



Resistens mot SOPPMIDLER ved produksjon av granplanter

Figur 1. Gråskimmel på toårige planter av gran (*Picea abies*). Foto: G. M. Strømeng.

Ved produksjon av granplanter (*Picea abies*) kreves god kontroll med plantesjukdommer. Den største utfordringen er vanligvis gråskimmel som forårsakes av sopp innen slekten *Botrytis*. Bekjempelse er i stor grad basert på kjemiske soppmidler. Vi ønsket å undersøke om resistente stammer av soppen finnes på småplanter av gran, fordi det ved flere skogplanteskoler er funnet til dels mye skade av gråskimmel de senere årene, og fordi det nylig er dokumentert utbredt resistens i bærekulturer i Norge. Resistens hos gråskimmel kan redusere kvaliteten på plantene, og dette er også viktig for juletrenæringen, da rundt 40 % av produksjonen i Norge i dag består av gran.

Av Gunn Mari Strømeng, Venche Talgø og
Inger Sundheim Fløistad NIBIO



Resistens mot soppmidler er en stabil, arvelig egenskap som kan oppstå i en sopp-populasjon. Dette fører til mindre eller fullstendig tap av virkning av soppmidler, og soppen blir i stand til å vokse og utvikle seg godt selv om den eksponeres for disse midlene. I 2014 ble prosjek-

tet «Frisk gran til foryngelse av skog» (finansiert av Norges Forskningsråd) startet opp. Hovedhensikten med prosjektet er å bedre kvaliteten på granplanter til utplantning, blant annet ved å finne fram til en effektiv integrert bekjempelse av soppssjukdommer, først og fremst gråskimmel (figur 1 og 2).

For en integrert bekjempelsesstrategi med minst mulig bruk av soppmidler, er det en forutsetning at soppsprøytingene som utføres har god virkning. De senere årene har vi observert mye

Tabell 1. Soppmidler som er tillatt brukt mot gråskimmel i skogplanteskoler i Norge.

Handelspreparat	Virksomt/virksomme stoff	Kjemisk gruppe	Virker på
Topsin®	Tiofanat-metyl	Benzimidazoler	Celledeling
Rovral®	Iprodion	Dikarboksimider	Osmotisk signaloverføring
Teldor®	Fenheksamid	Hydroksyanilider	Steroldanning
Switch®	Cyprodinil + Fludioksonil	Anilinopyrimidiner Phenylpyrroler	Enzymdanning Osmotisk signaloverføring

gråskimmel på småplanter av gran til tross for at plantene har blitt sprøytet gjentatte ganger gjennom sesongen. I tillegg kommer det stadig rapporter fra andre land om at gråskimmel i mange kulturer (frukt, bær, grønnsaker og blomster) har utviklet resistens mot en rekke soppmidler. Risikoen for resistensutvikling har økt de siste tiårene på grunn av overgang fra soppmidler som virker på mange trinn i soppens livssyklus («multi-site inhibitors») til midler som virker på kun ett trinn i livssyklusen («single-site inhibitors») – se side 28. Sistnevnte gjør midlene mer spesifikke, slik at faren for negative, uønskede sideeffekter på andre levende organismer reduseres. Ulempen er at det gjerne er tilstrekkelig med bare én mutasjon i soppens arvemateriale for at den skal utvikle resistens. I Norge har vi funnet utbredt resistens mot soppmidler hos gråskimmel i produksjonsfelt med jordbær og bringebær Strømeng og Stensvand 2015). Mange av de samme soppmidlene brukes mot denne skadegjøreren i skogplanteskoler.

Litt om kjemiske soppmidler

Et kjemisk soppmiddel (fungicid) består av ett eller flere virksomme stoffer og tilsetningsstoffer. Det er det virksomme stoffet som hemmer/dreper skadegjøreren, selv om tilsetningsstoffene

også kan bidra til en sopphekkende effekt. Tilsetningsstoffer kan for eksempel være klebe- eller spredemidler som skal sikre best mulig virkning av soppmidlet. De virksomme stoffene kan plasseres i kjemiske grupper etter hvilken virkemåte de har på soppen. Det er vanligvis kryssresistens mellom soppmidler i samme kjemiske gruppe. Det betyr at når det er utviklet resistens mot ett virksomt stoff hos en soppstamme, vil denne også være resistent mot andre soppmidler i samme gruppe. Resistens mot virksomme stoffer fra ulike kjemiske grupper kalles multiresistens. Det er velkjent at gråskimmel kan utvikle multiresistens, og i prøver fra jordbærfelt har vi funnet resistens mot opptil fem kjemiske grupper i én og samme soppstamme (Strømeng og Stensvand 2015).

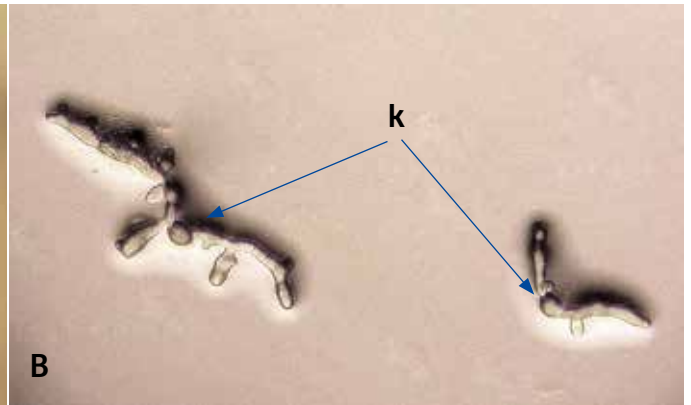
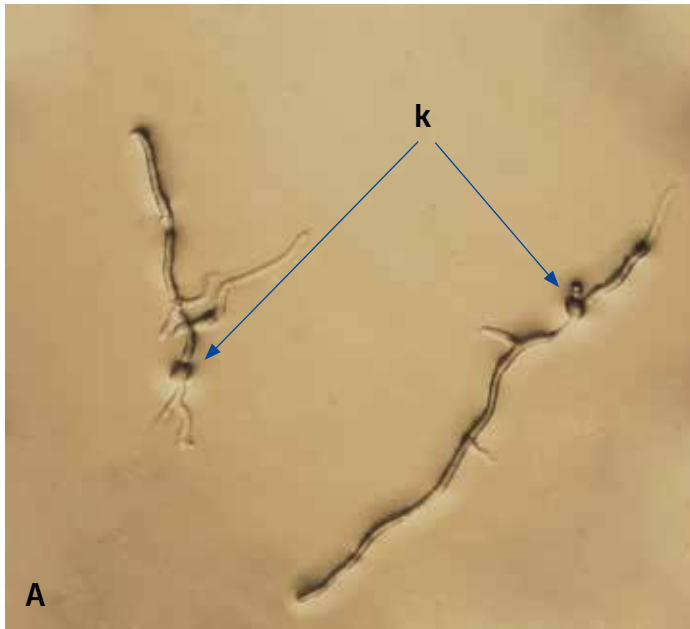
Det er fire handelspreparater tilgjengelige for bruk mot gråskimmel i skogplanteskoler i Norge (Tabell 1). I disse er det til sammen fem virkestoffer som kommer fra ulike kjemiske grupper. Kryssresistens er dermed ikke relevant for disse soppmidlene.

Resistenstesting

For testing av resistens ble gråskimmel isolert fra småplanter av gran. Metodikken vi brukte ble utviklet av Weber & Hahn



Figur 2. Sporer (konidier) (A), og sklerotier (herdige overlevelsesstrukturer, 1-2 mm lange) (B) av gråskimmel på nåler hos toårig gran (*Picea abies*). Foto: G. M. Strømeng.



Figur 3. Spiring av konidier (k) av gråskimmel på næringsagar tilsatt iprodion; normal vekst av spirehyfer hos resistent isolat (A), og unormal vekst med korte, tykke spirehyfer hos sensitivt isolat (B). Foto: G. M. Strømeng.

(2011). Soppsporer (konidier) fra isolatene ble høstet og blandet med vann, og dråper av konidiesuspensjonene ble satt på kunstig næringsagar tilsatt soppmiddel. Etter 14 timers inkubering ved 20°C ble spirehyfene målt. Manglende spiring, korte, kraftige spirehyfer og eventuelt sterk forgreining indikerte at isolatet var sensitivt overfor det aktuelle soppmidlet (figur 3). Ved å ha ulike konsentrasjoner av soppmiddel i næringsagaren var det mulig å plassere isolatene i en av de fire kategoriene «sensitive», «mindre sensitive», «moderat resistente» og «resistente» i forhold til hvert enkelt soppmiddel.

Vi ønsket å teste alle de virksomme stoffene hver for seg, og måtte derfor i stedet for Switch (se tabell 1) bruke handelspreparatet Geoxe®, som inneholder fludioksonil som eneste virksomme stoff. Det var ikke handelspreparater tilgjengelige med cyprodinil som eneste virksomme stoff, og derfor brukte vi handelspreparatet Scala®, som inneholder pyrimetanil. Pyrimetanil er et anilinopyrimidin, og det er derfor kryssresistens mellom cyprodinil og pyrimetanil.

Tabell 2. Antall isolater (%) av gråskimmel fra småplanter av gran fordelt på kategorier i forhold til følsomhet overfor fem kjemiske soppmidler.

Soppmiddel	Sensitive	Mindre sensitive	Moderat resistente	Resistente
Fenheksamid	0,0	74,3	- ¹⁾	25,7
Fludioksonil	82,9	14,3	2,9	-
Iprodion	34,3	54,3	5,7	5,7
Pyrimetanil ²⁾	37,1	37,1	25,7	0,0
Tiofanatmetyl	0,0	-	45,7	54,3

1) Kategorien ikke relevant for gjeldende soppmiddel (Weber & Hahn 2011)

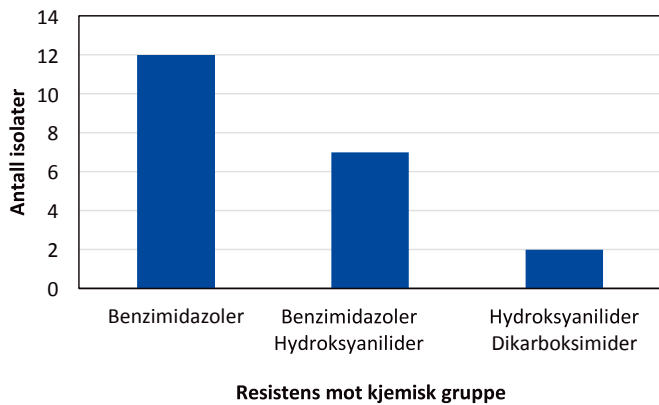
2) Testet i stedet for cyprodinil

Resistens mot flere midler påvist

Så langt er 35 soppisolater testet for resistens mot de fem aktive stoffene. Disse isolatene kom fra seks skogplanteskoler, hvor henholdsvis 13 og 17 kom fra to av planteskolene. De fem øvrige isolatene kom fra fire andre skogplanteskoler. Resultatene så langt viser at 21 (60 %) av de testede isolatene var resistente mot minst ett virksomt stoff. Av de øvrige 14 isolatene hadde samtlige moderat resistens mot ett virksomt stoff. Det var med andre ord ingen av isolatene som var sensitive overfor alle soppmidlene, og dette skyldtes hovedsakelig utbredt resistens mot tiofanatmetyl. Samtlige isolater var enten moderat resistente (45,7 %) eller resistente (54,3 %) mot tiofanatmetyl (Tabell 2). Årsaken til at dette midlet kom så dårlig ut, er antakelig at det har vært brukt i mange år, og at det også tidligere ble brukt et benzimidazol (benomyl, med preparatnavnet Benlate), slik at sprøyting har foregått med midler fra samme kjemiske gruppe i mange tiår. På etiketten til handelspreparatet Topsin står det at preparatet ikke skal brukes dersom resistens er konstatert. Feltforsøk uten bruk av tiofanatmetyl og smitteforsøk med resistente isolater på planter behandlet med tiofanatmetyl gjennomføres nå, og alt tyder på at en bør slutte å bruke dette midlet i norske skogplanteskoler.

Også fenheksamid kom dårlig ut da hele 25,7 % av isolatene viste seg å være resistente (Tabell 2). De øvrige isolatene hadde redusert sensitivitet, noe som betyr at soppen var i stand til å vokse ved lave konsentrasjoner av fenheksamid i næringsagaren. Dette kan ha konsekvenser ved sprøyting av planter som står i brett hvor barmassen har blitt veldig tett, og det er vanskelig å få god nok dekning. I produksjonsfelt med jordbær og bringebær var over 60 % av isolater av gråskimmel resistente mot fenheksamid (Strømeng og Stensvand 2015), så dette er utvilsomt et høy-risiko soppmiddel i forhold til resistensutvikling.

Utvikling av resistens mot iprodion går seinere enn for fenheksamid. Vi fant at 11,4 % av isolatene var moderat resistente eller resistente mot iprodion (Tabell 2) og tror derfor at sprøyting med iprodion fortsatt vil ha tilfredsstillende effekt. Ingen av



Figur 4. Fenotyper hos resistente isolater av gråskimmel samlet inn fra gran i skogplanteskoler.

isolatene var resistente mot fludioksonil, mens 25,7 % av isolatene hadde moderat resistens mot pyrimetamil (Tabell 2). Det betyr i praksis at virkningen av Switch i skogplanteskolene kan antas å være god, men dette preparatet har vært i bruk i relativt få år. Det er viktig å sprøyte maksimalt to ganger per sesong for å redusere risikoen for resistensutvikling.

Av de 21 isolatene som hadde utviklet resistens, var 9 (43 %) multiresistente. Sju var resistente mot benzimidazoler og hydroksyanilider (det vil si handelspreparatene Topsin og Teldor), og to var resistente mot hydroksyanilider og dikarboksimider (det vil si handelspreparatene Teldor og Rovral) (figur 4). Multiresistens er alvorlig, fordi beskyttelsen av plantene mot infeksjon blir dårlig selv om man alternerer med midler fra ulike kjemiske grupper, og fordi forekomst av resistens mot flere midler opprettholdes så lenge man fortsetter å sprøyte med minst ett av midlene det er resistens mot.

Tiltak for å redusere risikoen for resistensutvikling

Det er mange faktorer som gjør småplanter av gran utsatt for soppangrep. Plantene står i pluggbrett gjennom to vekstsesonger (figur 5), og dette gir etter hvert tett barmasse og langsom opptørking etter nedbør, duggfall og vanning. Tett barmasse gjør det også vanskelig å oppnå god nok dekning med soppmiddel til å gi plantene tilstrekkelig beskyttelse. Videre er kortdagsbehandling som innebærer dekning med svart plast opp til 16 timer i døgnet over flere uker en utfordring, fordi det gir gråskimmel gunstige forhold for infeksjon og utvikling under kortdagsdekket. I tillegg kan det også være vanskelig å komme til med sprøyteutstyr i perioden med kortdagsbehandling.

En integrert bekjempelsesstrategi betyr at man skal sprøyte minst mulig og ta hensyn til andre faktorer som påvirker smittepress og infeksjon i størst mulig grad. Det er viktig å holde produksjonsområdet rent. Hauger med planteavfall rett i nærheten av produksjonsfelt er yngleplass for gråskimmel-sporer og andre plantepatogene sopper. Planterester i arbeidsrom og på kjølelager kan også være smitekilder.

Det er ingenting som tyder på at det kommer soppmidler fra nye kjemiske grupper i overskuelig framtid. For juletrenæringen er det avgjørende at småplantene er av god kvalitet, og derfor er det viktig å bruke en integrert strategi for sjukdomsbekjempelse slik at virkningen av soppmidlene vi har til rådighet bevares best mulig.

Litteratur

- Strømeng, G. M. & Stensvand, A. 2015.** Gråskimmelsoppen har utviklet resistens mot soppmidler også i norsk bærproduksjon. *Norsk Frukt & Bær* 18 (2): 20-22.
- Weber, R. W.S. & Hahn, M. 2011.** A rapid and simple method for determining fungicide resistance in *Botrytis*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 118: 17-25. ■



Figur 5. Småplanter av gran (*Picea abies*) i produksjonsfelt står tett og er utsatt for gråskimmel. Foto: G. M. Strømeng.