

Kartoffelafgiftsfonden

Afrapportering af KAF-projekt 2016

Titel

Effektiv bekæmpelse af *Alternaria* i kartofler og strategier som kan modvirke fungicidresistens

Projektdeltagere

Bent J. Nielsen (projektansvarlig), Annemarie Fejer Justesen & Isaac Kwesi Abuley, Forskningscenter Flakkebjerg, Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet

Ghita C. Nielsen, SEGES P/S

Resume

Der er i de senere år kommet øget fokus på bekæmpelse af kartoffelbladplet (*Alternaria solani*) i kartoffelmarkerne, og forsøg har vist betydeligt nettomerudbytte for bekæmpelse. anbefalinger til avlerne bygger på, at midlerne er virksomme, og at der ikke forekommer fungicidresistens. De sidste år er der imidlertid sket en markant ændring i lande som Tyskland, Belgien, Holland og Sverige, hvor der er sprøjtet intensivt mod kartoffelbladplet. Der er nu vished for, at resistente typer af *Alternaria*-svampen forekommer i disse lande, hvilket har ført til ændringer i anbefaling af midlerne. I danske undersøgelser i KAF-projektet benyttes samme metoder, som i de andre europæiske lande. En foreløbig undersøgelse i 2013 viste, at 7% af læsionerne har mutationen F129L (Dronninglund, Sunds og Jyndevad), som forårsager nedsat følsomhed overfor strobiluriner. De seneste undersøgelser fra KAF-projekterne i 2015-2016 viser, at 82-92% af de undersøgte isolater nu er af typen F129L. Der er således tale om en markant ændring hos *Alternaria*-svampen.

Der er udført tre markforsøg med bekæmpelse af *Alternaria*. Ved Flakkebjerg, hvor *Alternaria*-populationen var af den strobilurin-følsomme type, blev der opnået en god bekæmpelse med produkterne Amistar, Signum WG og Vendetta (med azoxystrobin) samt kombinationen Revus Top – Amistar – Signum WG. I forsøget ved Ikast var det generelle bekæmpelsesniveau lavere. Der kunne konstateres forekomst af typen F129L, og den bedste bekæmpelse af *Alternaria* blev set efter behandling med Signum og kombinationerne Revus Top – Amistar – Signum WG samt Dithane NT – Revus Top – Signum WG. Virkningen af de rene azoxystrobin-løsninger, Amistar, Vendetta samt af Dithane var derimod lav. I forsøget ved Billund var der et langt sædskifte uden kartofler, og angreb af *Alternaria* kom sent og var lavt i september.

Vi ved, at F129L-mutationen fører til delvis resistens eller nedsat følsomhed hos *Alternaria*-svampen over for azoxystrobin (Amistar) og til dels pyraclostrobin (Signum WG), som begge tilhører gruppen strobiluriner. Det betyder ikke, at strobilurin-fungiciderne ikke virker ved forekomst af resistent kartoffelbladplet, men at disse midler kan have en nedsat effekt.

Projektets faglige forløb

Baggrund

Der findes en lang række fungicider til anvendelse i kartofler, men det er kun tre specialprodukter, der har egentlig virkning mod kartoffelbladplet:

- Amistar (azoxystrobin),
- Signum (boscalid + pyraclostrobin)
- Revus Top (difenoconazol + mandipropamid)

De virksomme stoffer i produkterne tilhører strobilurintypen (QoI-fungicider, azoxystrobin og pyraclostrobin), carboxamider (boscalid) eller DMI-fungicider (difenoconazol). Produkterne anvendes også i andre afgrøder, og her er det kendt, at svampe som ligner *Alternaria* (f.eks. hvedegråplet forårsaget af *Zymoseptoria tritici*) hurtigt har dannet resistens mod disse fungicider efter hyppig anvendelse.

Fra USA er beskrevet en hurtig udvikling af resistens mod *Alternaria* i kartofler dyrket i områder med favorable klimaforhold (dug om natten) og efter mange behandlinger med azoxystrobin over flere år. I Europa er der de sidste ca. 5 år blevet undersøgt for forekomst af resistens. Det viser sig, at der hos *Alternaria*-svampen kan forekomme en type (mutation), som har nedsat følsomhed over for strobilurin-fungicider (azoxystrobin i Amistar). Typen benævnes F129L, og effekten af azoxystrobin ser ud til at være nedsat til et moderat niveau mod denne type (benævnes som moderat resistent og er i udenlandske

Kartoffelafgiftsfonden

undersøgelser nævnt som på niveau med mancozeb). Undersøgelserne i Tyskland, Belgien, Holland og Sverige omtaler alle udbredt forekomst af typen F129L i kartoffelmarkerne.

Projektets formål er at belyse udbredelse af de resistente *Alternaria*-svampe i kartoffelmarker samt virkning af forskellige antiresistens-strategier.

Status for projektet udført 2016

Der er i 2016 udførte markforsøg med forskellige bekæmpelsesstrategier (A) samt foretaget monitoring med indsamling og test af isolater fra danske kartoffelmarker (B1) og fra markforsøgene (B2):

A: markforsøg

Der er udført tre markforsøg i sorten Kuras ved Flakkebjerg (AU) samt ved Ikast og Billund (SEGES) efter nedenstående forsøgsplan (tabel 1).

Tabel 1. Forsøgsplan til test af forskellige bekæmpelsesstrategier mod kartoffelbladplet (*Alternaria solani*). Sort Kuras, 2016. Aktuelle sprøjtetidspunkt er i planen angivet for Flakkebjerg, men behandlinger ved Ikast og Billund er næsten samtidige.

		13-jul		26-jul		09-aug								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1														
2			Dithane		Dithane		Dithane							
3			0,25 S		0,25 S		0,25 S							
4			0,6 RT		0,6 RT		0,6 RT							
5			0,5 VEN		0,5 VEN		0,5 VEN							
6			0,5 A		0,5 A		0,5 A							
7			0,6 RT		0,5 A		0,25 S							
8			Dithane		0,6 RT		0,25 S							

0,5 A	Amistar 0,5 l/ha
0,6 RT	Revus Top 0,6 l/ha
0,5 VEN	Vendetta: 0,5 l/ha,
0,25 S	Signum 0,25 kg/ha
Dithane	Dithane NT 2,0 kg/ha

Virkningen af Dithane (mancozeb) i forsøgsled 2 er egentlig velkendt, når det anvendes ved alle behandlinger i sæsonen. Der kan ikke udvikles resistens mod Dithane (uspecifik virkemåde), og midlet er medtaget for at vise, hvad midlet i givet fald kan, hvis der skulle forekomme resistens mod de andre typer midler. I forsøgsled 4 er Revus Top med anden virkemekanisme anvendt tre gange for at kunne sammenligne med de øvrige midler. Forsøgsled 7-8 er strategier, som kan belyse, om skift mellem midlerne kan forsinke eller bremse udvikling af resistens.



Foto: Blad med angreb af kartoffelbladplet (*Alternaria solani*)

Ved Flakkebjerg (kunstig smitte) blev sprøjtning startet 13 juli ved et angrebsniveau på ca. 0,05%. Behandling tre gange med Amistar, Signum WG eller Vendetta havde en meget høj virkning mod

Kartoffelafgiftsfonden

Alternaria med 85% - 88% bekæmpelse (fig. 1 og tabel 2). Sprøjtning med Revus Top gav en signifikant lavere effekt (65% bekæmpelse), og behandling med Dithane NT havde, som forventet, en effekt på 47% bekæmpelse, hvilket var signifikant lavere end de øvrige produkter. Behandling med kombinationen Revus Top – Amistar – Signum WG havde en høj virkning (89% bekæmpelse) og på niveau med virkningen af Amistar, Signum WG eller Vendetta. Bekæmpelsesstrategien, hvor der blev benyttet Dithane NT – Revus Top – Signum WG, havde derimod en signifikant lavere virkning (72% bekæmpelse) (fig. 1).

I forsøget ved Ikast med naturlig smitte udviklede angreb af Alternaria sig som ved Flakkebjerg (tabel 1), men virkningen af de forskellige behandlinger var generelt lavere (tabel 2 og fig. 1). Bedste bekæmpelse blev set efter behandling med 3 x Signum samt kombinationerne Revus Top – Amistar – Signum WG og Dithane NT – Revus Top – Signum WG (40-47% bekæmpelse, fig. 1). Virkningen af 3 x Amistar, Vendetta og Dithane var lav, ca. 26-28% bekæmpelse.

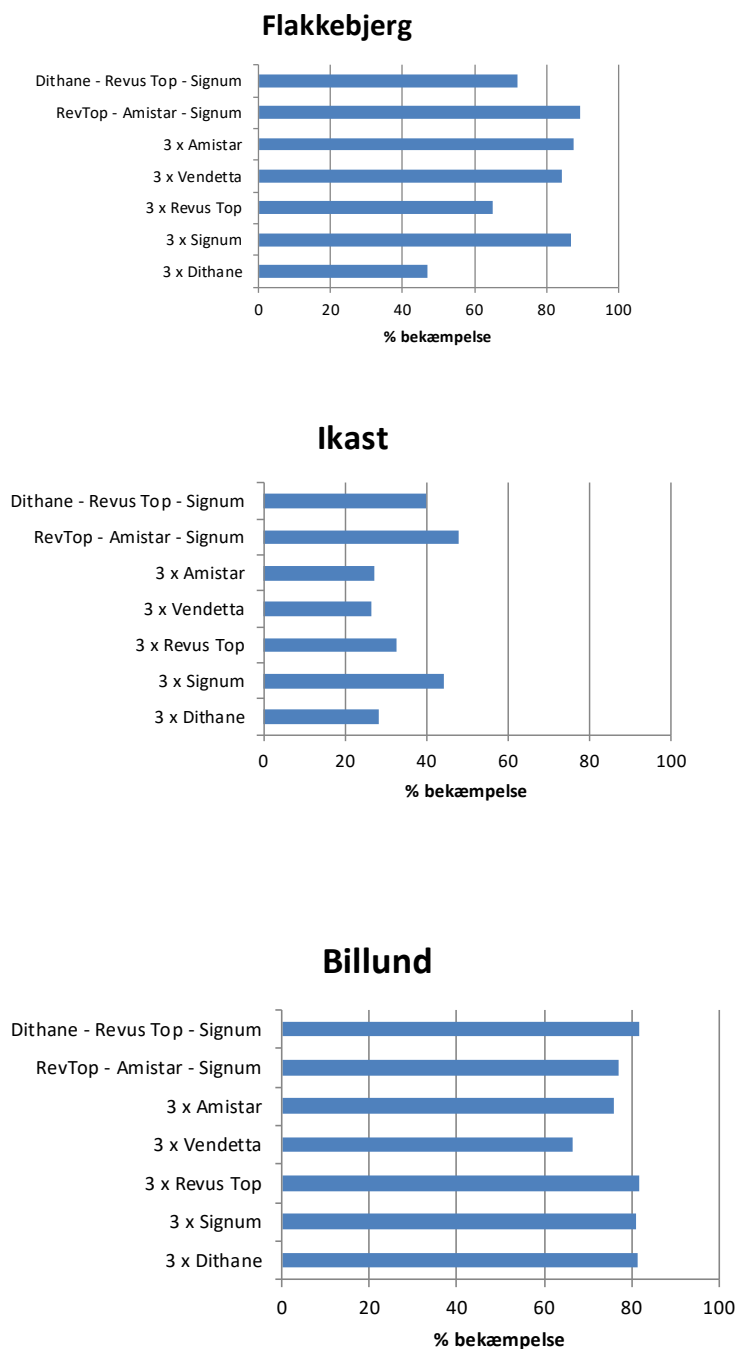
I forsøget ved Billund var der et langt sædskifte uden kartofler, og angreb af Alternaria kom sent og forblev relativt lavt (10% i september). Virkningen af de forskellige behandlinger var her høj (77-82% bekæmpelse, fig. 1), og kun behandling med 3 x Vendetta var lavere.

Udbytte i ubehandlet ved Flakkebjerg var 483 hkg/ha knolde og 90.7 hkg/ha stivelse med en udbyttefremgang efter behandling med Amistar, Signum, Vendetta eller Revus Top på 42 hkg/ha (8.7%) og 10 hkg stivelse/ha (11%; tabel 2). I forsøget ved Ikast er der kun små forskelle, og positivt merudbytte efter sprøjtning med Signum (tabel 2). I forsøget ved Billund kom angreb sent og de opnåede merudbytter er lave og usikre. Forsøget er ikke medtaget i tabel 2, men kan findes i tabelbilag Q25 (Landsforsøgene 2016).

Tabel 2. Resultat af forsøg med forskellige bekæmpelsesstrategier mod kartoffelbladplet (*Alternaria solani*). Forsøg med kunstig smitte (Flakkebjerg) øverst i tabellen og forsøg med naturlig smitte (Ikast) nederst i tabellen. Sort Kuras, 2016. Aktuelle sprøjtetidspunkter er angivet i tabel 1 for Flakkebjerg, men behandlinger ved Ikast er næsten samtidige. Oversigt over Landsforsøgene, 2016.

Stivelseskartofler	Pct. dækning bladplet										Beh. omk. kr. pr. ha	Stivelse, pct.	Udb. og merudb.		
	21/7	28/7	5/8	11/8	18/8	24/8	30/8	8/9	18/9	hkg knolde pr. ha			hkg stivelse pr. ha	netto, kr. pr. ha	
2016. 1 forsøg, kunstig smitte															
1. Ubehandlet ¹⁾	0,70	0,70	3,0	7,0	11	18	38	79	99	-	3.367	18,7	483,0	90,7	23.843
2. 3 x 2 kg Dithane NT	0,40	0,50	1,0	2,0	6	11	19	44	95	-	3.580	18,7	24,8	3,9	957
3. 3 x 0,25 kg Signum WG	0,20	0,20	0,9	1,0	2	2	4	10	50	-	3.820	19,8	39,4	13,1	3.477
4. 3 x 0,6 l Revus Top	0,60	1,00	2,0	2,0	3	10	12	23	78	-	3.468	18,9	26,0	5,4	1.520
5. 3 x 0,5 l Vendetta	0,10	0,20	2,0	2,0	2	2	5	13	61	-	3.588	19,1	32,1	7,5	2.030
6. 3 x 0,5 l Amistar	0,70	1,00	1,0	1,0	2	2	2	9	40	-	3.817	19,2	52,2	11,9	3.120
7. 0,6 l Revus Top 0,5 l Amistar 0,25 kg Signum WG	0,05	0,06	0,8	0,8	1	3	3	8	44	-	3.746	19,1	60,6	13,0	3.521
8. 2 kg Dithane NT 0,6 l Revus Top 0,25 kg Signum WG	0,20	0,60	2,0	2,0	4	9	10	15	60	-	3.667	18,9	41,9	9,0	2.400
LSD													ns		
2016. 1 forsøg, naturlig smitte															
1. Ubehandlet ¹⁾	0	0	0,00	0,04	0,10	2,0	8	10	14	48	3.367	23,4	338,3	79,1	20.363
2. 3 x 2 kg Dithane NT	0	0	0,00	0	0,08	0,5	2	7	10	38	3.580	22,9	0,0	-1,8	-753
3. 3 x 0,25 kg Signum WG	0	0	0,01	0	0,30	0,8	2	6	8	26	3.820	23,1	13,3	2,0	147
4. 3 x 0,6 l Revus Top	0	0	0,00	0	0,10	1,0	5	10	13	28	3.468	23,4	0,8	0,4	20
5. 3 x 0,5 l Vendetta	0	0	0,00	0	0,30	1,0	5	8	9	36	3.588	23,6	-1,7	0,3	-131
6. 3 x 0,5 l Amistar	0	0	0,00	0	0,10	1,0	5	7	10	36	3.817	23,5	-8,3	-1,5	-900
7. 0,6 l Revus Top 0,5 l Amistar 0,25 kg Signum WG	0	0	0,00	0	0,20	0,5	1	5	7	25	3.746	23,0	6,7	0,2	-319
8. 2 kg Dithane NT 0,6 l Revus Top 0,25 kg Signum WG	0	0	0,00	0	0,10	0,5	1	5	10	28	3.667	23,4	-1,7	-0,2	-360
LSD													ns		

Kartoffelafgiftsfonden



Figur 1. Pct. bekæmpelse af kartoffelbladplet (*Alternaria solani*) efter forskellige bekæmpelsesstrategier. Sort Kuras, Flakkebjerg, Ikast og Billund 2016. Forsøgsplan fremgår af tabel 1.

B: Monitoring for azoxystrobin-resistent type F129L

B1 Test af isolater fra danske kartoffelmarker

I KAF projektet for 2015 "Bekæmpelse af kartoffelbladplet (*Alternaria*) i kartofler" er der undersøgt for udbredelsen af den resistente type F129L. I 2016 er der i projektet "Effektiv bekæmpelse af *Alternaria* i kartofler og strategier som kan modvirke fungicidresistens" tilsvarende indsamlet blade med læsioner, men i mindre omfang, da der i 2016 også indgik test af isolater udtaget fra markforsøg (del B2).

Kartoffelafgiftsfonden

2015

Der blev i september 2015 indsamlet kartoffelblade med symptomer på angreb af *Alternaria* fra forskellige kartoffelmarker i Jylland i vækstsæsonen. Bladene blev sendt til Flakkebjerg, som analyserede for forekomst af type F129L. Der er blevet anvendt samme metode til detektion af F129L mutationen som i Tyskland, Holland og Belgien. Metoden er blevet indkørt vha. reference isolater fra Tyskland: Isolater af *Alternaria solani* blev rendyrket fra blade med enkeltlæsioner, og DNA blev oprenset. Efterfølgende blev isolaterne genotypebestemt vha. PCR som beskrevet af Leiminger et al. (2014, *Plant Pathology* 63, 640-650) og efterfølgende blev PCR-produkterne DNA-sekventeret for detektion af F129L mutationen.

Der blev i alt indsamlet 77 isolater, og af disse var 82% af den resistente type F129L (tabel 3). Isolaterne blev indsamlet fra i alt 32 forskellige marker, og der blev konstateret resistente typer i 27 af markerne, svarende til 84% af markerne.

Tabel 3. Forekomst af resistent type F129L hos kartoffelbladplet (*Alternaria solani*) indsamlet fra kartoffelmarker september 2015.

	antal isolater		Pct. Resistente
	testet	med F129L	
AKV, Nordjylland	24	20	83%
BJ-Agro (Grindsted, Billund, Hovborg)	14	12	86%
Heden & Fjorden	16	11	69%
Jyndeved	9	9	100%
Jysk Landbrugsrådgivning	6	6	100%
Karup kartoffelmelsfabrik	3	3	100%
Samsø Landboforening	2	0	0%
SEGES	3	2	67%
Samlet	77	63	82%

2016

Der blev i august - september 2016 indsamlet kartoffelblade med symptomer på angreb af *Alternaria* fra kartoffelmarker i Jylland efter samme procedure som i 2015. Bladene blev sendt til Flakkebjerg, som analyserede for forekomst af type F129L.

Der blev i 2016 i alt testet 24 isolater, og af disse var 92% af den resistente type F129L (tabel 4). Isolaterne blev indsamlet fra i alt 7 forskellige marker, og der blev konstateret resistente typer i alle markerne.

Tabel 4. Forekomst af resistent type F129L hos kartoffelbladplet (*Alternaria solani*) indsamlet fra kartoffelmarker august - september 2016.

	Antal isolater		Pct resistente
	testet	med F129L	
Sulsted	4	4	100%
Grindsted	5	5	100%
Karup	1	1	100%
Skive	3	3	100%
Vodskov	3	1	33%
Vojens	8	8	100%
Samlet	24	22	92%

Kartoffelafgiftsfonden

B2 Test af isolater fra markforsøg 2016

I projektet 2016 er der yderligere blive indsamlet isolater fra forsøg med forskellige bekæmpelsesstrategier i markforsøget ved Flakkebjerg, Ikast og Billund (del A, tabel 1). Der er udtaget isolater fra led 1 (ubehandlet), 3, 4, 6 og 7 (forskellige middeltyper) i august og september, efter at sprøjtningen er afsluttet, og isolaterne er testet for forekomst af typen F129L.

Ved Flakkebjerg er der anvendt et følsomt isolat til smitte, og der er derfor kun udtaget isolater i ubehandlet for at teste populationen. Som det fremgår af tabel 5 (nederst), er alle de testede isolater af den azoxystrobin-følsomme type.

Det var vanskeligt at få tilstrækkeligt med isolater fra de behandlede led fra forsøgene ved Ikast og Billund. Resultaterne er derfor slået sammen for de to forsøg (tabel 5). I de ubehandlede parceller, er kun 46% af isolaterne af den moderat resistente type (F129L) ved testen i august-september, mens alle isolater efter sprøjtning med strobilurin-fungicider (pyraclostrobin i Signum, azoxystrobin i Amistar) var af den resistente type. Kun i forsøgsleddet med Revus Top (anden virkemekanisme) var der en svag (ikke-signifikant) tendens til lavere forekomst af typen F129L. Det må dog understreges, at materialet er meget begrænset, og der er kun tale om en tendens.

Tabel 5. Forekomst af resistent type F129L hos kartoffelbladplet (*Alternaria solani*) i markforsøg 2016 ved Sunds (Ikast) og Billund (to forsøg med naturlig smitte) samt Flakkebjerg (kun ubehandlet) Indsamlet august - september 2016. Forsøgsbehandlinger fremgår af tabel 1.

Sunds & Billund	Antal isolater		Pct resistente
	testet	med F129L	
1. Ubehandlet	35	15	43%
3. 3 x Signum	8	8	100%
4. 3 x Revus Top	8	7	88%
6. 3 x Amistar	6	6	100%
7. Revus Top-Amistar-Signum	4	4	100%

Flakkebjerg	Antal isolater		Pct resistente
	testet	med F129L	
1. Ubehandlet	6	0	0%

Alternaria-populationen ved Flakkebjerg er af den strobilurin-følsomme type og DNA-sekventering konfirmerede at det var den følsomme type, der forårsagede symptomer. Bekæmpelse i markforsøget ved Flakkebjerg (tabel 1, fig. 1) er da også høj efter anvendelse af svampemidler med indhold af strobilurin-fungicider (Amistar, Signum).

I forsøgene ved Sunds og Billund forekommer F129L typen i de ubehandlede led. Forsøgene indikerer også at efter behandling er forekomsten af F129L højere, men da få isolater er blevet undersøgt er datamaterialet ikke tilstrækkeligt stort til at sige noget sikkert om i hvor stort omfang. Dog kan man se, at virkningen af Amistar og Vendetta (med azoxystrobin) er relativt svag hvilket underbygges af den høje forekomst af F129L typen.

I forsøget ved Billund kom angreb af *Alternaria* sent og var relativt svage (ca. 10% midt i september), og alle led havde god virkning, bortset fra forsøgsled med Vendetta (fig. 1)

Konklusion:

Der er udført tre markforsøg med bekæmpelse af *Alternaria*. Ved Flakkebjerg, hvor *Alternaria*-populationen var af den strobilurin-følsomme type, blev der opnået en god bekæmpelse med produkterne Amistar, Signum WG og Vendetta samt kombinationen Revus Top – Amistar – Signum WG. I forsøget ved Ikast var det generelle bekæmpelsesniveau lavere. Der kunne konstateres forekomst af typen F129L, og den bedste bekæmpelse af *Alternaria* blev set efter behandling med Signum og kombinationerne Revus Top – Amistar – Signum WG samt Dithane NT – Revus Top – Signum WG.

Kartoffelafgiftsfonden

Virkningen af Amistar, Vendetta og Dithane var lav. I forsøget ved Billund var der et langt sædskifte uden kartofler, og angreb af Alternaria kom sent og var lavt i september.

I projektet 2016 er der indsamlet isolater fra markforsøgene ved Flakkebjerg, Ikast og Billund i august - september efter sprøjtningen er afsluttet. Ved Flakkebjerg er der anvendt et følsomt isolat til smitte, og alle de testede isolater fra ubehandlede parceller var af den azoxystrobin-følsomme type. I de ubehandlede parceller ved Ikast og Billund (naturlig smitte) var kun 43% af isolaterne af den moderat resistente type (F129L), mens alle isolater efter sprøjtning med strobilurin-fungicider (pyraclostrobin i Signum, azoxystrobin i Amistar) var af den resistente type.

I 2013 blev der indsamlet blade med læsioner fra forsøgslokaliteterne ved Dronninglund, Sunds og Jyndevad, og her havde ca. 7% af læsionerne mutationen F129L. Monitoringen i 2015-2016 i danske kartoffelmarker viste, at 82-92% af de undersøgte isolater var af typen F129L, hvilket er samme niveau som bl.a. er set i hollandske, tyske og belgiske kartoffelmarker. Firmaerne overvåger også selv udviklingen af resistens og har fundet mellem 50-85% af isolaterne som værende resistente over for azoxystrobin (BASF og Syngenta; upubliceret). Der er således tale om en markant ændring hos Alternaria-svampen. Vi ved, at F129L-mutationen fører til delvis resistens eller nedsat følsomhed hos Alternaria-svampen over for azoxystrobin (Amistar) og til dels pyraclostrobin (Signum), som begge tilhører gruppen strobiluriner. Det betyder ikke, at strobilurin-fungiciderne ikke virker ved forekomst af resistent kartoffelbladplet, men at midlerne kan have en nedsat virkning.

Formidling af resultaterne

Publicering:

- Oversigt over Landsforsøgene 2016
- Nielsen, Bent J & Isaac Abuley 2016. Control of late blight (*Phytophthora infestans*) and early blight (*Alternaria solani*) in potatoes. Applied Crop Protection 2016. DCA Report no. 094, april 2017, 97-113.

Formidling:

- Åbent hus arrangement ved forsøgshederne, hvor forsøgene har ligget
- Kartoffelworkshop, december 2016
- Indlæg på avlermøder mv., vinter 2016-2017
- Projektets resultater formidles via internettet på SEGES' hjemmeside (www.seges.dk under menupunktet "om Seges" > støttet af afgiftsfonde).
- Rapport fra projektet kan hentes via følgende link:
http://agro.au.dk/fileadmin/DJF/Agro/Projekter/Kartoffelafgiftsfonden/Effektiv_bekaempelse_a_lternaria.pdf