i K0 respektive K1 är signifikant skilda från varandra. Isolat från obehandlade parceller har längre latenstid jämfört med isolat från fält behandlat med 50 % dos (figur 9).

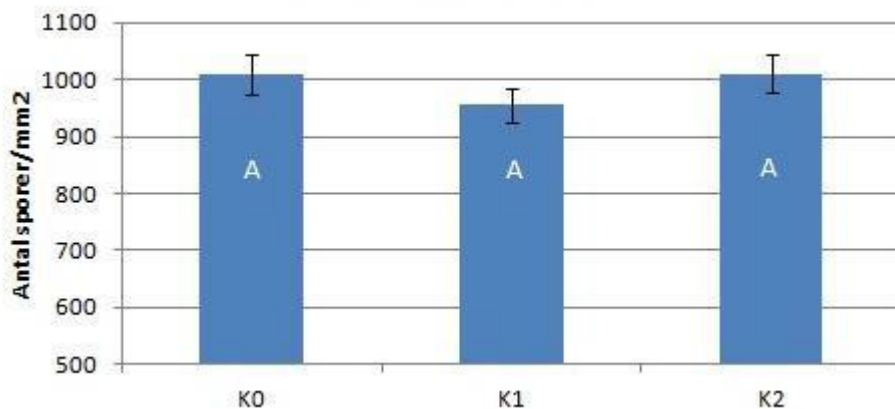
6.2.2 Area per lesion (mm²)



Figur 10. Area per lesion (mm²) (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). P=0,0009. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Isolaten från K1 och K2 är signifikant skilda från isolat tagna i K0. Från behandlade parceller, både med full respektive halv dos, är lesionstillväxten större jämfört med isolat från obehandlade parceller (figur 10).

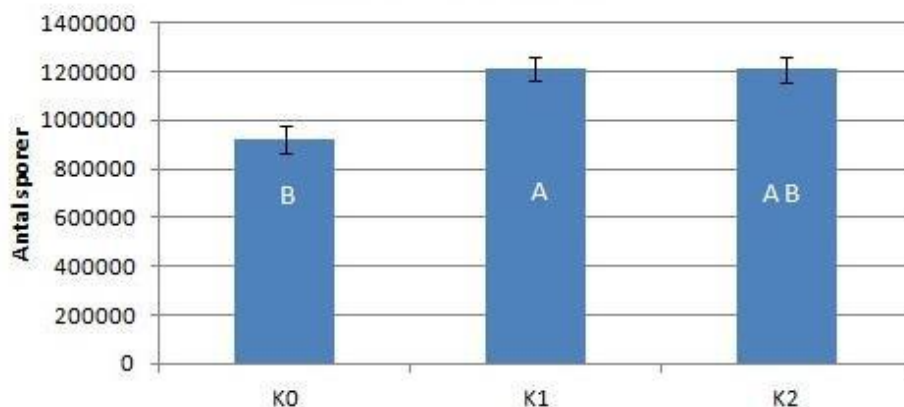
6.2.3 Antal sporer per mm²



Figur 11. Antalet sporer/mm² (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). P=0,7883. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Antalet sporer från varje sporulerande blad beräknades och sattes i relation till bladens lesionsstorlek. I testet fanns inga signifikanta skillnader mellan isolaten från K0, K1 och K2 (figur 11).

6.2.4 Antal sporer per blad



Figur 12. Antal sporer per blad (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P=0,0377$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Vad gäller antalet sporer per blad fanns signifikanta skillnader mellan obehandlade isolat och isolat behandlade med 50 % dos. Obehandlade isolat hade färre sporer per blad jämfört med isolat behandlade med 50 % dos (figur 12).

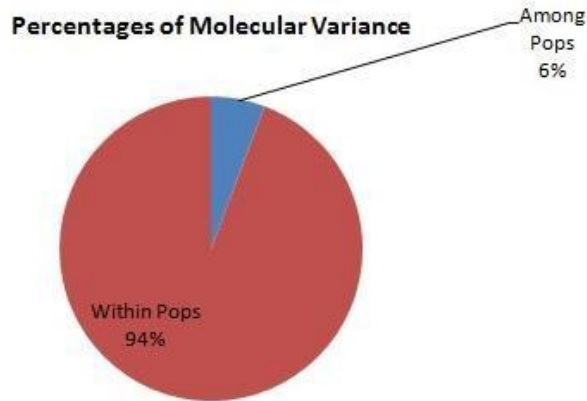
6.3 Genotypning

Tabell 11. Antal prover och förekomst av antal unika genotyper av *P. infestans* presenteras för de olika behandlingarna.

| Behandling | Antal prover, N | Antal genotyper, G | G/N |
|------------|-----------------|--------------------|------|
| K0 | 55 | 38 | 0,69 |
| K1 | 98 | 79 | 0,81 |
| K2 | 82 | 82 | 1,0 |
| Totalt | 235 | 199 | 0,85 |

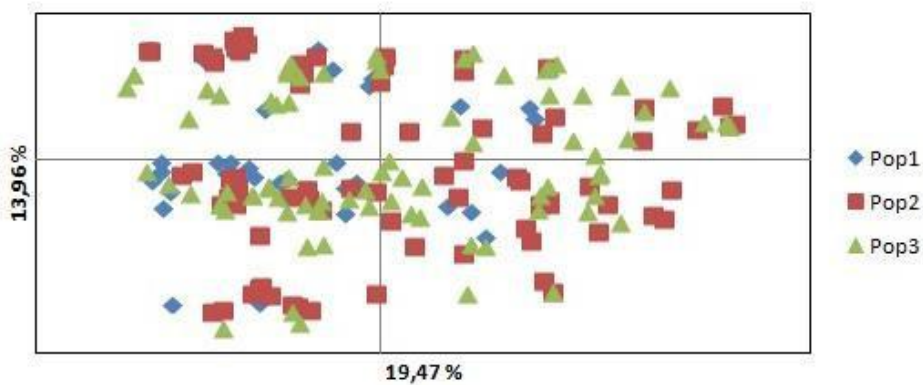
*Där K0 är isolat insamlade i obehandlat led, K1 är isolat behandlat med halv fungiciddos respektive K2 som behandlats med full fungiciddos. G/N är antalet unika genotyper dividerat med det totala antalet genotyper.

Störst andel unika genotyper fanns blad K2 dvs. isolat som behandlats med full dos. Varje enskilt prov från populationen hade en unik genotyp, $G/N = 1$. Obehandlade isolat (K0) visade lägst variation med $G/N = 0,691$. G/N är antalet unika genotyper dividerat med det totala antalet genotyper (tabell 11).



Figur 13. Resultat från AMOVA-test som visar hur mycket av variationen som finns inom populationerna och mellan populationerna av *P. infestans*.

94 % av variationen fanns inom populationerna och 6 % mellan populationerna (figur 13). De populationer som undersöktes var K0, K1 och K2.



Figur 14. Det genetiska mönstret mellan populationerna. Pop1 = K0, isolat insamlade i obehandlade led. Pop2 = K1, isolat insamlade med halv fungiciddos. Pop3 = K2, isolat behandlade med full fungiciddos.

Ingen differentiering mellan populationerna från de olika behandlingarna kunde observeras (Figur 14).

Tabell 12. Heterozygositet hos populationer av *P. infestans*.

| Pop | N | Ho | S.E | He | S.E |
|-----|----|-------|-------|-------|-------|
| K0 | 38 | 0,513 | 0,072 | 0,474 | 0,055 |
| K1 | 79 | 0,495 | 0,066 | 0,49 | 0,054 |
| K2 | 82 | 0,439 | 0,077 | 0,498 | 0,05 |

*Ho = observerad heterozygositet, He= förväntad heterozygositet, N = antalet prover, S.E = standardfelet. K0 är isolat insamlade i obehandlat led, K1 är isolat behandlat med halv fungiciddos respektive K2 som behandlats med full fungiciddos.

Tabell 12 visar olika egenskaper avseende heterozygositet för de undersökta populationerna. Antalet prover från K0 är färre eftersom det var många av dessa prover som fick uteslutas på grund av att de inte gav några PCR-produkter. Detta berodde troligtvis på att de insamlade bladen var i för dålig kondition och innehöll för få sporer. Den observerade heterozygositeten (H_o) var högre än den förväntade (H_e) för K0 och K1 men lägre för K2.

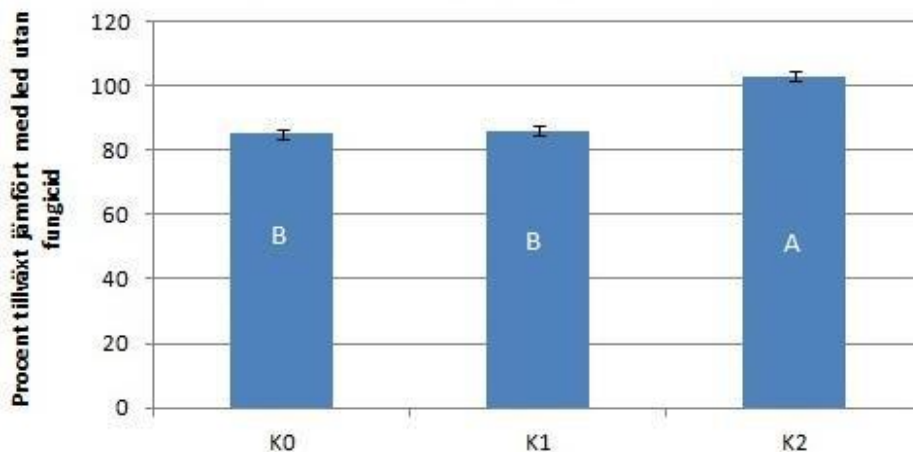
Tabell 13. F_{ST} -värden under diagonalen. Jämförelse av parvisa F_{ST} -värden ger uppfattning i hur populationerna skiljer sig åt genetiskt.

| | K0 | K1 | K2 |
|----|-------|-------|-------|
| K0 | 0,000 | | |
| K1 | 0,015 | 0,000 | |
| K2 | 0,017 | 0,010 | 0,000 |

F_{ST} -värden mellan 0-0,05 tyder på liten genetisk populationsdifferentiering (Free-land *et al.*, 2011) vilket visas i tabell 13 och överensstämmer med resultatet från AMOVA-testet som visade att den absolut övervägande delen av variationen fanns inom populationerna, inte mellan.

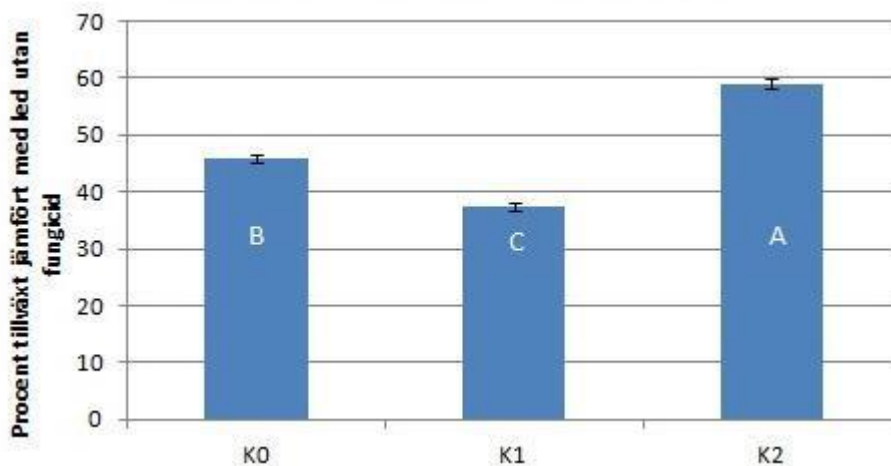
6.4 Fungicidstester

6.4.1 Infinito



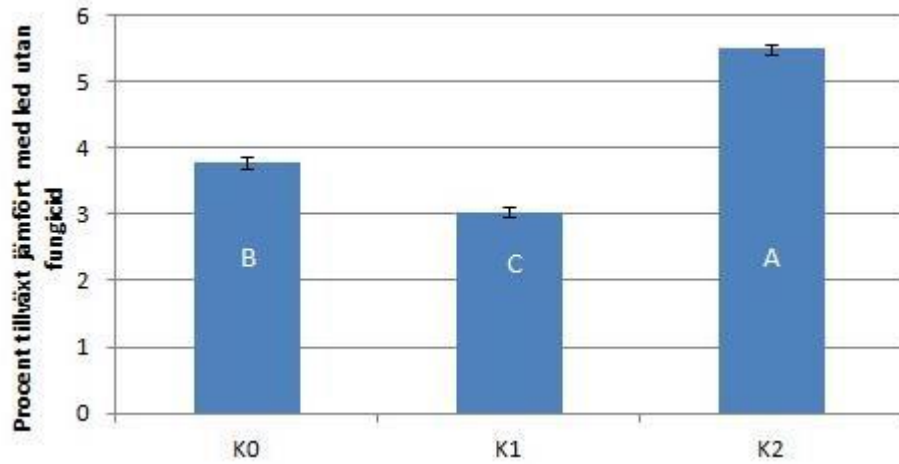
Figur 15. Visar fungicidtest med lägsta dosen (0,1 mg aktiv substans/l) av Infinito (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P=0,0005$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Isolat från full dos växte signifikant bättre än de från halv dos och obehandlat på agar med den lägsta dosen av Infinito som inkluderades i försöket. I figur 15 visas även en tendens till att isolat insamlade i led K2 hade en bättre tillväxt på agar innehållande lägsta dosen av Infinito än på agar utan fungicid tillsats .



Figur 16. Visar fungicidtest med mellersta dosen (1 mg aktiv substans/l) av Infinito (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P= <0,0001$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

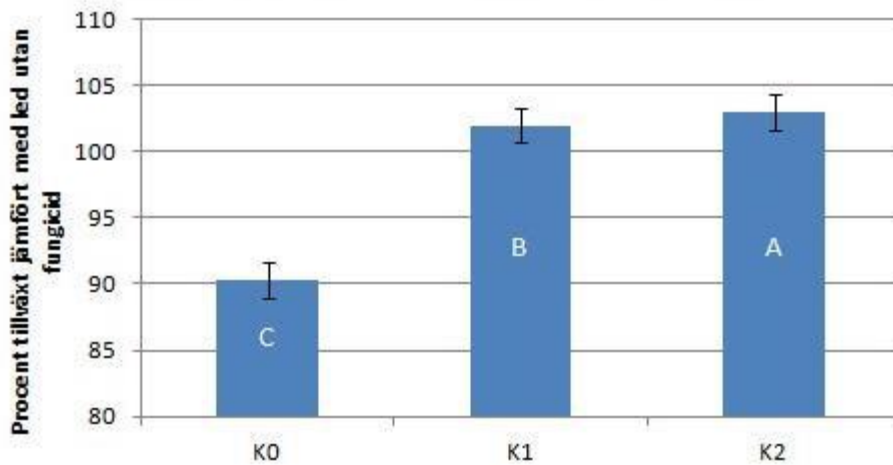
För den mellersta dosen av Infinito är alla populationer signifikant skilda från varandra (Figur 16). Isolaten från K1 uppvisade den lägsta tillväxten och K2-isolaten den högsta tillväxten.



Figur 17. Visar fungicidtest med högsta dosen (10 mg aktiv substans/l) av Infinito (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P = <0,0001$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

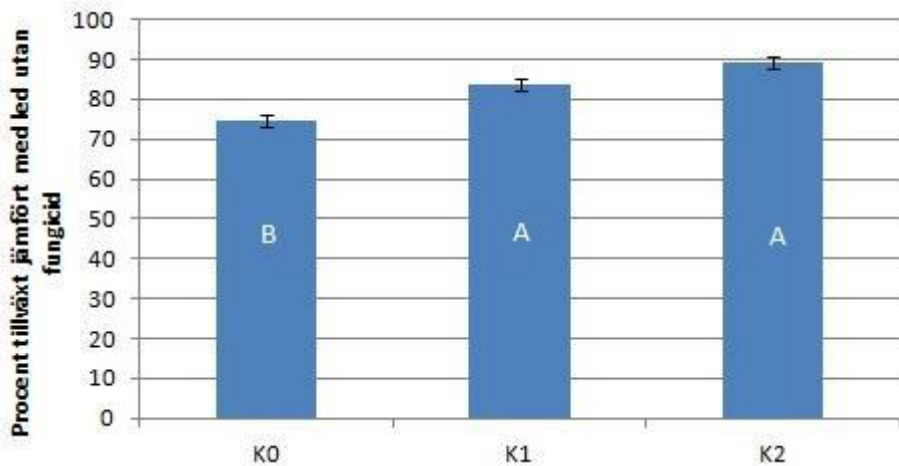
Diagrammet för den högsta dosen av Infinito följer samma mönster som diagrammet för den mellersta dosen av Infinito det vill säga alla är signifikant skilda från varandra och att isolaten insamlade K1 har tillväxt minst samt K2 mest (figur 17).

6.4.2 Ranman Top



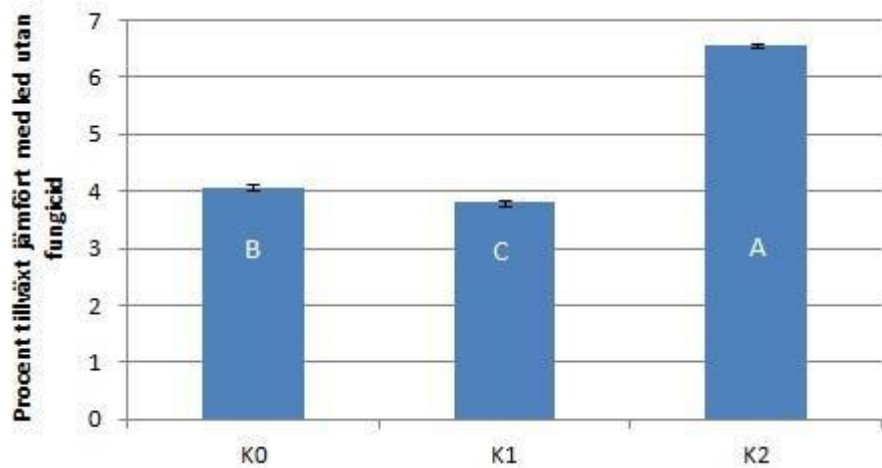
Figur 18. Visar fungicidtest med lägsta dosen (0,001 mg aktiv substans/l) av Ranman Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). P=0,0001. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

I testet med den lägsta dosen av Ranman Top är alla tre leden signifikant skilda från varandra. K1-isolaten och K2-isolaten har båda tillväxt bättre i agar med tillsatt fungicid än i agar utan tillsatt fungicid, se figur 18.



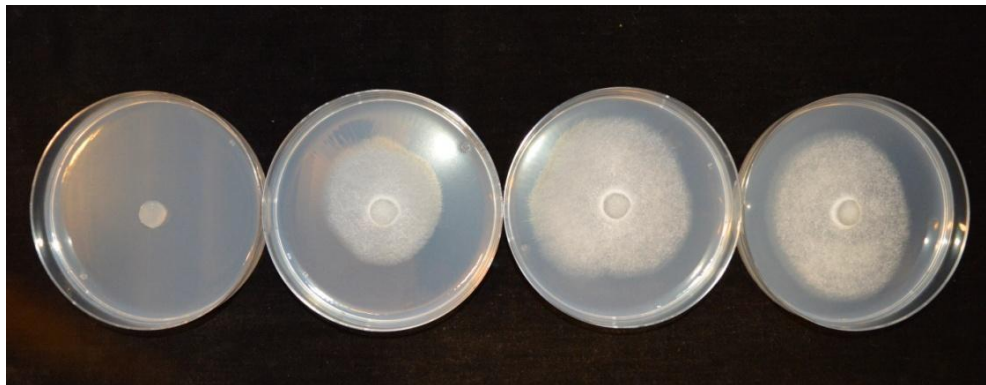
Figur 19. Visar fungicidtest med mellersta dosen (0,01 mg aktiv substans/l) av Ranman Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). P=0,0052. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

Diagrammet för den mellersta dosen av Ranman Top följer samma mönster som diagrammet för den lägsta dosen av Ranman Top det vill säga att isolaten från led K0 har tillväxt minst, medan K2-isolaten mest (figur 19). Däremot är inte alla led signifikant skilda från varandra. Isolat insamlade i K0-ledet är signifikant skilda från K1 och K2 i figur 19.



Figur 20. Visar fungicidtest med högsta dosen (0,1 mg aktiv substans/l) av Ranman Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P = < 0,0001$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

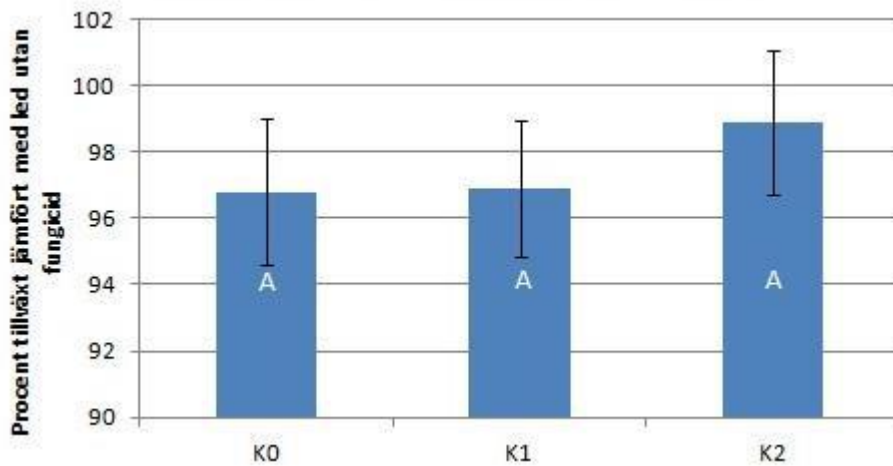
I testet för den högsta dosen av Ranman Top är alla led signifikant skilda från varandra. Isolaten insamlade i K2 utmärker sig och har tillväxt ca 2,5 procentenheter mer jämfört med isolat från K0 och K1, se figur 20.



Figur 21. Visar effekten av en stegvis ökning av dosen Ranman Top från vänster till höger. Från vänster till höger är dosen i mg aktiv substans/l 0,1; 0,01; 0,001 och 0. Isolaten som testades kom från K0 dvs. ett isolat insamlat i obehandlat led. Bild: Gabriella Olsson.

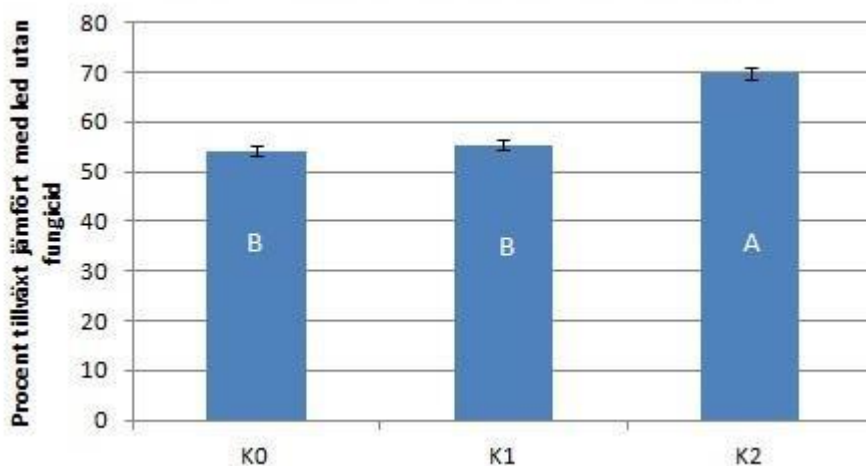
Tillväxten av mycel på högsta dosen av Ranman Top är obefintlig och mellersta dosen visar tydlig påverkan jämfört med petriskålen utan tillsatt fungicid längst till höger i figur 21.

6.4.3 Revus Top



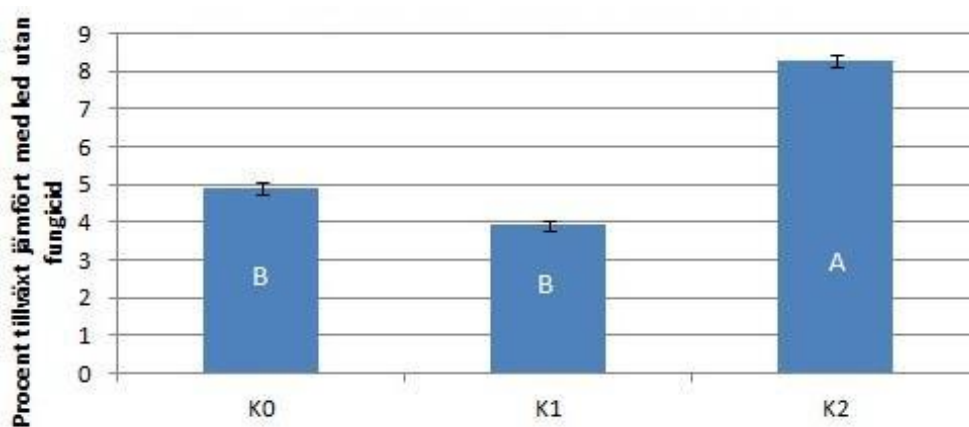
Figur 22. Visar fungicidtest med lägsta dosen (0,001 mg aktiv substans/l) av Revus Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P=0,9259$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

I den lägsta dosen av Revus Top finns inga signifikanta skillnader, och stora standardfel, se figur 22.



Figur 23. Visar fungicidtest med mellersta dosen (0,01 mg aktiv substans/l) av Revus Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P = <0,0001$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

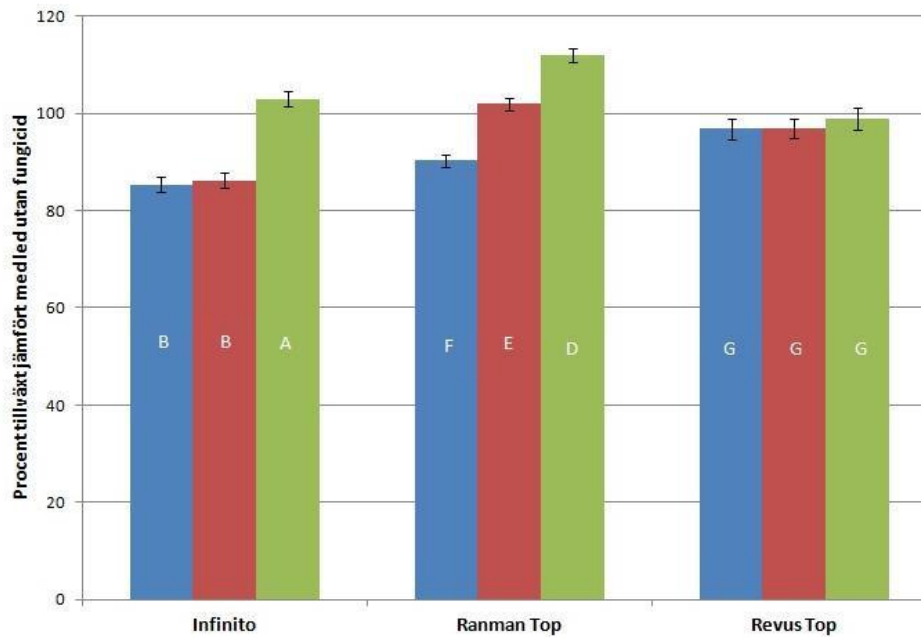
I testet för den mellersta dosen av Revus Top är tillväxten hos isolat insamlade i K2 signifikant skilt från K0- och K1-isolaten. Isolat från led K2 har tillväxt ca 15 procentenheter mer jämfört med K1 (figur 23).



Figur 24. Visar fungicidtest med högsta dosen (0,1 mg aktiv substans/l) av Revus Top (least square means) hos isolat av *P.infestans* insamlade i obehandlat led (K0), led behandlat med halv fungiciddos (K1) respektive full fungiciddos (K2). $P = <0,0001$. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå.

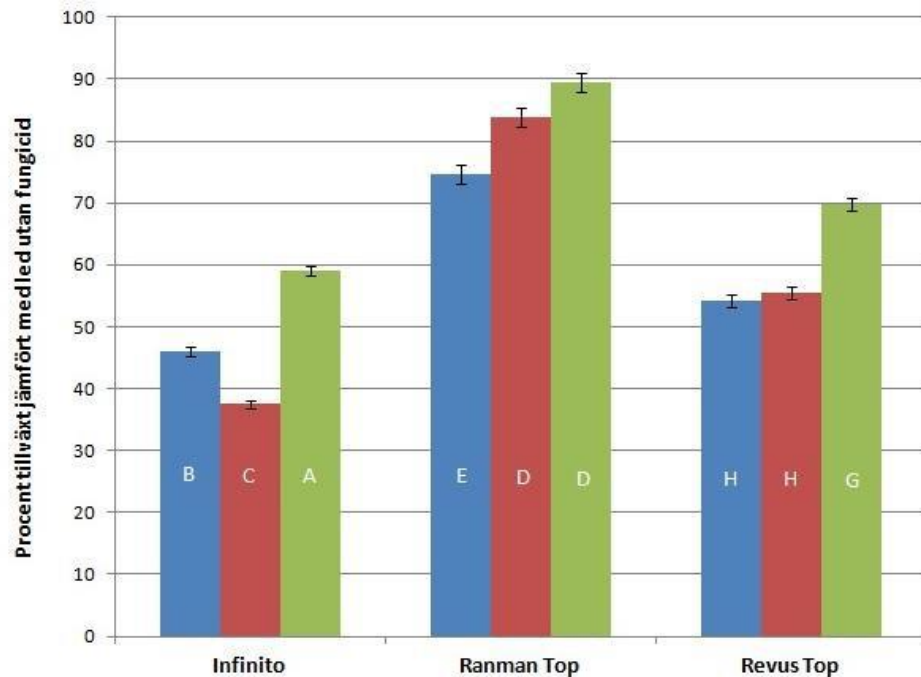
Diagrammet för den högsta dosen av Revus Top följer samma mönster som diagrammet för den mellersta dosen av Revus Top det vill säga att tillväxten i K2-isolaten är signifikant skilt från K0 och K1 (figur 24).

6.4.4 Sammanställning av samtliga preparat



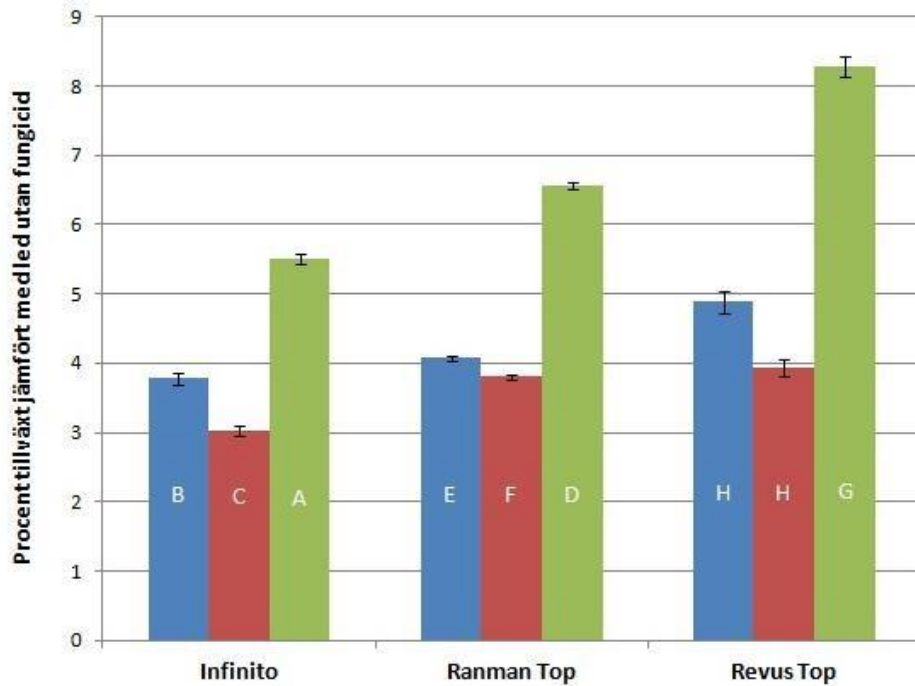
Figur 25. Visar en sammanställning över samtliga preparats lägsta fungiciddos (least square means) mot myceltillväxt på agar av *P. infestans*. Blå staplar är K0 (isolat insamlade i obehandlat led), röda staplar är K1 (isolat behandlade med halv fungiciddos) respektive gröna staplar K2 (isolat behandlade med full fungiciddos). P-värdet för Infinito är 0,0005 och bokstäver som kan anges är A,B,C. P-värdet för Ranman Top är 0,0001 och bokstäver som kan anges är D,E,F. P-värdet för Revus Top är 0,9259 och bokstäver som kan anges är G, H, I. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå. Effekten av olika preparat går inte att jämföra.

I sammanställningen över samtliga preparats lägsta dos kan ett mönster urskiljas där myceltillväxten ökar i takt med den ökande dos som isolaten utsatts för i fält. K2 dvs. isolat som utsatts för 100 % dos tillväxer mest jämfört med K0 och K1, se figur 25.



Figur 26. Visar en sammanställning över samtliga preparats mellersta fungiciddos (least square means) mot myceltillväxt på agar av *P. infestans*. Blå staplar är K0 (isolat insamlade i obehandlat led), röda staplar är K1 (isolat behandlade med halv fungiciddos) respektive gröna staplar K2 (isolat behandlade med full fungiciddos). P-värdet för Infinito är <0,0001 och bokstäver som kan anges är A,B,C. P-värdet för Ranman Top är 0,0052 och bokstäver som kan anges är D,E,F. P-värdet för Revus Top är <0,0001 och bokstäver som kan anges är G, H, I. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå. Effekten av olika preparat går inte att jämföra.

Med undantag för Infinito är trenden densamma som i sammanställningen för låg dos. I försöket med Infinito tillväxte isolaten insamlade i K0 dock bättre än K1-isolaten, se figur 26.



Figur 27. Visar en sammanställning över samtliga preparats högsta fungiciddos (least square means) mot myceltillväxt på agar av *P. infestans*. Blå staplar är K0 (isolat insamlade i obehandlat led), röda staplar är K1 (isolat behandlade med halv fungiciddos) respektive gröna staplar K2 (isolat behandlade med full fungiciddos). P-värdet för Infinito är <0,0001 och bokstäver som kan anges är A,B,C. P-värdet för Ranman Top är <0,0001 och bokstäver som kan anges är D,E,F. P-värdet för Revus Top är <0,0001 och bokstäver som kan anges är G, H, I. Staplar betecknade med samma bokstav är ej signifikant skilda på 95 % signifikansnivå. Effekten av olika preparat går inte att jämföra.

I sammanställningen av preparatens högsta dos är trenden densamma för varje enskilt preparat dvs. K1 (isolat från leden behandlat med halv fungiciddos) tillväxte minst, K0 (isolat från obehandlat led) mittemellan och K2 (isolat från ledet behandlat med full fungiciddos) mest. I jämförelse med sammanställningen för låg och mellan dos urskiljer sig K2-isolaten mest i figur 27 genom utmärkande hög tillväxt.

7 Diskussion och slutsatser

Till skillnad från genotypbestämningen visar aggressivitetstesterna och fungicidtesterna tydlig effekt av selektion. Detta tyder på att skillnaderna beror på förändrat genuttryck och inte på en förändring i populationsstrukturen bestämd med mikrosatelliter.

7.1 Aggressivitetstester

Sammantaget tyder resultatet från aggressivitetstesterna på att isolat av *P. infestans* från behandlade led (K1 & K2) är mer aggressiva jämfört med isolat från obehandlat led (K0). Lesionsstorlek som visas i figur 11, visar starka signifikanta skillnader mellan isolat insamlade från obehandlat respektive behandlade led. Isolat från K1 och K2 gav större lesioner jämfört med K0. Förklaringen till detta är att isolat från K1 och K2 har i fält behandlats med preparat som har effekt mot lesionstillväxt (Tafforeau *et al.*, 2005; Saville *et al.*, 2014) upprepade gånger och kan på så sätt selekterats mot fungicidtolerans.

I aggressivitetstestet var latenstiden signifikant kortare för insamlade i led K1 jämfört med K0-isolaten medan det inte fanns någon skillnad mellan K1 och K2 respektive K2 och K0. Dock indikerar resultaten tydligt att latenstiden är kortare för behandlade led. Ju kortare latenstiden är desto fler asexuella livscyklar hinner *P. infestans* med (figur 10). Isolat med kort latenstid borde ha större möjligheter att sprida sig i de rutor där fungicidbehandling sker återkommande. I försöket kontrollerades sporuleringen två gången dagligen, en gång på förmiddagen och en gång på eftermiddagen. För att få bättre upplösning i observationer av försöket och bättre möjligheter att hitta små skillnader så hade det varit önskvärt att kontrollera sporulering oftare.

I aggressivitetstestet fanns signifikanta skillnader i antal sporer per blad men inte för sporer per kvadratmillimeter lesion. Detta bekräftas av Grönberg *et al.*,

(2011) som inte fann någon korrelation mellan den slutgiltiga storleken på lesionen och antalet sporer. Det större antal sporer som bildades för isolat behandlade med halv dos (K1) och isolat behandlade med full dos (K2) kan vara en effekt av att de har en kortare latenstid och således hinner producera fler sporer. Det skulle också kunna vara en effekt av att de har behandlats med preparat som har spordödade effekt (Tafforeau *et al.*, 2005) och därför har isolat med stor sporproducerande förmåga överlevt.

7.2 Fungicidtester

Ett mönster som kunde observeras över alla dosnivåer och preparat är att isolat av *P. infestans* insamlade i ledet med full dos (K2) är mer tolerant för fungicid än både isolat från ledet med halv dos (K1) respektive obehandlat led (K0). På vissa nivåer finns även signifikanta skillnader mellan K0 och K1. En intressant observation är att lägsta dosen verkar trigga tillväxten hos K2-isolaten eftersom den växer bättre än leden utan tillsatt fungicid i försöken med Infinito och Ranman Top. Vid den högsta dosen för alla preparat blir den högre tolerans som *P. infestans*-isolaten från led K2 genomgående uppvisar för alla preparat i alla nivåer väldigt utslagsgivande. K2-isolaten har tillväxt mer i alla de höga dosleden jämfört med K0 och K1.

En signifikant trend som observerades i försöken innebär att K2 (isolat behandlade med full dos) har högst tillväxt, K1 (isolat behandlade med halv dos) lägst tillväxt samtidigt som K0 (obehandlade isolat) intar ett mellanläge. En tänkbar förklaring till detta är att K1 har i fält återkommande behandlats med en lägre dos fungicid vilket innebär att isolat med viss känslighet för fungicid har kunnat överleva. Dock har den återkommande fungicidbehandlingen i led K1 gjort att isolat med lång latenstid inte har överlevt. I led K0 har hela den naturliga diversiteten i fungicidkänslighet bibehållits och det finns isolat med naturlig tolerans för fungicider som dock kan ha lång latenstid. Trenden kunde observeras i Infinito hög, Infinito mellan, Ranman Top hög samt i Revus Top hög (dock inte signifikant).

Fältförsök visar att nyare preparat som Ranman och Revus har en annorlunda dos-responskurva jämfört med den för exempelvis Dithane som är ett mancozeb-preparat (figur 3). Dithanes dos-responskurva är mera linjär, medan effekten hos Revus och Ranman ökar snabbt i den lägre delen av dosintervallet och tydligt avtar vid höga doser. Revus och Ranman når hög bekämpningseffekt redan vid 50 % av rekommenderad dos med bekämpningseffekt över 90 % respektive 75 % (figur 3). Detta är troligtvis en del i förklaringen varför inga signifikanta skillnader i skörd eller i förekomst av brunröta kunde uppmätas i fältförsöket. Det är således viktigt att veta hur dos-responskurvan för ett preparat ser ut när möjligheten att reducera

dosen bedöms. En möjlig förklaring till fungicidtoleransen som isolat från led K2 uppvisar är att de har utsatts för en större mängd fungicid men ungefär samma bekämpningseffekt som K1 vilket innebär att isolat hos K2 som har överlevt bekämpning har utsatts för fungicid i överflöde vilket har ökat deras tolerans. Observera att dos-responskurvorna är framtagna för Revus respektive Ranman och inte Revus Top respektive Ranman Top, dock är de aktiva substanser mot bladmögel samma.

7.3 Fältförsöket

Knölskörden i de olika leden är inte signifikant skilda från varandra vilket indikerar att 50 % av rekommenderad dos är tillräcklig för att uppnå samma skörd som vid bekämpning med 100 % rekommenderad dos. Bristen på statistiskt säkerställda skördeskillnaderna förklaras troligtvis av för få upprepningar eller för små parcel-ler, se figur 8. Fungicidkostnaden för fulla doser enligt fältförsöket bekämpningsprogram (tabell 5 och 8) är 4028 kr vilket innebär att det finns 2014 kr/ha att spara genom att bekämpa med halva doser. Även om samma netto skulle uppnås med halva doser som med fulla doser skulle detta vara att föredra eftersom det innebär att endast halva mängden preparat har använts.

Bladmögelförekomsten i hela försöket var under säsongen förhållandevis låg, < 0,28 % fram till den 1:e september. Kraftigt ökad förekomst av bladmögel i ledet med Kuras halv dos skedde i slutet av säsongen och vid sista graderingen var den 6,8 % (tabell 6). Detta kan möjligtvis vara en effekt av att populationsstrukturen hos *P. infestans* förändras i slutet av säsongen så att populationen domineras av genotyper som är virulenta mot de eventuella R-gener som finns i Kuras. Samma tendenser kan inte utläsas i ledet med Aventura eftersom de angrepps kraftigt av torrfläcksjuka och hade vissnat ned vid sista graderingen. Bladmögelgraderingarna under säsongen indikerade konsekvent större bladmögelförekomst i Kuras jämfört med Aventura.

I ledet Aventura halv dos upptäcktes ingen brunröta. Generellt sett var förekomsten av brunröta mycket låg i försöket (tabell 10). Det finns inga statistiskt signifi-kanta skillnader i förekomst av brunröta mellan leden. Fältets jordart var måttligt mullhaltig lätt sand med endast 7 % lerhalt vilket kan vara en av många förklar-ingar till uteblivna angrepp av brunröta. Resultatet från fältförsöket stämmer såle-des väl överens med de teorier som Bain & Möller (1998) framför i sin samman-ställning nämligen att knölinfektion främst förekommer i fungicidbehandlade fält först vid 5 % bladmögelangrepp och att risken för infektion är lägre för sandjordar. Faktorerna som påverkar knölinfektion av *P. infestans* behöver utredas eftersom

sambanden delvis är oklara och bladmögelsbekämpning i stor utsträckning genomförs för att minimera risken för brunröta.

7.4 Genotypning

Resultaten kan ha påverkats av svaga utslag (små mängder PCR-produkt) från isolat behandlade i fält då rester från fungiciderna kan ha stört PCR-reaktionen alternativt att fungicidernas spordödande effekt har påverkat mängden DNA på FTA-korten. Antalet användbara prover från K0 var färre än för K1 och K2 vilket kan berott på att de insamlade proverna var i för dålig kondition som lett till för lite DNA på FTA-korten.

Störst andel kloner av *P. infestans* fanns bland isolat från obehandlat led (K0) medan alla genotyper var unika hos isolat från led behandlade med full dos (K2). I likhet med det flesta resultat från Norden (Lehtinen *et al.*, 2009; Brurberg *et al.*, 2011; Sjöholm *et al.*, 2013) så finns nästan all variation inom populationen samt inga dominerande kloner och väldigt få kloner överlag (figur 14). Inte heller F_{ST} -värdena tyder på genetiska skillnader mellan populationerna (tabell 13). I tabell 12 visas den observerad heterozygositet hos populationerna och den är lik den förväntade heterozygositeten. Trots signifikanta skillnader i aggressivitet och i fungicidtolerans fanns inga tecken på selektion mot vissa genotyper i K1 eller K2. Resultaten visar istället att samtliga isolat från K2 var unika genotyper. De beräknade G/N-värdena ligger nära ett vilket pekar på stor genotypisk variation.

7.5 Sammanfattande diskussion och slutsatser

Trots många signifikanta resultat bland aggressivitetstesterna och fungicidtesterna som tyder på aggressivare isolat av *P. infestans* bland isolat från behandlade led (K1 & K2) jämfört med obehandlat led (K0) så finns inga tecken på en selektion utifrån resultaten från genotypbestämningen. Detta är möjligtvis ett resultat av att det bara är en fenotypisk förändring hos populationen bland K1 och K2, det vill säga att det bara är genuttrycket som har förändrats.

Den stora genotypiska diversiteten som finns bland *P. infestans* i Sverige gör att det troligen krävs ett stort antal prover för att upptäcka den eventuella genotypiska selektion som har skett över säsongen. Det kan möjligtvis ha skett en selektion för vissa genotyper som inte går att upptäcka med mikrosatelliter. För att upptäcka selektion för aggressivare genotyper krävs eventuellt en metod som innefattar studier på gener som kodar för något genuttryck.

En förändring i genuttrycket skulle vara en möjlig förklaring med tanke på att *P. infestans* uppvisar en så pass snabb anpassning, över bara en växtodlingssäsong. *Phytophthora infestans* snabba anpassningsförmåga har tidigare lyfts fram av (Cook *et al.*, 2006). Om selektion för fungicidtolerans sker över växtsäsongen och drivs av dosnivån skulle detta innebära att höga doser i början av bekämpningsprogrammet kan driva fram en ökad tolerans hos *P. infestans* i slutet av säsongen. Vilket i sin tur kan innebära en försämrade bekämpningseffekt i slutet av bekämpningsprogrammet. Den ökade aggressivitet som vi har funnit verkar ha drivits fram av fungicidbehandlingarna eftersom det är den faktor som skiljer leden åt. Inga signifikanta skillnader i aggressivitet kunde uppmätas mellan isolat från K1 och K2 vilket motsäger tidigare vedertagna uppfattningar inom odlarkår och bland växtskyddsförsäljare. Istället verkar skiljelinjen mellan vad som driver utvecklingen mot aggressivare fenotyper av *P. infestans* gå mellan behandlat och obehandlat. Resultaten i arbetet tyder på att behandling med fungicid driver utvecklingen mot mer aggressiva fenotyper och att dosnivån inte påverkar detta. I fungicidtesterna är det dock tydligt att isolaten från en högre dos har utvecklat en högre fungicidtolerans. Isolat från K2 utmärker sig tydligt med en högre tolerans medan skillnaderna i tolerans mellan isolat från K1 och K0 är mindre och inte lika konsekventa. Den högre tillväxten som isolaten från K2 verkade ha på de lägsta dosnivåerna jämfört med på agar utan tillsatt fungicid. Detta överensstämmer med vad Childers *et al.*, (2014) kunde se, nämligen att isolat som var okänsliga för fungiciden mefenoxam växte bättre på agar med fungiciden än utan. En möjlig orsak till att isolat från K2 har en högre fungicidtolerans kan vara att dessa överuttrycker målplatsenzymerna för fungiciderna och således begränsar dess effekter.

Arbetet utgick från fyra hypoteser:

(I) Halv rekommenderade fungiciddos vid bekämpning av potatisbladmögel ger lika hög skörd som fulla doser.

- Ja, inga signifikanta skillnader i skörd kunde uppvisas.

(II) Bekämpning av potatisbladmögel med fulla rekommenderade fungiciddoser selekterar fram vissa genotyper

- Nej, selektion för vissa genotyper kunde inte bevisas.

(III) Bekämpning av potatisbladmögel med halv rekommenderad fungiciddos selekterar inte fram mera aggressiva fenotyper av *Phytophthora infestans* jämfört med full dos.

- Ja, inga signifikanta skillnader i aggressivitet mellan isolat bekämpade med halv respektive full dos.

(IV) Bekämpning av potatisbladmögel med halv rekommenderad fungiciddos selekterar inte fram fler fungicidtoleranta fenotyper av *Phytophthora infestans* jämfört med full dos.

- Ja, resultaten tyder tvärtom på att bekämpning med full dos selekterar fram fler fungicidtoleranta fenotyper av *Phytophthora infestans*.

Våra resultat tyder på att halverade doser inte bidrar till ett mera aggressivt bladmögel. Då detta motsäger tidigare uppfattningar om motsatsen är det rimligt att ifrågasätta om vår metodik är korrekt. Alternativt har de tidigare uppfattningarna baserats på äldre preparat med annorlunda dos-responskurvor. Resultaten i arbetet kan inte ge någon vägledning kring om det är möjligt att köra halva doser om bekämpningsintervallet är längre än 7 dagar.

Utifrån våra resultat verkar det inte vara någon risk att använda sig av halverade doser ur ett aggressivitets- och fungicidtoleransperspektiv. Sammantaget pekar detta på en möjlighet för potatisodlare att anpassa fungiciddos efter bekämpningsbehov likt Skimmelstyrning (Nielsen, 2015a) utan att riskera att riskera ökad aggressivitet hos *P. infestans*. Detta gör förhoppningsvis att fler lantbrukare vågar bekämpa bladmögel med reducerade doser. Utifrån de dos-responskurvor som presenteras i arbetet och resultaten från graderingen av bladmögelangreppen i fältförsöket kan slutsatsen dras att det viktiga är inte dosens storlek utan hur hög bekämpningseffekt som uppnås. Genom optimerad användning av fungicider kan lönsamheten i odlingen ökas och belastningen på miljön minskas.

7.6 Forskningsbehov

Under arbetets gång har nya frågor kring *P. infestans* uppkommit som motiverar vidare forskning. Följer fungicidtoleransen som vissa fenotyper uppvisar med till nästa år eller försvinner den mellan säsongerna? När under säsongen sker skiftet i fungicidtolerans? Studier som undersöker om den fungicidtolerans som isolaten av *P. infestans* uppvisade på agar även innebär att bekämpningseffekten av fungiciderna i fält påverkas, kopplat till en kartläggning av hur populationsstrukturen hos *P. infestans* förändras av olika selektionstryck under växtodlingssäsongen hade varit intressanta. Ur ett direkt tillämpat perspektiv är det viktigt att kunna bedöma riskerna med en reduktion av fungiciddoserna vid bekämpning. Detta innebär att dos-responskurvor behövs tas fram för de preparat som används i Sverige. Risker för brunröta framhålls ofta vid diskussioner om reducerade fungiciddoser i bladmögelbekämpning, och studier som tydligare fastslår vilka samband som påverkar knölinfektion av *P. infestans* vore därför värdefulla.

8 Referenslista

- Agrios, G. N. (1988). *Plant pathology*. 3. ed. San Diego, Calif: Academic Press. ISBN 0-12-044563-8.
- Andersson, B., Sandström, M. & Strömberg, A. (1998). Indications of soil borne inoculum of *Phytophthora infestans*. *Potato Research*, 41(4), pp 305–310.
- Andersson, J. (2015). Prisuppgifter fungicider. johan-nes.andersson@lantmannen.com
- Andrison (1993). Nomenclature for Pathogenicity and Virulence: The Need for Precision. *Phytopathology* [online],. Available from: http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1993Abstracts/Phyto_83_889.htm. [Accessed 2015-11-28].
- Andrison, D. (1994). Dynamics of the survival and infectivity to potato tubers of sporangia of *Phytophthora infestans* in three different soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(8), pp 945–952.
- Bain, R. & Möller, K. (1998). Factors influencing tuber infection by *Phytophthora infestans*. *Proceedings of Third Workshop of an European Network for development of an Integrated Control Strategy of potato late blight*, Uppsala, Sweden, 1998. pp 210–226. Uppsala, Sweden: Applied Research for Arable Farming and Field Production of Vegetables.
- Black, W. (1970). The nature and inheritance of field resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in potatoes. *American Potato Journal*, 47(8), pp 279–288.
- Bayer Crop Science (2015-02-25). *Infinito*. <http://www.cropscience.bayer.se/Produkter/Infinito.aspx> [2015-12-09]
- Brurberg, M. B., Elameen, A., Le, V. H., Nærstad, R., Hermansen, A., Lehtinen, A., Hannukkala, A., Nielsen, B., Hansen, J., Andersson, B. & Yuen, J. (2011). Genetic analysis of *Phytophthora infestans* populations in the

- Nordic European countries reveals high genetic variability. *Fungal Biology*, 115(4–5), pp 335–342.
- Carlisle, D. J., Cooke, L. R., Watson, S. & Brown, A. E. (2002). Foliar aggressiveness of Northern Ireland isolates of *Phytophthora infestans* on detached leaflets of three potato cultivars. *Plant Pathology*, 51(4), pp 424–434.
- 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.
- Childers, R., Danies, G., Myers, K., Fei, Z., Small, I. M. & Fry, W. E. (2014). Acquired Resistance to Mefenoxam in Sensitive Isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 105(3), pp 342–349.
- Cobière, R. & Andrivon, D. (2003). Preparation of a simple pea medium for culturing *Phytophthora infestans*. Available from: <http://www.eucablight.org/Eucablight.asp>. [Accessed 2015-12-03].
- Cohen, Y., Rubin, E., Hadad, T., Gotlieb, D., Sierotzki, H. & Gisi, U. (2007). Sensitivity of *Phytophthora infestans* to mandipropamid and the effect of enforced selection pressure in the field. *Plant Pathology*, 56(5), pp 836–842.
- Collins, A., Milbourne, D., Ramsay, L., Meyer, R., Chatot-Balandras, C., Oberhagemann, P., Jong, W. D., Gebhardt, C., Bonnel, E. & Waugh, R. (1999). QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour. *Molecular Breeding*, 5(5), pp 387–398.
- Cook, D., Lees, A., Bain, R. & Cook, L. (2006). Variation in aggressiveness in *Phytophthora infestans*. British Potato Council.
- Cooke, D. E. L., Cano, L. M., Raffaele, S., Bain, R. A., Cooke, L. R., Etherington, G. J., Deahl, K. L., Farrer, R. A., Gilroy, E. M., Goss, E. M., Grünwald, N. J., Hein, I., MacLean, D., McNicol, J. W., Randall, E., Oliva, R. F., Pel, M. A., Shaw, D. S., Squires, J. N., Taylor, M. C., Vleeshouwers, V. G. A. A., Birch, P. R. J., Lees, A. K. & Kamoun, S. (2012). Genome Analyses of an Aggressive and Invasive Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen. *PLoS Pathog*, 8(10), p e1002940.
- Eriksson, J. (1916). Det primära utbrottet av bladmögel (*Phytophthora infestans*) på potatisplantan. *I Kungliga lantbruksakademiens handlingar och tidskrift*. Stockholm: Ivar Haggströms boktryckeri aktiebolag. (55).
- Erwin, D. C. & Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora diseases worldwide*. p xii + 562 pp.

- Flier, W. G., Kroon, L. P. N. M., Hermansen, A., Van Raaij, H. M. G., Speiser, B., Tamm, L., Fuchs, J. G., Lambion, J., Razzaghian, J., Andrivon, D., Wilcockson, S. & Leifert, C. (2007). Genetic structure and pathogenicity of populations of *Phytophthora infestans* from organic potato crops in France, Norway, Switzerland and the United Kingdom. *Plant Pathology*, 56(4), pp 562–572.
- Flier, W. G. & Turkensteen, L. J. (1999). Foliar Aggressiveness of *Phytophthora infestans* in Three Potato Growing Regions in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 105(4), pp 381–388.
- Flor, H. H. (1971). Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9(1), pp 275–296.
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee (2015-xx-xx). *FRAC Code List 2015: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering)*. <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2015-finalC2AD7AA36764.pdf?sfvrsn=4> [2015-12-09]
- Freeland, J. R., Kirk, H. & Petersen, S. D. (2011). *Molecular ecology*. 2. ed., 1. impr. Chichester: Wiley-Blackwell. ISBN 978-1-119-99308-7.
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), pp 385–402.
- Fry, W.E, Goodwin, S.B, Matuszak, J.M, Spielman, L.J, Milgroom, M.G & Drenth, A. (1992). Population Genetics and Intercontinental Migrations of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology*, 30(1), pp 107–130.
- Gallego, M. E. & Galindo, J. (1958). Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. *Phytopathology*, 48/1958, pp 274–277.
- Goodwin, S. B., Smart, C. D., Sandrock, R. W., Deahl, K. L., Punja, Z. K. & Fry, W. E. (1998). Genetic Change Within Populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada During 1994 to 1996: Role of Migration and Recombination. *Phytopathology*, 88(9), pp 939–949.
- Govers, F. & Gijzen, M. (2006). *Phytophthora* Genomics: The Plant Destroyers' Genome Decoded. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(12), pp 1295–1301.
- Grönberg, L., Andersson, B. & Yuen, J. (2011). Can Weed Hosts Increase Aggressiveness of *Phytophthora infestans* on Potato? *Phytopathology*, 102(4), pp 429–433.

- Johansson, A. (2015). Bestämning av parningstyp. aejo0001@stud.slu.se
- Judelson, H. S. & Blanco, F. A. (2005). The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), pp 47–58.
- Knutsson, H. (2015). henrik.knutsson@lyckeby.com, Lyckeby Starch.
- Lagercrantz, U., Ellegren, H. & Andersson, L. (1993). The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucleic Acids Research*, 21(5), pp 1111–1115.
- Landeo, J. A. & Turkensteen, L. (1989). Assessment of partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) of major genes in potato. *American Potato Journal*, 66, p 530.
- Lees, A. K., Wattier, R., Shaw, D. S., Sullivan, L., Williams, N. A. & Cooke, D. E. L. (2006). Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology*, 55(3), pp 311–319.
- Lehtinen, A., Andersson, B., Le, V. H., Nærstad, R., Rastas, M., Ketoja, E., Hannukkala, A. O., Hermansen, A., Nielsen, B. J., Hansen, J. G. & Yuen, J. (2009a). Aggressiveness of *Phytophthora infestans* on detached potato leaflets in four Nordic countries. *Plant Pathology*, 58(4), pp 690–702.
- Lehtinen, A., Andersson, B., Le, V. H., Nærstad, R., Rastas, M., Ketoja, E., Hannukkala, A. O., Hermansen, A., Nielsen, B. J., Hansen, J. G. & Yuen, J. (2009b). Aggressiveness of *Phytophthora infestans* on detached potato leaflets in four Nordic countries. *Plant Pathology*, 58(4), pp 690–702.
- Lehtinen, A., Hannukkala, A., Andersson, B., Hermansen, A., Le, V. H., Nærstad, R., Brurberg, M. B., Nielsen, B. J., Hansen, J. G. & Yuen, J. (2008). Phenotypic variation in Nordic populations of *Phytophthora infestans* in 2003. *Plant Pathology*, 57(2), pp 227–234.
- Li, Y., Cooke, D. E. L., Jacobsen, E. & van der Lee, T. (2013). Efficient multiplex simple sequence repeat genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Microbiological Methods*, 92(3), pp 316–322.
- Lucas, J. A. & Dickinson, C. H. (1998). *Plant pathology and plant pathogens*. 3rd ed. Malden, Mass: Blackwell Science. ISBN 978-0-632-03046-0.
- Lucas, J. A., Society, B. M., Pathology, B. S. for P. & Pathologists, S. of I. P. (1991). *Phytophthora: Symposium of the British Mycological Society, the British Society for Plant Pathology and the Society of Irish Plant Pathologists Held at Trinity College, Dublin September 1989*. Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-40080-0.

- Macdonald, B. A. (2004). Population Genetics of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor* [online],. Available from: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/PopGenetics/Pages/default.aspx>. [Accessed 2015-12-02].
- Malcolmson, J. F. (1969). Races of *Phytophthora infestans* occurring in Great Britain. *Transactions of the British Mycological Society*, 53(3), pp 417–IN2.
- Mariette, N., Mabon, R., Corbière, R., Boulard, F., Glais, I., Marquer, B., Pasco, C., Montarry, J. & Andrivon, D. (2015). Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*: are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology*, p n/a–n/a.
- McDonald, B. A. & Linde, C. (2002). Pathogen Population Genetics, Evolutionary Potential, and Durable Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), pp 349–379.
- 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), pp 92–99.
- Mizubuti, E. S. G., Aylor, D. E. & Fry, W. E. (2000). Survival of *Phytophthora infestans* Sporangia Exposed to Solar Radiation. *Phytopathology*, 90(1), pp 78–84.
- Nielsen, B. J. (2015a). Anpassad bladmögelbekämpning i Danmark. Power point, Kristianstad. [Accessed 2015-11-28]. bent.nielsen@agro.au.dk.
- Nielsen, B. J. (2015b). Kompletterande uppgifter om dos-responskurvor. bent.nielsen@agro.au.dk.
- Nordisk Alkali (2015-xx-xx). *Ranman Top*. <http://www.nordiskalkali.se/ranmantop/> [2015-12-09]
- Olofsson, B. (1977). *Bladmögel och brunröta, Phytophthora infestans, på potatis. I-III*. Institutionen för växt- och skogsskydd.
- Peakall, R. & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 28(19), pp 2537–2539.
- Sansome, E. (1965). Meiosis in Diploid and Polyploid Sex Organs of *Phytophthora* and *Achlya*. *Cytologia*, 30(2), pp 103–117.

- Saville, A., Graham, K., Grünwald, N. J., Myers, K., Fry, W. E. & Ristaino, J. B. (2014). Fungicide Sensitivity of U.S. Genotypes of *Phytophthora infestans* to Six Oomycete-Targeted Compounds. *Plant Disease*, 99(5), pp 659–666.
- Serrati, L. & Cestari, P. (2006). Mandipropamid: new fungicide against oomycete phytopathogens., 2006. pp 9–16. Università di Bologna.
- Sjöholm, L. (2012). How sexual reproduction affects the population biology of *Phytophthora infestans*. Sveriges lantbruksuniversitet.
- Sjöholm, L., Andersson, B., Högberg, N., Widmark, A.-K. & Yuen, J. (2013a). Genotypic diversity and migration patterns of *Phytophthora infestans* in the Nordic countries. *Fungal Biology*, 117(10), pp 722–730.
- Sjöholm, L., Andersson, B., Högberg, N., Widmark, A.-K. & Yuen, J. (2013b). Genotypic diversity and migration patterns of *Phytophthora infestans* in the Nordic countries. *Fungal Biology*, 117(10), pp 722–730.
- Stewart, H. E., Bradshaw, J. E. & Pande, B. (2003). The effect of the presence of R-genes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) of potato (*Solanum tuberosum*) on the underlying level of field resistance. *Plant Pathology*, 52(2), pp 193–198.
- Strömberg, A., Boström, U. & Hallenberg, N. (2001). Oospore Germination and Formation by the Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* in vitro and under Field Conditions. *Journal of Phytopathology*, 149(11-12), pp 659–664.
- Syngenta (2015-xx-xx). *Revus Top*.
<http://www3.syngenta.com/country/se/sv/vaxtskydd/produkter/svampmedel/Pages/Revus-Top.aspx> [2015-12-09]
- Tafforeau, S., Latorose, M. ., Duvert, P., Bardsley, E., Wegmann, T. & Schirring, A. (2005). Infinito a novel fungicid for long-lasting control of late blight in potato. *Proceedings of Potato in progress science meets practice*, Emmeloord, Nederländerna, 2005. pp 315–323. Emmeloord, Nederländerna. ISBN 978-90-76998-84-8.
- Tautz, D. & Renz, M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12(10), pp 4127–4138.
- Turkensteen, L. J. (1993). Durable Resistance of Potatoes Against *Phytophthora infestans*. In: Jacobs, T. & Parlevliet, J. E. (Eds) *Durability of Disease Resistance*. pp 115–124. Springer Netherlands. (18). ISBN 978-94-010-4885-9.

- Turner, R. S. (2005). After the famine: Plant pathology, *Phytophthora infestans*, and the late blight of potatoes, 1845–1960. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences*, 35(2), pp 341–370.
- Van Der Plank, J. E. (1963). *Plant Diseases: Epidemics and Control*. Elsevier. ISBN 978-1-4832-6213-0.
- Widmark, A.-K., Andersson, B., Cassel-Lundhagen, A., Sandström, M. & Yuen, J. E. (2007). *Phytophthora infestans* in a single field in southwest Sweden early in spring: symptoms, spatial distribution and genotypic variation. *Plant Pathology*, 56(4), pp 573–579.
- Widmark, A.-K., Andersson, B., Sandström, M. & Yuen, J. E. (2011). Tracking *Phytophthora infestans* with SSR markers within and between seasons – a field study in Sweden. *Plant Pathology*, 60(5), pp 938–945.
- Yuen, J. E. & Andersson, B. (2013). What is the evidence for sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Europe? *Plant Pathology*, 62(3), pp 485–491.
- Zan, K. (1962). Activity of *Phytophthora infestans* in soil in relation to tuber infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 45(2), pp 205–221.

9 Tackord

Stort tack till våra handledare Björn Andersson och Lina Sjöholm som visat stort engagemang och kommit med många goda råd och gett oss vägledning genom hela arbetet. Vi vill även tacka Henrik Knutsson på Lyckeby Starch som stått för försöksupplägget, fältförsökspersonalen på Hushållningssällskapets Fältförsök i Kristianstad samt all personal i laboratoriet på institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi. Ett speciellt tack till Matilda Stein Åslund för hjälp i laboratoriet. Vi vill även rikta ett stort tack till André Johansson som utfört parningsbestämningen, Mats Nordström på Lyckeby Starch som utfört graderingen av bruntröta och Lars Wiik som graderat bladmögelförekomsten under säsongen.