

# Utvidet sluttrapport for prosjektet «Bærekraftig bekjempelse av soppsykdommer i potet ved bruk av silisium og naturlige jordbakterier»

(2021/63816, Agros 165018)

*Tage Thorstensen, Vinh H. Le, Paal Krokene, Håvard Eikemo, May Bente Brurberg*



## **SAMMENDRAG:**

Smitteforsøk med svartskurv på potet i veksthus sommeren 2021 viste at ulike bakterie- og mikrosilika-behandlinger ga større salgbar avling enn behandling med kommersielle kjemiske og biologiske beisepreparater. Vi fant ingen synergier mellom mikrosilika og bakteriepreparater under våre forsøksbetingelser. Våre behandlinger ga like god eller bedre effekt enn de kommersielle behandlingene på enkelte symptomer etter svartskurvsmitte. Kjemiske beisemidler hadde imidlertid en bedre effekt på sklerotier på potetoverflaten.

I det første prosjektåret isolerte og karakteriserte vi en rekke nye bakterier fra potet. Disse viste sopphemnende effekt i petriskåler, men siden bakteriene ikke var godt nok karakteriserte innen forsøksstart våren 2022 fortsatte vi forsøkene med bakteriene vi hadde brukt i 2021. Sommeren 2022 gjorde vi nye forsøk med andre konsentrasjoner, applikasjonsmåter og flere kontroller for å bekrefte resultatene fra 2021. Forsøkene i 2022 gikk dessverre ikke etter planen fordi smittede kontrollplanter av ukjente årsaker ga større smittefri avling enn behandling med både våre egne og kommersielle preparater.

På grunn av de sprikende resultatene vi oppnådde på potet i 2021 og 2022, samt begrenset med tid igjen på prosjektet, valgte vi å gjøre forsøk med mikrosilika og bakteriepreparater på salat for å bekjempe gråskimmel og storknolla råtesopp. Salat ble valgt fordi salatforsøk kan utføres på langt kortere tid enn potetforsøk. Som i potet fant vi ingen synergieffekt mellom mikrosilika og bakteriepreparater på sykdomsresistens, men begge behandlingene, og spesielt i kombinasjon, ga en kraftig økning i plantebiomasse. Samtidig viste bakteriene svært god effekt mot smitte av gråskimmel og en moderat effekt mot smitte av storknolla råtesopp.

# Innhold

1 Innledning.....	5
2 Metoder og resultater .....	6
2.1 Isolering og testing av naturlige vekstfremmende bakterier .....	6
2.2 «Snille» jordbakterier og mikrosilika mot <i>Rhizoctonia solani</i> infeksjon på potet.....	6
2.2.1 Veksthusforsøk med <i>Rhizoctonia solani</i> i 2021-sesongen .....	6
2.2.2 Veksthusforsøk med bekjemping av <i>Rhizoctonia solani</i> i 2022-sesongen.....	11
2.2.3 Veksthusforsøk med bekjemping av bløtråte i salat i 2022-sesongen.....	13
2.2.4 Veksthusforsøk med salat behandlet med bakterier og mikrosilika.....	15
3 Diskusjon og konklusjon .....	20

# 1 Innledning

Skadedyr og sykdommer ødelegger 20-40 % av verdens plantebaserte matproduksjon selv under dagens plantevernregime med utstrakt bruk av kjemiske plantevernmidler. En viktig årsak til de store skadene er at mange skadegjørere har utviklet resistens mot plantevernmidlene som finnes på markedet. Økt resistens hos skadegjørerne og et EU-direktiv som stiller økte krav til bærekraftig bruk av plantevernmidler har gjort at stadig færre kjemiske sprøytemidler er tilgjengelige for bekjempelse av soppsykdommer i landbruket. I EU-direktivet oppfordres det til å bruke integrert plantevern, lavrisiko-pesticider eller ikke-kjemiske alternativer før man bruker kjemiske plantevernmidler. Også for potet har det blitt færre kjemiske plantevernmidler tilgjengelig for produsentene. I potet sprøytes eller beises det i dag mot viktige sykdommer som blant annet *Phytophthora infestans* (potettørråte), *Rhizoctonia solani* (svartskurv), *Sclerotinia sclerotiorum* (storknolla råtesopp), *Pythium*-arter (pythiumråte) og *Fusarium*-arter (fusariumråte). Svartskurv er den skurvsykdommen som gir størst avlingstap. Den angriper ledningsvevet og gir reduserte avlinger, økt forekomst av misforminger og skurvarr på poteten. Godkjente midler for beising av potet mot svartskurv er blant annet det kjemiske plantevernmiddelet Maxime, som inneholder virkestoffet fludioksonil, og det biologiske plantevernmiddelet Serenade som inneholder bakterien *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713.

Naturlige vekstfremmende jordbakterier (såkalte «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria»: PGPR) er en biologisk bekjempingsmetode som er klassifisert som lavrisikostoff. Disse «snille» bakteriene har flere gode egenskaper: (1) de stimulerer plantenes eget immunforsvar, (2) de induserer plantevekst og (3) de produserer naturlige antimikrobielle stoffer som dreper skadegjørerne (Radhakrishnan et al., 2017). Vi har tidligere funnet og isolert forskjellige PGPR fra salat og jordbær dyrket på Østlandet. Våre bakterier stimulerer plantevekst og planteforsvar og dreper *R. solani*, *S. sclerotiorum*, *Pythium*-arter og *Fusarium*-arter. Bakteriene vi har funnet har også effekt mot alvorlige bakteriesykdommer som *Pectobacterium*-arter (som forårsaker bløtråte).

Det naturlig forekommende grunnstoffet silisium har vist lignende positiv effekt mot plantesykdommer som jordbakterier. Silisium kan forbedre plantenes forsvar mot bakterier og soppsykdom ved å øke produksjonen av antimikrobielle stoffer, indusere viktige forsvarsgener og endre hormonbalansen i planten (Wang et al., 2017). Positive effekter av silisiumbehandling mot soppsykdommer har blitt påvist i mange jordbruksvekster, inkludert potet der det er vist at silisium øker plantenes motstandskraft mot blant annet fusariumråte (Bakhat et al., 2018). Det er gjort lite forskning på den kombinatoriske effekten av behandling med både silisium og PGPR, men siden behandlingene ser ut til å ha mange av de samme virkningsmekanismene vil en kombinatorisk behandling trolig være effektiv, særlig under sub-optimale miljøbetingelser (Etesami, 2018).

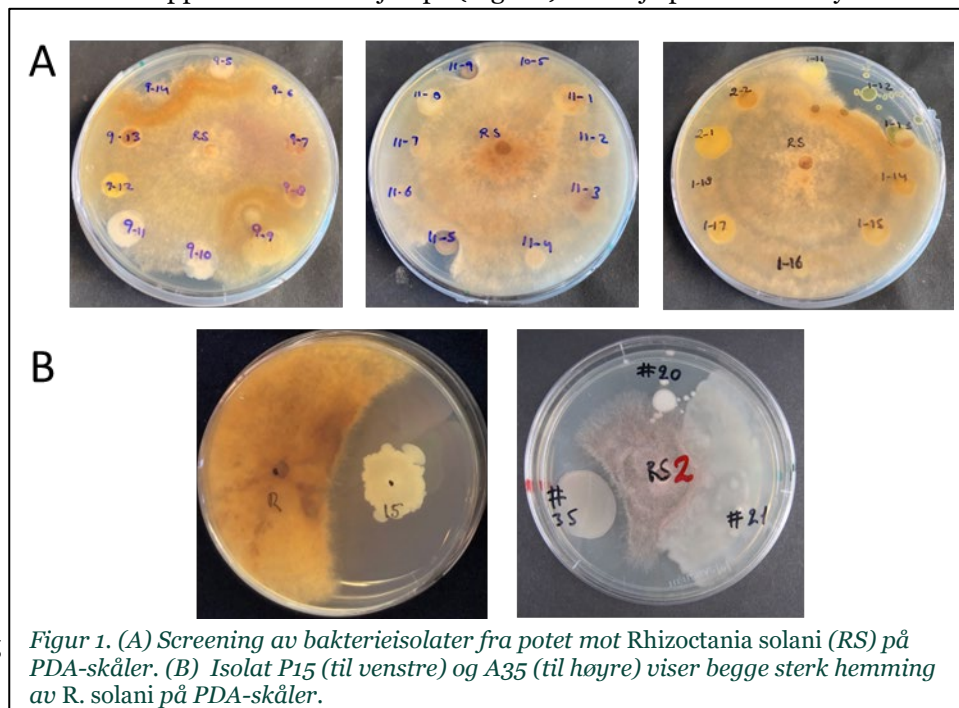
Målet med dette prosjektet var å finne en ny og bærekraftig metode for å bekjempe sopp (og bakterier) i potet basert på en optimal kombinasjon av jordbakterier og vår samarbeidspartner Elkem sitt silisiumpreparat (såkalte mikrosilica-partikler). I prosjektet ønsket vi å finne ut om metoden kan være et miljøvennlig alternativ til eksisterende bekjempelsesmetoder basert på kjemiske sprøytemidler og sammenligne effekten av vår optimale behandling (basert på PGPR, silisium eller PGPR + silisium) med kjemikaliebaserte og biologiske bekjempelsesmetoder som brukes av norske produsenter.

## 2 Metoder og resultater

### 2.1 Isolering og testing av naturlige vekstfremmende bakterier

For å finne stedeagne vekstfremmende jordbakterier (PGPR) fra potet med mulig soppdrepende effekt som kunne inngå i en biologisk bekjempelsesmetode, tok vi prøver fra tre forskjellige kultivarer (Asterix, Cerisa og Erika) av potet som var dyrket i Norge. Skall fra vasket og uvasket potet for begge kultivarene ble homogenisert og fortynnet i saltbuffer og spredd ut på agarskåler for oppformering av bakterieisolater. Unike isolater fra potet ble deretter testet for soppdrepende effekt i et antagonist-assay på PDA-skåler, hvor bakteriene dyrkes på samme skål som soppen den skal bekjempe (Figur 1). Ved hjelp av slike assay screenet vi 130 forskjellige

bakterier isolert fra potet mot *Rhizoctonia solani* (svartskurv) (Figur 1 A). Av disse bakteriene var det flere som viste svak hemming av *R. solani*, men ingen av isolatene viste god nok hemming til at vi valgte å gå videre med disse i veksthusforsøk på potet. I forsøkene brukte vi derfor to isolater som tidligere har vist sterk hemming av *R. solani* (Figur 1 B), og som vokser raskt og gir tette bakteriekulturer på 30°C.



Figur 1. (A) Screening av bakterieisolater fra potet mot *Rhizoctonia solani* (RS) på PDA-skåler. (B) Isolat P15 (til venstre) og A35 (til høyre) viser begge sterk hemming av *R. solani* på PDA-skåler.

### 2.2 «Snille» jordbakterier og mikrosilika mot *Rhizoctonia solani* infeksjon på potet

#### 2.2.1 Veksthusforsøk med *Rhizoctonia solani* i 2021-sesongen

Sykdomsfrie settepoteter av sorten Asterix, som er mottagelig for svartskurv (*R. solani*), ble bestilt fra Overalla Klonavlssenter AS. Potene ble behandlet med kjemiske beisemidler og ulike bakterier ved dypping før de ble plantet i 5 L potter med jord med eller uten tilsatt silisium-partikler (mikrosilika-partikler) fra Elkem (Tabell 1). Vi valget ulike kombinasjoner av bakterieisolatene P15 og A35 (se Figur 1B) og mikrosilika. Disse behandlingene sammenlignet vi med flere ulike kontrollbehandlinger: en kjemisk kontroll (Maxime), en biologisk kontroll (Serenade), usmittede og ubehandlede poteter, smittede og ubehandlede poteter, og en kontroll for vekstmediet som bakteriene er dyrket i (LB). Potetene ble plantet ut i potter som var opphøyet ca. 3 cm over bordoverflaten for å unngå krysskontaminering av både behandling og smitten, og deretter

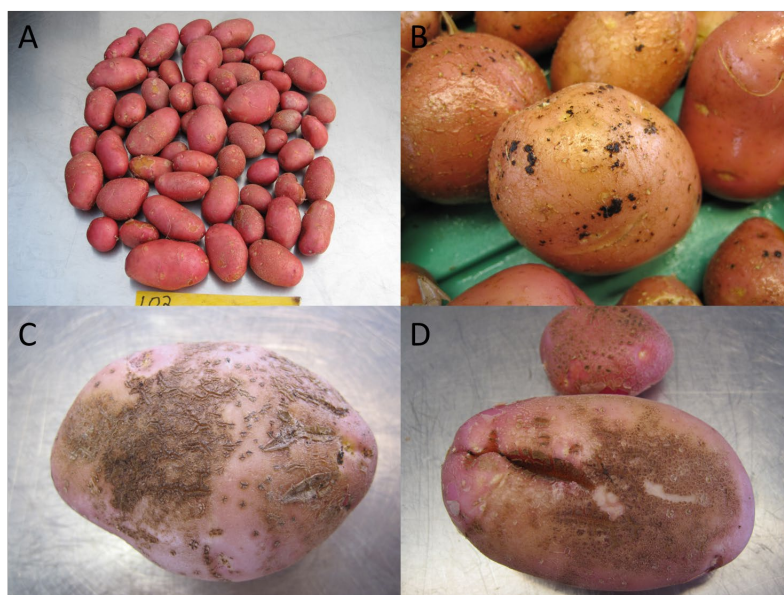
behandlet første gang 30. april 2021 (tre gjentak av seks pottar hver; totalt 18 planter per behandling). Etter behandling ble plantene dyrket under standard veksthusbetingelser med naturlig lys ved Kirkejordet på Ås. Alle pottene ble behandlet igjen 14. mai og deretter smittet med *R. solani* 20. mai. Smitte ble utført ved å tilføre pottene 8 hvetekorn infisert med *R. solani* 5 cm fra hver potetknoll i 2 cm dybde (Figur 2). Potetene ble deretter behandlet en tredje gang 27. mai. Potetene ble høstet 26. juli 2021, veid og kategorisert i fire klasser etter symptomer (Figur 3). I tillegg til total avling (Figur 4) kvantifiserte vi antall friske knoller, gjennomsnittlig knollvekt, høyde på ris, antall knoller over 20 g, andel knoller med skurv, antall stengler og luftknoller per plante, og forekomst av sporulering på stengel (Figur 5-8).



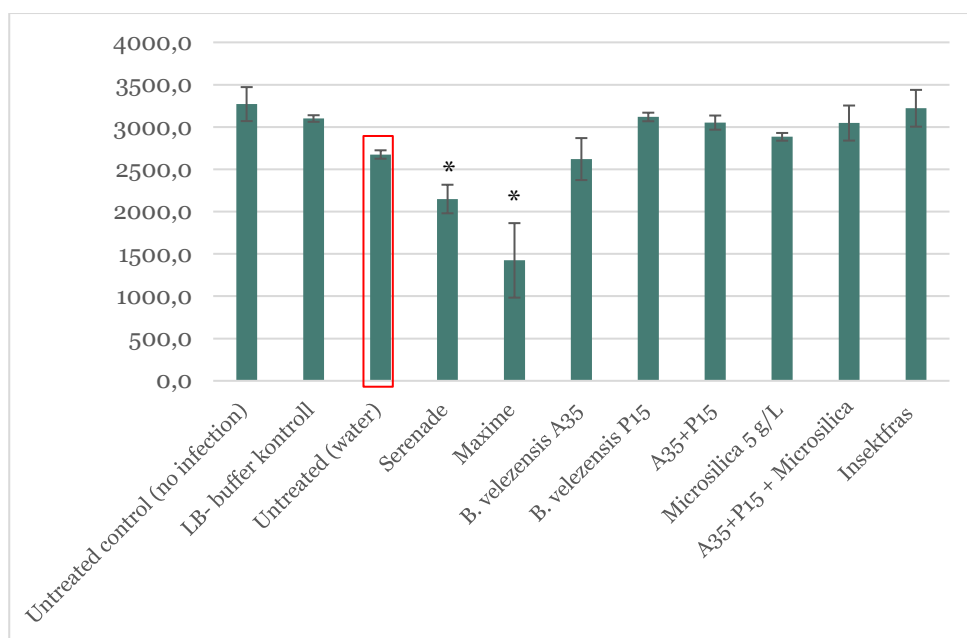
Figur 2. Smitte med *Rhizoctonia solani*. Test av innhold av smitte i hvetekorn på skål for smitte av potet (A). Plassering av hull i jord for smitte av potetknoll med *R. solani*-infiserte hvetekorn (B). Smitte av potetplanter med infiserte hvetekorn (C, D).

Tabell 1. Oversikt over tidspunkter for smitte med *Rhizoctonia solani* og behandling med ulike konsentrasjoner av plantevernmidler og bakterier (se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene).

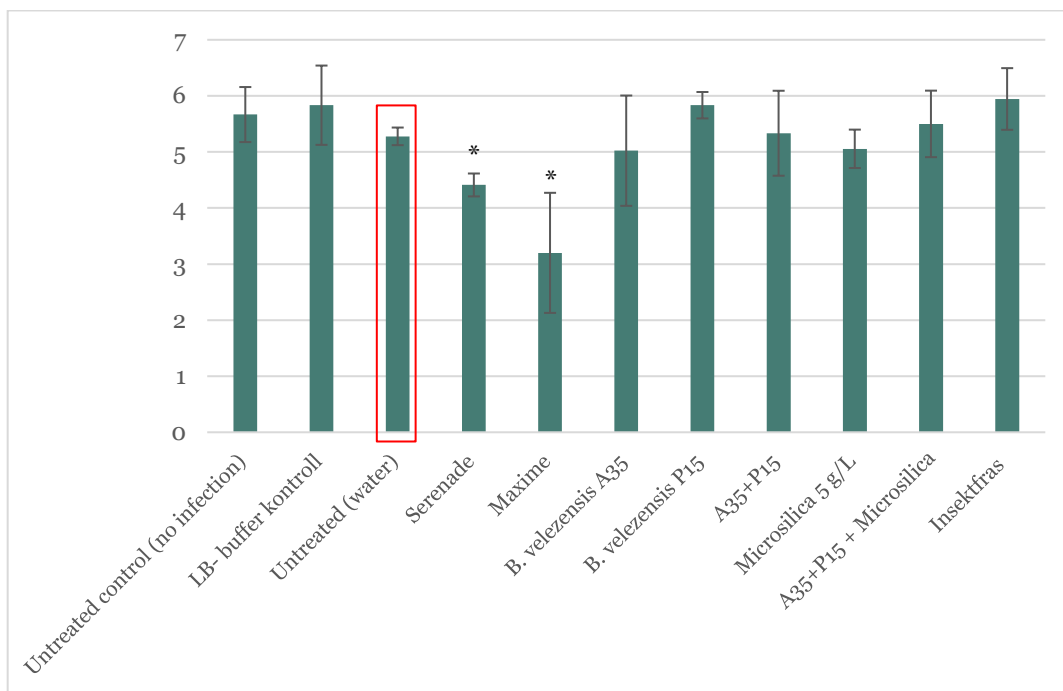
Behandling 1 (knoll-behandling) dag 30. april	Konsentrasjon/metode	Behandling 2 (jord) 14. mai	Smitte 20. mai	Behandling 3 (jord) 27. mai
Ubehandlet kontroll (usmittet)		vann	-	vann
Ubehandlet kontroll (vann)		vann	<i>R. solani</i>	vann
Serenade	500 ml/L, dypping	Serenade	<i>R. solani</i>	Serenade
LB-kontroll (buffer)		LB buffer	<i>R. solani</i>	LB buffer
Maxime	250 ml/L, dypping	Vann	<i>R. solani</i>	Vann
Bacillus velezensis A35	$1.2 \times 10^8$	A35	<i>R. solani</i>	A35
Bacillus velezensis P15	$1.2 \times 10^8$	P15	<i>R. solani</i>	A35
A35 + P15	$1.2 \times 10^8 + 1.2 \times 10^8$	A35 + P15	<i>R. solani</i>	A35 + P15
Microsilica 5 g/L + (A35 + P15)	Blandet i jord $1.2 \times 10^8 + 1.2 \times 10^8$	vann	<i>R. solani</i>	vann
Microsilica 5g/L	Blandet i jord	A35 + P15	<i>R. solani</i>	A35 + P15



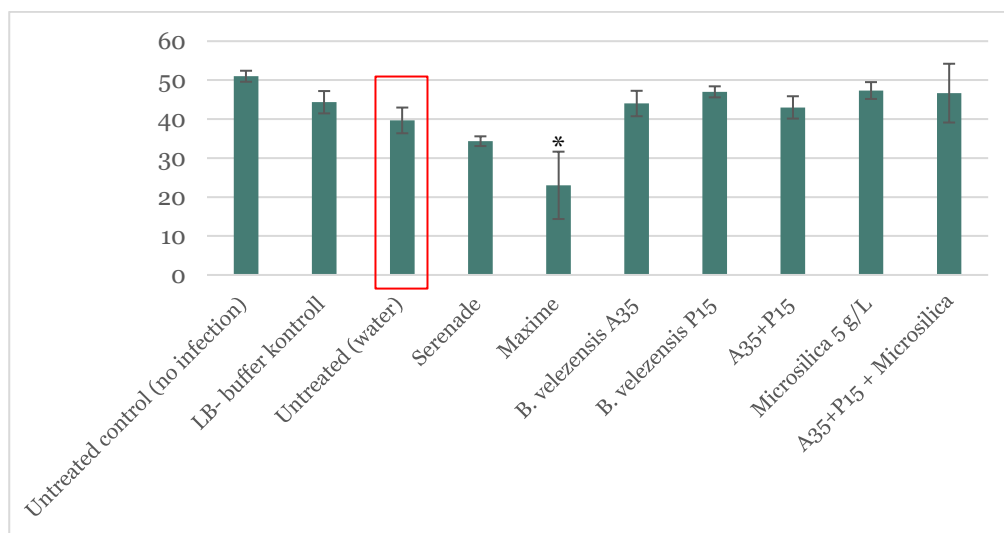
Figur 3. Kategorisering av symptomer på svartskurv (forårsaket av *Rhizoctonia solani*) etter innhøsting. (A) Friske poteter uten symptomer, (B) poteter med overflate-sklerotier, og (C, D) poteter med arr og deformasjoner.



Figur 4. Totalvekt avling per behandling. Søylene viser gjennomsnitt av tre replikater med seks planter hver for ulike behandlinger. Alle plantene ble smittet med *Rhizoctonia solani*, bortsett fra «Untreated control (no infection)». Behandlinger som er statistisk signifikant forskjellige fra «Untreated (water)» (rød ramme) er merket med stjerne. Se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

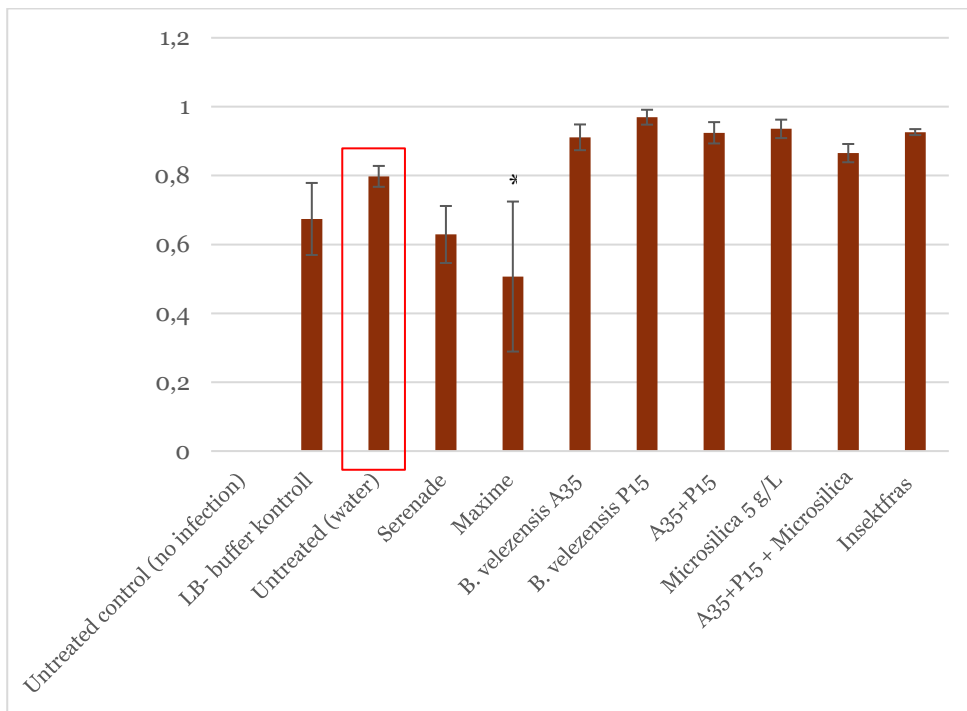


Figur 5. Gjennomsnittlig antall stengler per plante. Søyene viser gjennomsnitt av tre replikater med seks planter hver for ulike behandlinger. Alle plantene ble smittet med *Rhizoctonia solani*, bortsett fra «Untreated control (no infection)». Behandlinger som er statistisk signifikant forskjellige fra «Untreated (water)» (rød ramme) er merket med stjerne. Se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

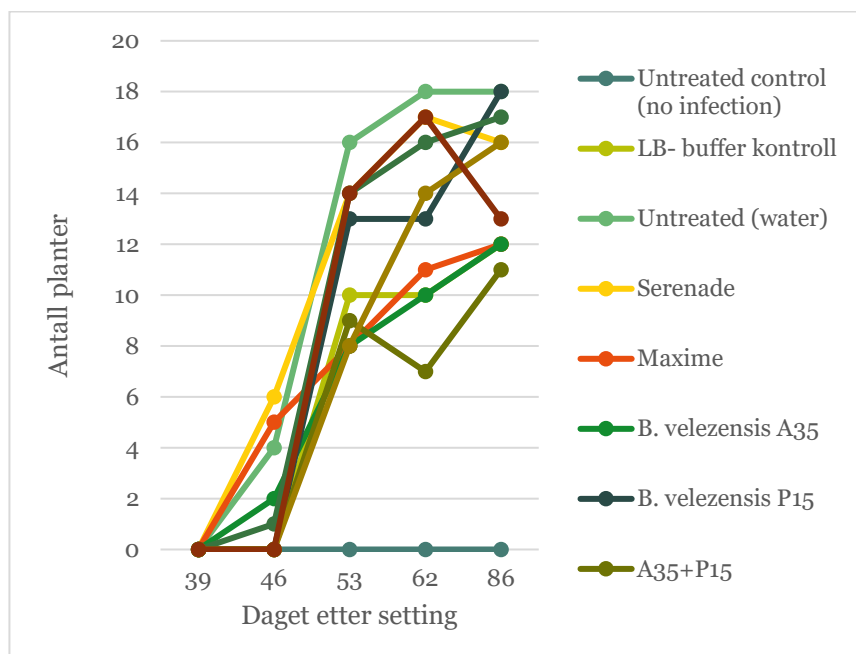


Figur 6. Gjennomsnittlig antall knoller større enn 20 g per plante. Søyene viser gjennomsnitt av tre replikater med seks planter hver for ulike behandlinger. Alle plantene ble smittet med *Rhizoctonia solani*, bortsett fra «Untreated control (no infection)». Behandlinger som er statistisk signifikant forskjellige fra «Untreated (water)» (rød ramme) er merket med stjerne. Se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.





Figur 7. Andel poteter fra hver behandling som har utviklet synlige sklerotier på skallet. Søylene viser gjennomsnitt av tre replikater med seks planter hver for ulike behandlinger. Alle plantene ble smittet med *Rhizoctonia solani*, bortsett fra «Untreated control (no infection)». Behandlinger som er statistisk signifikant forskjellige fra «Untreated (water)» (rød ramme) er merket med stjerne. Se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.



Figur 8. Antall planter per behandling med synlig sporulering av *Rhizoctonia solani* i overgangen mellom jord og stengel. Totalt 18 planter fra hver behandling ble smittet med *R. solani*, bortsett fra ubehandlede kontrollen («Untreated control (no infection)»). Se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

#### 2.2.1.1 Oppsummering av resultater fra veksthusforsøk utført i 2021

Vi bioprospekterte etter nye vekstfremmende og soppdrepende bakterier fra skall fra tre forskjellige potetsorter dyrket ved Kirkejordet på Ås. Vi fant enkelte isolater med moderat soppdrepende effekt mot *R. solani*, men ingen av disse hadde like stor effekt som A35- eller P15-isolatene vi har testet tidligere. A35 og P15 ble derfor brukt i de første veksthusforsøkene i 2021. Veksthusforsøkene viste at de kommersielle

behandlingene (Serenade og Maxime) ga lavere totalavling og færre poteter av salgbar størrelse (>20 g) enn de andre behandlingene. Blant plantene som overlevde smitten var det imidlertid mindre synlig smitte (skurv) på potetknollene for de kommersielle behandlingene sammenlignet med behandling med bakterier, mikrosilika eller bakterier kombinert med mikrosilika. Til tross for smitte var poteter med skurv fortsatt vurdert å være salgbare. Vi registrerte ingen additiv eller synergistisk effekt av å kombinere mikrosilika med bakterier. Dette gjaldt alle de ulike kombinasjonene vi testet. Mot sporulering på stengel var kombinasjonsbehandlingen med A35 og P15 mest effektiv, men denne kombinatoriske effekten ble borte ved tilsetning av mikrosilika. I alle forsøkene ga LB-kontrollen minst like god beskyttelse og vekststimulerende effekt som behandlinger med bakterier og mikrosilika. LB-kontrollen hadde dermed også bedre effekt enn de kommersielle behandlingene. Dette var veldig overraskende, men kan ha sammenheng med at LB-mediet («Luria-Bertani broth») inneholder en rekke næringsstoffer og mulige biostimulanter som kan stimulere vekst og styrke plantenes forsvar<sup>1</sup>. Siden ingen av behandlingene med bakterier eller mikrosilika ga tydelig bedre resultater enn kontrollene bestemte vi oss for å ikke gå videre med feltforsøk i 2021, men heller repetere forsøkene med enkelte endringer i 2022.

## 2.2.2 Veksthusforsøk med bekjemping av *Rhizoctonia solani* i 2022-sesongen

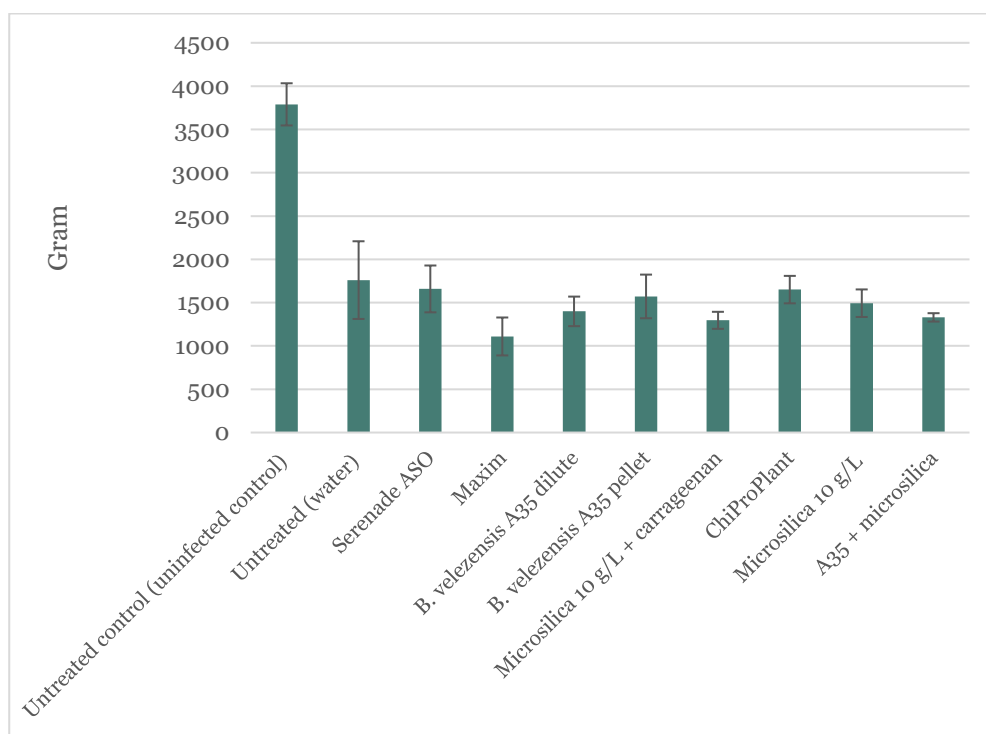
I andre sesong av prosjektet var formålet å bekrefte resultater fra forsøkene som ble gjort i 2021, i tillegg til at vi gjorde noen justeringer for å optimalisere resultatene. Som en ekstra kontroll inkluderte vi ChiProPlant, et kommersielt biologisk plantevernmiddel som inneholder kitosan, vi økte konsentrasjonen av mikrosilika etter råd fra Elkem, og vi inkluderte en bakteriebehandling hvor vi hadde fjernet vekstmediet for å finne effekter som kun skyldes bakterienes egenskaper. Potetene ble plantet i 5 L pottes med jord 22. april 2022 i veksthusene ved Kirkejordet i Ås. Vi fikk ikke tak i Asterix settepotet av samme kvalitet som i 2021, derfor brukte vi P4-kvalitet av samme sorten fra Norgro. Plugtest påviste at ca. 10% av knollene hadde naturlig forekomst av svartskurv. Potetene ble plantet den 22/4-22 i samme type jord, potte og veksthusbetingelser som i 2021.

Tabell 2. Oversikt over tidspunkter for smitte med *Rhizoctonia solani* og behandling med ulike konsentrasjoner av plantevernmidler og bakterier i 2022 (se kapittel 2.2.1 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene).

Behandling 1 (knoll-behandling) dag 0	Konsentrasjon/metode	Behandling 2 (jord) dag 14	Smitte	Behandling 3
Ubehandlet og usmittet kontroll (vann)	Vann	Vann	-	Vann
Ubehandlet kontroll (vann)	Vann	Vann	R. solani	Vann
Serenade	500 ml/2 L vann, dypping*	Serenade 5% Serenade, 50 ml/potte	R. solani	Serenade
Maxime	250 ml/L, dypping	Vann	R. solani	Vann
<i>B. velezensis</i> A35 fortynt	Dypping Kultur ikke spunnet, kun løst til riktig OD i vann	A35, 50 ml/potte 10 <sup>10</sup> CFU	R. solani	A35 i buffer

<sup>1</sup> <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/12/1662>

<i>B. velezensis</i> A35 pellet	Dypping Kultur spunnet ned og løst i vann	A35, 50 ml/potte 10 <sup>10</sup> CFU	R. solani	A35 pellet
Mikrosilika 10 g/L + carrageenan	10 g/L mikrosilika i jord, 0,1% carrageenan sprøytet på potet	vann	R. solani	vann
ChiProPlant	0,1% spray/dypping av settepotet	Spray med 0,1% ChiProplant	R. solani	Spray med 0,1% ChiProplant
Mikrosilika 10 g/L	10 g/L, i jord	vann	R. solani	vann
A35 + Mikrosilika	A35 pellet i vann Dypping	A35 pellet i vann 50 ml/potte 10 <sup>10</sup> CFU	R. solani	A35, pellet i vann
	10 g/L blandet i jord			



Figur 9. Gjennomsnittlig totalvekt frisk potetavling per behandling. Søylene viser gjennomsnitt av tre replikater med seks planter hver for ulike behandlinger. Alle plantene ble smittet med *Rhizoctonia solani*, bortsett fra «Untreated control (uninfected control)». Se kapittel 2.2.1 og 2.2.2 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

#### 2.2.2.1 Oppsummering av smitteforsøk av potet med *Rhizoctonia solani* for 2022-forsøkene

Forsøkene i 2022 viste at smitten med *R. solani* var effektiv og førte til en stor reduksjon i avlingen av salgbare og friske potetknoller. For den usmittede kontrollen var avlingen 3789 g, mens den ble redusert til 1760 g ved smitte med *R. solani*. Til vår overraskelse ga ingen av behandlingene med bakterier, mikrosilika (silisium) eller kommersielle kjemiske eller biologiske preparater mer friske potetknoller sammenlignet med den smittede kontrollen. Dette gjør det vanskelig å trekke noen klare konklusjoner for forsøkene i 2022, særlig sett i lys av de positive resultatene vi fikk året før. Som i 2021 ga behandling med det kommersielle kjemiske plantevernmiddelet Maxime lavest avling (Figur 9). Behandling med vårt eget A35 isolat ga omtrent like gode

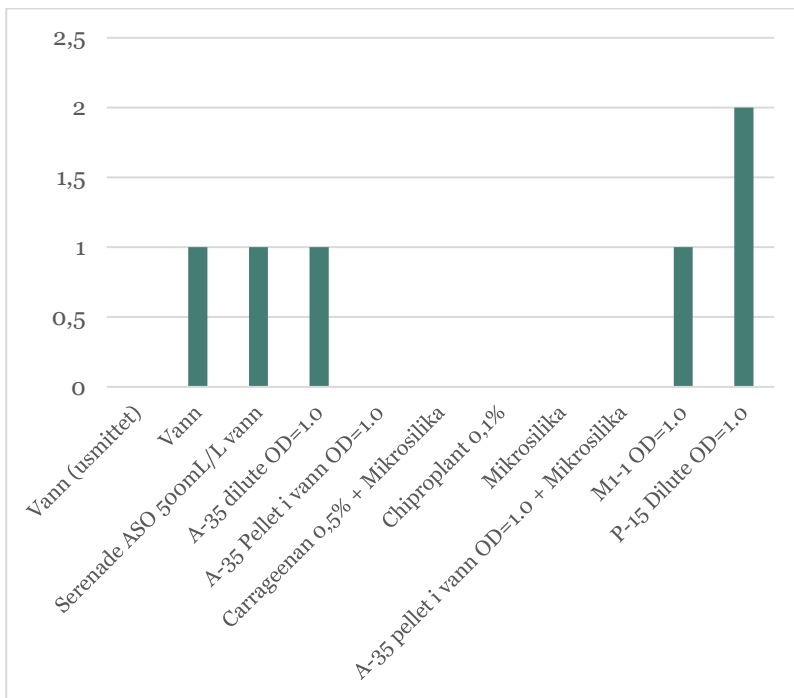
avlinger som de to biologiske plantevernmidlene Serenade og ChiProPlant. Slik som i 2021, så vi ingen synergi ved bruk av silisium (mikrosilika), selv om vi doblet mengden til 10 g/L jord.

### 2.2.3 Veksthusforsøk med bekjemping av bløtråte i salat i 2022-sesongen

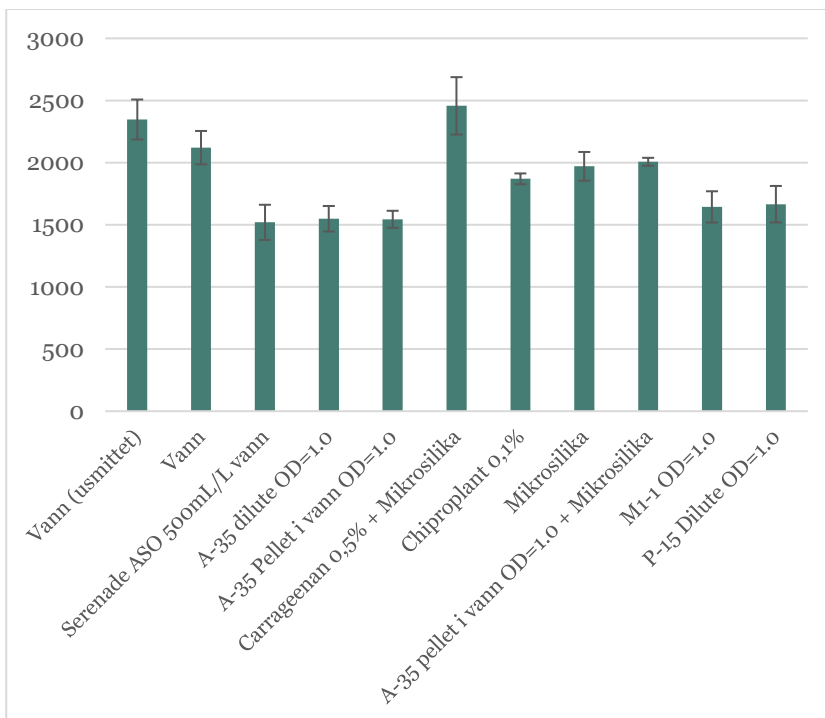
Bløtråte forårsaket av *Pectobacterium carotovorum* kan ikke bekjempes med kjemiske midler, men studier viser at kitosan og silisium kan styrke plantenes forsvar mot andre bakteriesykdommer (El-Shetehy et al., 2021; Mukarram et al., 2023). Etter bioprospektering har vi funnet nye bakterier som produserer antimikrobielle stoffer som dreper *P. carotovorum* under laboratoriebetingelser. Vi ville derfor teste om disse bakteriene hadde en gunstig effekt også i veksthusforsøk. Potetene ble dyppet i de ulike behandlingene før de ble plantet i 5 L potter med jord og dyrket i veksthus ved SKP under samme betingelser som forsøkene med *R. solani* (Tabell 3).

Table 3 Oversikt over tidspunkter for smitte med *Pectobacterium carotovorum* og behandling med ulike konsentrasjoner plantevernmidler og bakterier.

Setting + Behandling 1 (27/5)	Metode	Behandling 2 (9/6)	Smitting (17/6)	Behandling 3 (21/6)
Vann	Dypping	Vann 50 mL/potte	100 mL vann	Vann 50 mL/potte
Vann	Dypping	Vann	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	Vann
Serenade ASO 500 mL/L vann	Dypping	5%, 50m L/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	5%, 50 mL/potte
A35 fortynnet (OD=1.0)	Dypping	50 mL/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte
A35 pellet i vann (OD=1.0)	Dypping	50 mL/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte
Carrageenan 0,5% + Mikrosilika	Dypping + 10 g/L, blandet i jord	Vann	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	Vann
Chiproplant 0,1%	Dypping	50 mL/potte spray	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte spray
Mikrosilika	10 g/L, blandet i jord	Vann	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	Vann
A35 pellet i vann (OD = 1.0) + Silika	Dypping + 10 g/L, blandet i jord	50 mL/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte
M1-1 (OD=1.0)	Dypping	50 mL/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte
P15 fortynnet (OD=1.0)	Dypping	50 mL/potte	100 mL (10 <sup>7</sup> CFU/ml)/potte	50 mL/potte



Figur 10. Totalt antall planter med synlige bløtråtesymptomer for hver behandling



Figur 11. Gjennomsnittlig avling i gram per replikat per behandling etter smitte med *Pectobacterium carotovorum*.

Smitten med *P. carotovorum* viste seg dessverre å ikke være veldig effektiv og kun et fåtall planter fra både kontrollene og de andre behandlingene viste symptomer på smitte. Det var derfor ikke mange nok smittede planter til å kunne påvise en effekt av behandlingene. De fleste behandlingene ga lavere avling enn de ubehandlede kontrollene. Det kan skyldes at behandlingene stimulerer plantenes immunforsvar slik at det går på bekostning av vekst. Dersom sykdomspresset hadde vært høyt og behandlingene var effektive ville vi forventet at behandlingene ga mindre sykdom og høyere avling enn kontrollene. Dette forsøket må derfor

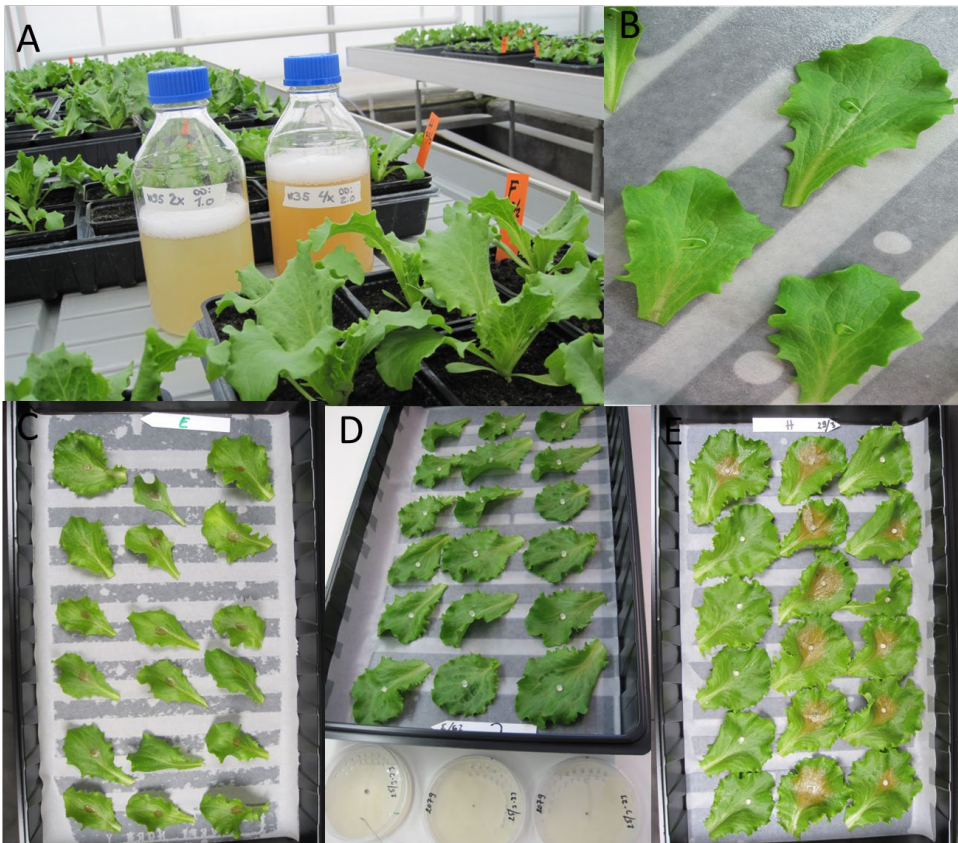
gjentas med mer effektiv sykdomssmitte før vi kan konkludere om noen av behandlingene har effekt mot bløtråte. Interessant nok ser vi at behandlingen med mikrosilika og carrageenan ga størst avling i dette forsøket som hadde lite sykdomspress, mens det var blant behandlingene med lavest avling i *R. solani*-forsøket som hadde effektiv smitte. Dette kan tyde på at behandling med mikrosilika og carrageenan har best effekt på plantenes vekst og ikke er så effektiv som forsvar mot sykdom.

#### 2.2.4 Veksthusforsøk med salat behandlet med bakterier og mikrosilika

Potetforsøkene i 2021 og 2022 ga ingen klare svar på hvilke behandlinger som har best effekt mot sykdom i veksthus og som burde testes videre i feltforsøk. På grunn av begrenset med tid og ressurser i slutten av prosjektperioden valgte vi derfor å utføre et forsøk med salat for å få svar på om silisium og bakterier kunne ha kombinatoriske eller synergistiske effekter på sykdomsresistens og vekst. Forsøk med salat er enklere og mindre tidkrevende å utføre enn potetforsøk. Frø fra salatsorten Great Lakes ble sådd ut i 2x autoklavert Dregenes veksttorv fra Norgro (produktnr. 191-300790) i 0,5 L firkantpotter i veksthuset på SKP/NMBU på Ås under standard veksthusbetingelser. Planter (tre replikater av seks planter, totalt 18 planter per behandling) ble behandlet med mikrosilika og mikrosilika pluss bakterier (Figur 12). Mikrosilika ble blandet inn i jorden plantene vokste i, mens bakterier enten ble tilført jorden som en løsning («soil drench») eller ble sprøytet på plantene. Hver behandling ble påført fire ganger med fem dagers mellomrom (Tabell 4).

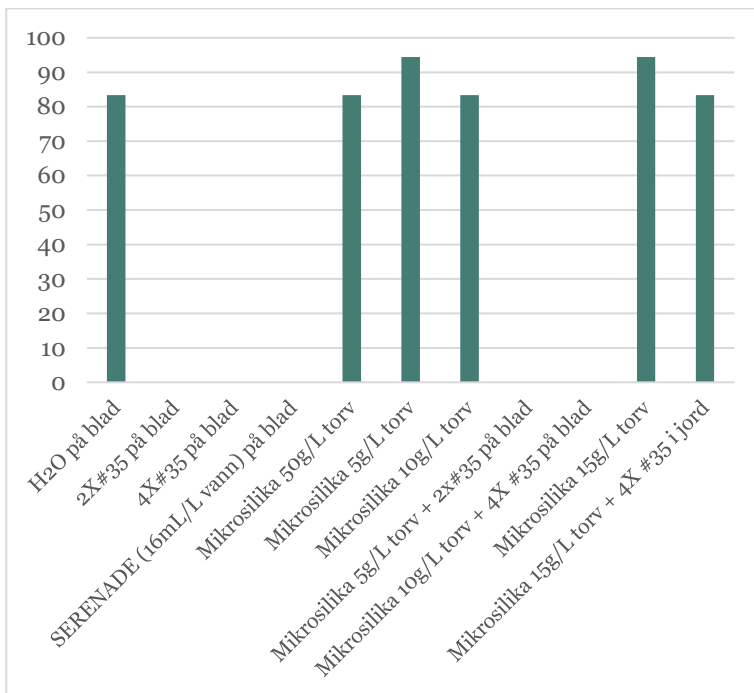
Tabell 4. Oversikt over tidspunkter for behandling av salatplanter med ulike konsentrasjoner av mikrosilika og bakterier. Første behandling ble gjort ved såing, behandling 2 ble gjort 21 dager etter såing, og de påfølgende behandlingene ble gjort med 5 dagers mellomrom. OD600 for isolat A35 er 0,8. 2X og 4X er hhv 2 og 4 ganger konsentrert bakteriesuspensjon.

Behandling	Behandling 1 (ved såing),	Behandling 2 (21 dager), 3, 4, 5	Behandlingsoversikt
A	Kontroll (vann)	Vann	Vann på blad
B	Vann	2X Isolat A35	2X A35 på blad
C	Vann	4X Isolat A35	4X A35 på blad
D	50 g/L Mikrosilika	Vann	Mikrosilika 50 g/L torv
E	5 g/L Mikrosilika	Vann	Mikrosilika 5 g/L torv
F	10 g/L Mikrosilika	Vann	Mikrosilika 10 g/L torv
G	5 g Mikrosilika	2X A35	Mikrosilika 5 g/L torv + 2 X A35 på blad
H	10 g/L Mikrosilika	4X A35	Mikrosilika 10 g/L torv + 4X A35 på blad
I	15 g/L mikrosilika og 4X A35 uforynnet	4X A35	Mikrosilika 15 g/L torv + 4X A35 i jord
J	Vann	SERENADE (16 mL/L vann)	SERENADE (16 mL/L vann) på blad
K	15 g/L Mikrosilika	Vann	Mikrosilika 15 g/L torv

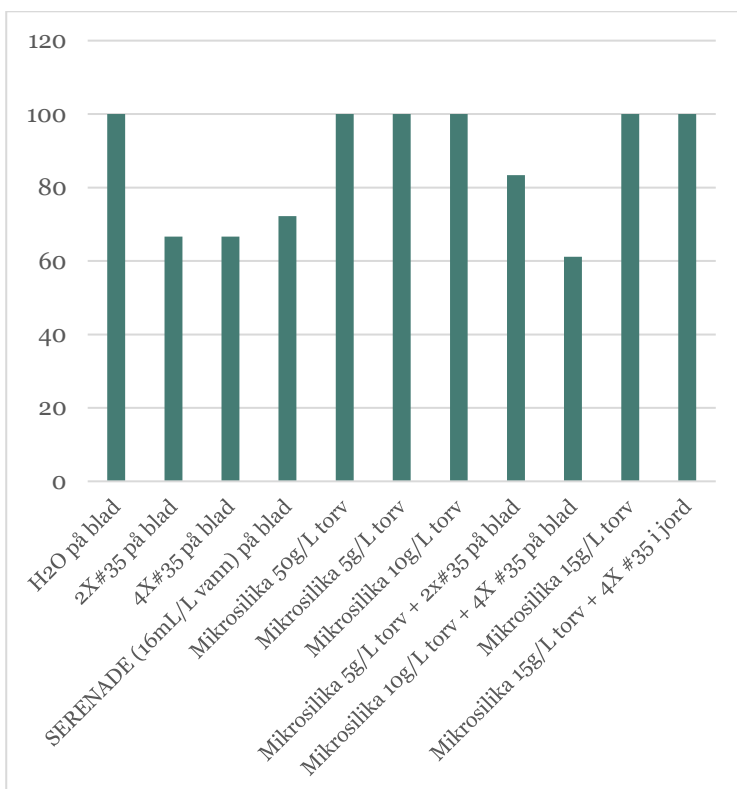


Figur 12. Smittforsøk på salatplanter som er behandlet med bakterier og mikrosilika. Plantene vokste i jord med ulike konsentrasjoner av mikrosilika-partikler og ble behandlet med ulike konsentrasjoner av bakterier via jord eller via sprøyting på blad (A). Tre dager etter siste behandling ble 18 blader klippet av og smittet med *Botrytis cinerea* (B) eller *Sclerotinia sclerotiorum* (D). Nekroser ble målt etter 72 timer for *B. cinerea* (C) og etter 48 timer for *S. sclerotiorum* (E).

Tre dager etter siste behandling høstet vi blader som ble smittet med sopp i såkalte «detached leaf assays», hvor enten *Botrytis cinerea* (gråskimmel) (Figur 12 B) eller *Sclerotinia sclerotiorum* (Figur 12 D) ble plassert på bladoverfalten og inkubert ved romtemperatur inntil det oppsto synlige nekroser (Figur 12 E) som ble målt og kvantifisert for hver behandling (Figur 13).



Figur 13. Prosentandel blader for ulike behandlinger som utviklet nekroser etter smitte med *Botrytis cinerea*. 18 blader ble smittet for hver behandling. Se Tabell 4 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

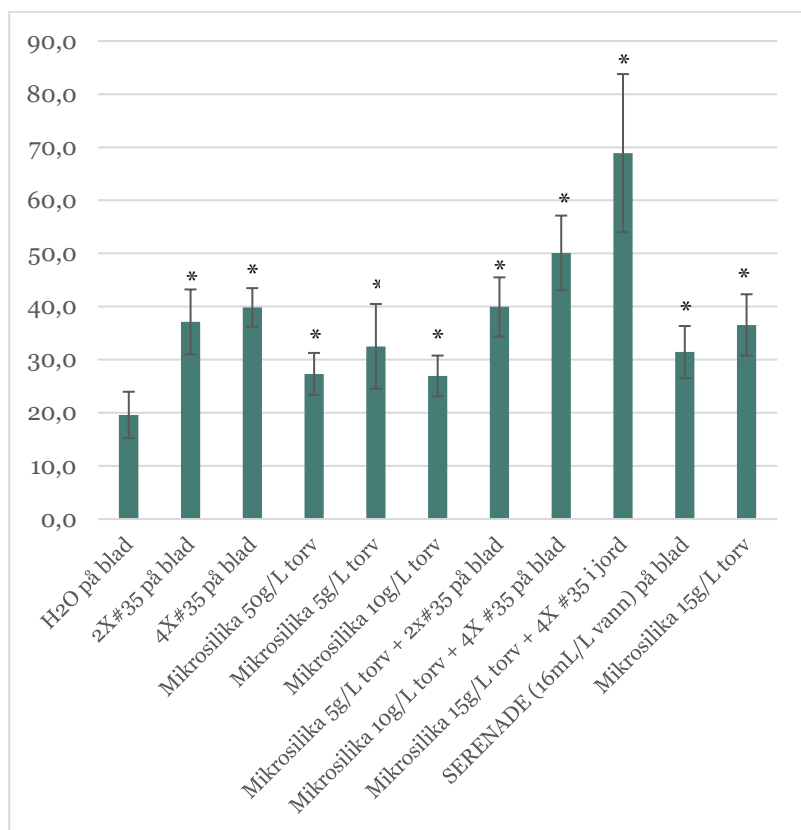


Figur 14. Prosentandel blader for ulike behandlinger som utvikler nekroser etter smitte med *Sclerotinia sclerotiorum*. 18 blader ble smittet for hver behandling. Se Tabell 4 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

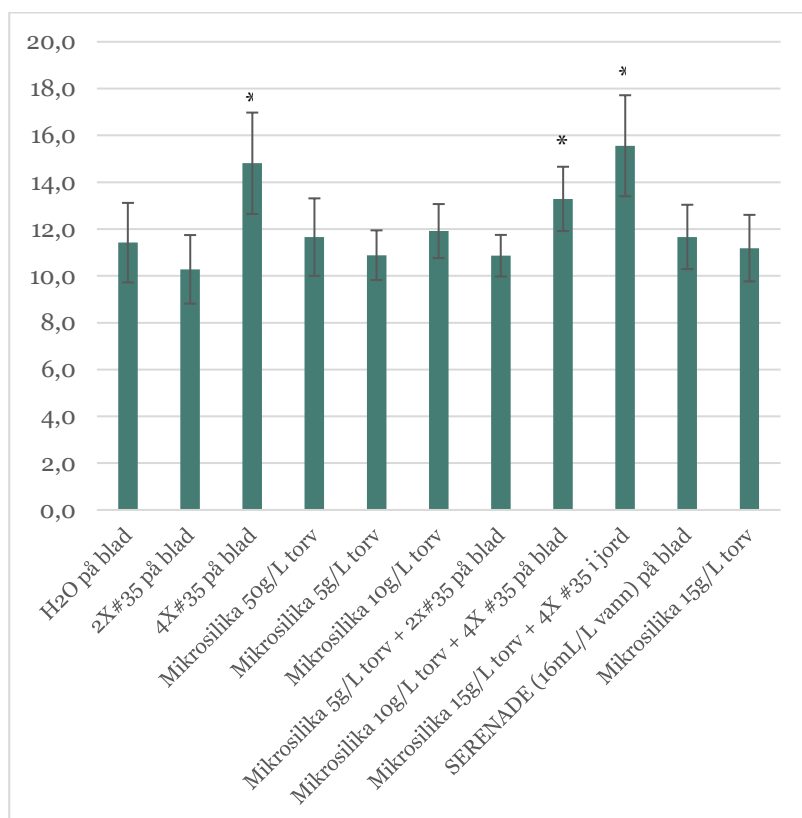
Våtvekten til plantene ble bestemt ved veiing for å påvise eventuelle vekstfremmende effekter av de ulike behandlingene (Figur 15). Vi målte også klorofyllinnhold i blader (Figur 16) med et håndholdt



måleinstrument av typen Hansatech CL-01. Dette bestemmer det relative klorofyllinnholdet ved å måle optisk absorbans ved to bølgelengder (660 nm og 940 nm). Klorofyllinnholdet sier noe om fotosyntetisk aktivitet og er en indikator på næringsinnhold og om plantene er utsatt for biotisk eller abiotisk stress.



Figur 15. Gjennomsnittlig våtvekt per plante for ulike behandlinger. Stjerne (\*) indikerer statistisk signifikant forskjell fra ubehandlet kontroll (H<sub>2</sub>O på blad) (ANOVA og post-hoc test). Søylene er et gjennomsnitt for 18 planter per behandling. Se Tabell 4 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.



Figur 16. Gjennomsnittlig klorofyllinnhold per plante for ulike behandlinger. Klorofyllinnholdet ble målt med et håndholdt måleinstrument av typen Hansatech CL-01. Søylene er et gjennomsnitt for 18 planter per behandling. Stjerne (\*) indikerer statistisk signifikant forskjell fra ubehandlet kontroll (H<sub>2</sub>O på blad) (ANOVA og post-hoc test). Se Tabell 4 for en nærmere beskrivelse av de ulike behandlingene.

#### 2.2.4.1 Oppsummering av salatforsøk

Våre forsøk viser at sprøyting med ulike konsentrasjoner av vekstfremmende bakterier direkte på bladene gir svært god beskyttelse mot gråskimmel. Blader som ble behandlet med bakterieisolatet A35 alene eller i kombinasjon med silisium utviklet ingen nekroser etter smitte, og viste like god beskyttelse som det kommersielle preparatet Serenade (Figur 13). Silisium tilsatt vekstmediet ga alene ingen beskyttelse sammenlignet med kontroll. Det var heller ingen beskyttelse ved å kombinere jordbehandling med silisium og bakterier. Dette tyder på at en eventuell systemisk immuneffekt av bakteriebehandling enten ikke aktiveres eller ikke gir god nok beskyttelse i dette forsøket.

Smitte med *Sclerotinia sclerotiorum* viste lignende resultat som for gråskimmel. Sprøyting med bakterier ga en viss beskyttelse mot sykdomsutvikling, mens silisium ikke ga beskyttelse. Kombinert silisium og bakteriebehandling i vekstmediet ga ingen ekstra beskyttelse (Figur 14).

For å se på effekten av silisium- og bakteriebehandling på plantevekst høstet vi plantene og målte våtvekten. Alle behandlingene som inkluderte både bakterier og silisium ga signifikant økning i biomasse, men kombinasjonen av silisium og bakterier tilført via jord ga størst økning (Figur 15). Denne kombinasjonsbehandlingen og sprøyting med høy konsentrasjon av bakterieisolat A35 ga også signifikant økt klorofyllinnhold sammenlignet med kontrollen og de andre behandlingene (Figur 16). Dette tyder på at både bakterier og silisium øker plantenes vekst, men at kombinasjonen gir en ekstra positiv effekt. Økt konsentrasjon av silisium alene gir ingen ekstra vekstøkning, mens en middels konsentrasjon av silisium kombinert med en høy konsentrasjon av bakterier gir en kraftig økning i veksten.

### 3 Diskusjon og konklusjon

Hovedmålet med prosjektet var å finne en bærekraftig behandlingsmetode mot sopp sykdom i potet basert på kombinasjoner av mikrosilika (silisium) og bakteriepreparater som et alternativ til kjemiske sprøytemidler. Ved hjelp av bioprospektering har vi funnet en rekke lovende bakterieisolater som vokser i tilknytning til potet dyrket i Norge. Dette viser at det finnes naturlige bakterier på potet med soppdrepende effekt. Skålforsøkene våre tydet imidlertid på at den soppdrepende effekten var svakere enn for andre bakterieisolater vi tidligere har isolert fra salat. De nye bakteriene fra potet ble derfor ikke brukt i videre forsøk på potet.

For å teste ulike behandlingsmetoder mot sopp sykdom valgte vi å gjøre smitteforsøk med svartskurv, en viktig sykdom i potet som fører til store avlingstap. Basert på de begrensede veksthusforsøk vi utførte i dette prosjektet kan vi ikke konkludere med at vi har en fullgod biologisk behandlingsmetode mot svartskurv. Dette skyldes at kontrollbehandlingene vi brukte i forsøkene i 2021 (LB-kontrollen) og 2022 (smittet kontroll) ga like gode eller bedre avlinger enn de fleste behandlingene. Dermed kunne vi ikke identifisere en eller flere kandidatbehandlinger til feltforsøk. Hvis vi likevel gjør et forsøk på å tolke resultatene fant vi at de kommersielle kjemiske og biologiske preparatene vi testet ikke ga bedre resultater enn behandling med våre bakterieisolater P15 og/eller A35 i veksthusforsøk, verken i 2021 eller 2022. Til vår overraskelse kom det kjemiske preparatet Maxime dårligst ut for de fleste parameterne vi målte i 2021 og 2022, bortsett fra at Maxime ga mindre overflateskurv på avlingen. Resultatene fra smitteforsøkene våre i veksthus indikerer dermed at bakteriepreparater isolert i Norge (P15 og A35) kan være lovende alternativer til kommersielle kjemiske og biologiske preparater på markedet, men dette må følges opp i ytterligere forsøk. Ingen av kombinasjonsbehandlingene med bakterier og silisium ga reduserte sykdomssymptomer eller økte avlinger sammenlignet med enkeltbehandlingene. Dette tyder på at det ikke er noen kombinatorisk effekt av disse behandlingene mot svartskurvsmitte i potet. Vi observerte imidlertid økt avling i et forsøk med lite sykdomssmitte, noe som kan tyde på en viss kombinatorisk effekt av silisium og bakterier på plantenes vekst. Resultatene på salat viste også at behandling med både mikrosilika og bakteriepreparater, spesielt i kombinasjon, kan føre til signifikant økt biomasse. På salat hadde bakteriepreparatene en svært god effekt mot sopp sykdom og denne effekten varte minst tre dager etter at bakteriene ble sprøytet på bladene. Mikrosilika alene ga ingen økt resistens sammenlignet med kontrollbehandling i salat.

Siden resultatene fra våre innledende veksthusforsøk gjorde at vi valgte å ikke utføre feltforsøk må det tas forbehold om at resultatene fra dette prosjektet er basert på forsøk i veksthus. Generelt tyder imidlertid våre resultater på at probiotiske bakterier isolert i Norge kan gi like god eller bedre effekt enn kommersielt tilgjengelige kjemiske og biologiske produkter under våre forsøksbetingelser. Resultatene våre viser også at mikrosilika tilført jord har positiv effekt på plantebiomasse og at kombinerte behandlinger med mikrosilika og bakterier gir en ekstra god effekt på biomasse og klorofyllinnhold. Vi fant imidlertid ingen positive kombinatoriske effekter av mikrosilika og vekstfremmende bakterier mot sopp sykdom, verken i salat eller potet. Prosjektet har gitt oss ny kunnskap om effekter av bakteriepreparater og mikrosilika på sopp sykdom og plantevekst. Denne kunnskapen kan på sikt utnyttes innen integrert plantevern.

# Litteraturliste

- Bakhat, H. F., Bibi, N., Zia, Z., Abbas, S., Hammad, H. M., Fahad, S., Ashraf, M. R., Shah, G. M., Rabbani, F., & Saeed, S. (2018). Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: A review. *Crop Protection*, *104*(March 2017), 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.10.008>
- El-Shetehy, M., Moradi, A., Maceroni, M., Reinhardt, D., Petri-Fink, A., Rothen-Rutishauser, B., Mauch, F., & Schwab, F. (2021). Silica nanoparticles enhance disease resistance in Arabidopsis plants. *Nature Nanotechnology*, *16*(3), 344–353. <https://doi.org/10.1038/s41565-020-00812-0>
- Etesami, H. (2018). Can interaction between silicon and plant growth promoting rhizobacteria benefit in alleviating abiotic and biotic stresses in crop plants? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *253*(November 2017), 98–112. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.007>
- Mukarram, M., Ali, J., Dadkhah-Aghdash, H., Kurjak, D., Kačik, F., & Đurkovič, J. (2023). Chitosan-induced biotic stress tolerance and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signalling molecules. *Frontiers in Plant Science*, *14*(July), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1217822>
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Allah, E. F. A. (2017). *Bacillus* : A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. *8*(September), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>
- Wang, M., Gao, L., Dong, S., Sun, Y., Shen, Q., & Guo, S. (2017). Role of Silicon on Plant – Pathogen Interactions. *8*(May), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00701>