



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018 60 stp

Fakultet for biovitenskap

Nina Svae Johansen

Tiltak for å hindre bladlusoverført virusmitte i norsk settepotetproduksjon

Anine Bang Larsen

Plantevitenskap

Institutt for plantevitenskap

Forord

Denne oppgaven er skrevet som en del av masterstudiet i plantevitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), ved Institutt for plantevitenskap (IPV). Oppgaven er en del av prosjektet «Bladlus – Ny kunnskap om redusert smittenivå av bladlusoverført virus (PVA og PVY) i settepotet.» Dette er et samarbeid mellom Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO), Norsk Landbruksrådgiving (NLR), Landbrukskontoret for Våler og Åsnes kommune, Norgro AS, Overhalla Klonavlssenter, Maarud AS og Strand Unikorn, samt settepotetkommunene Grue, Overhalla, Våler og Åsnes. Leder for dette prosjektet er Borghild Glorvigen.

Jeg valgte å skrive om bladlus og virus fordi jeg synes det er spennende å se på sammenhengen mellom vektor og sykdom. Jeg studerer plantevitenskap, men har alltid vært svært interessert i insekter, derfor var jeg glad for å kunne bli med på et prosjekt som dette.

Det er mange som har bidratt og hjulpet meg med oppgaven. Blant de som fortjener takk er veilederen min Nina Svae Johansen som tålmodig har hjulpet og rettleidet meg. Jeg vil også takke biveileder Carl Jonas Jorge Spetz. Takk til Sofie og Sunniva for god og sårt trengt hjelp. Takk til pappa for å tro på meg og inspirert meg til å jobbe med oppgaven. Takk til Marte og Maren for uvurderlig hjelp og kriseminimering i den siste tiden mot innlevering.

Ås, 14.mars 2018

Anine Bang Larsen

Sammendrag

Potet er en viktig matplante i norsk landbruk og kosthold. For at det skal være lønnsomt å dyrke potet i Norge er det nødvendig å sikre friske settepoteter. Hvert år må settepotetprodusenter forkaste store parti med settepotet på grunn av virusinfeksjon. Virus fører til tap av avling og derfor tap av inntekt for dyrkeren. Potetvirus Y og A er begge bladlusoverførte virus som reduserer avlingen hos smittede planter. Det er nødvendig med mer kunnskap om hvordan disse virusene fungerer og hvordan en kan hindre smitte.

I dette forsøket ble det undersøkt hvorvidt det var forskjell i virusmitte mellom ulike potetsorter. Sortene som ble brukt var Innovator, Asterix og Lady Claire. Det ble også undersøkt om kjemiske midler som er godkjente mot bladlus i Norge hadde effekt mot virusmitte. Midlene som ble testet var Teppeki og Fibro og en kombinasjon av disse opp mot en ubehandlet kontrollgruppe. Innflygning av bladlus i potetåkeren ble registrert ved hjelp av gule vannfeller gjennom sesongen. Virustestene ble gjort ved bladprøver som ble testet med ELISA.

Av disse forsøkene viste resultatene at Lady Claire var mindre utsatt for virus enn de to andre sortene, men det ble ikke undersøkt hva dette skyldtes. Av de ulike midlene som ble testet viste kombinasjonen av Teppeki og Fibro å gi minst virusinfeksjon. Forskjellen mellom behandlingene var størst mellom kontrollgruppen og gruppen der begge midlene ble brukt. Det var ingen tydelig sammenheng mellom innflygning av bladlus og antall virusmittede planter. Andre faktorer som smitte i omliggende potetåker kan ha hatt større betydning.

Abstract

Potato is an important crop in Norwegian farming. To make potato production profitable, it is important to produce healthy seed-potatoes. A large number of potatoes are dismissed as seed potato every year due to high amount of virus infection. Potato virus A (PVA) and Potato virus Y (PVY) are both a problem in Norwegian potato fields. Fields with infected plants produce less tubers and therefore less income for the farmers and the potato industry.

Plant viruses exists within the plant cells, which means that treatment of virus diseases is not possible after the infection has occurred. Thus, management of virus diseases relies on preventative measures. In order to prevent virus infection, it is important to understand the relationship between the aphid and the potato plant. This study investigates if there is difference between potato cultivars used in Norwegian farming when it comes to virus infection. Three cultivars were tested: Asterix, Innovator and Lady Claire to examine if one of them were less likely to be infected. In these tests Innovator was infected more often than Lady Claire and Asterix.

Chemical treatments and mineral oil were also used in testing to check if it could reduce virus infection in the field. The treatments tested were Teppeki, Fibro, Teppeki+Fibro and a control group without any treatment. The combination of Teppeki and Fibro appeared to have some effect to prevent virus infection.

Aphid flight was registered by using yellow water traps during the growth season. These were emptied weekly to give insight in the flight of aphids. There was no evidence supporting a correlation between number of aphids and time of virus infection. This could be explained by the necessity of an aphid to visit an infected plant and transfer the virus into the field.

Innholdsfortegnelse

Forord	i
Sammendrag	iii
Abstract	v
Teoridel	1
Potetproduksjon	1
Potetsorter	1
Virus i potet	1
Potetvirus A og Y	3
Bladlus	4
Vertsplanter for bladlus	6
Bekjempelsesmetoder	7
Introduksjon	9
Material og metoder	11
Bladlusfeller	13
Virustesting	14
Knollprøver	16
Middelforsøk	16
Sortsforsøket	18
Statistiske metoder	18
Resultater	20
Bladlusregistrering	20
Værdata	23
Sortsforsøk	23
Sammenligning av virusmottakelighet fra sort til sort	26
Lady Claire vs. Asterix og Innovator	26
Lady Claire vs. Innovator	27
Asterix vs. Innovator	27
Asterix vs. Lady Claire og Innovator	28
Middelforsøk	29
Ubehandlet vs. behandlet	29
Teppeki + Fibro vs. de andre behandlingene	30
Diskusjon	31
Bladlusfangst og virus	31
Sortsforsøk	32

Middelforsøk.....	33
Konklusjon.....	33
Referanser.....	34

Teoridel

Potetproduksjon

Denne oppgaven undersøker tiltak for å redusere virusmitte i norsk settepotetproduksjon. Potetplanten (*Solanum tuberosum* L.) tilhører søtvierfamilien (*Solanaceae*), og er en viktig matvekst i norsk landbruk. Opprinnelig kommer poteten fra Andesfjellene, der den ble domestisert for mellom 7000 og 10 000 år siden. Potetplanten er en urteaktig plante, som visner ned om høsten, men overvintrer som næringsrike stengelknoller til neste vår (UiO 2014). Mennesket har selektert ut planter med spesielt gode mateegenskaper. Ved knollformering blir avkommet genetisk likt morplanten, en klon. Dette gjør potetplanten spesielt utsatt for sykdom. Klonformering gir svært liten genetisk variasjon og gir dermed planten dårlige forutsetninger for å utvikle motstandsdyktighet mot sykdom. Sjukdomsorganismer overføres dessuten lettere i røtter og knoller enn i frø.

Friske settepoteter er avgjørende for norsk potetproduksjon. Statskontrollert norsk settepotetproduksjon ble startet i 1939 (Overhalla Klonavlssenter 2017). Målet har vært å sikre settepotet av best mulig kvalitet, fri for potetcystenematode (PCN), lys ringråte (*Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*), samt virus. Den mest aggressive linjen av potetvirus Y (PVY) kan gi opp til 70% avlingsreduksjon for hver syke morpotet (Overhalla Klonavlssenter 2017).

Potetsorter

En potetsort, eller en *kultivar*, er en undergruppe under arten potet (UiO 2011). Ordet *kultivar* er brukt for å skille fremavlede planter fra den ville varianten. For potet består en sort av omtrent genetisk like planter, ettersom alle er blitt formert fra knoll og ikke ved hjelp av kryssbefruktning. Sorter brukt i norsk matproduksjon er blant annet Rutt, Kers Pink, Asterix, Lady Claire og Innovator (Norsk Landbruksrådgivning 2017).

Virus i potet

Potet er mottakelig for flere ulike virus enn de fleste andre planteslag. Potetplanten er svak mot plantepatogen generelt grunnet lav genetisk variasjon. Bruken av settepoteter i stedet

for frø gir i tillegg viruset mulighet til å overføres fra sesong til sesong i levende vev. Et annet problem med virus i potetkulturer er at bekjempelsestiltakene er få eller ingen. Det er derfor svært viktig med forebyggende tiltak mot virusinfeksjon (Munthe 2003).

Et virus er en infeksjons parasitt som er avhengig av levende celler for å reproducere seg. En viruspartikkel består av arvestoff, enten DNA eller RNA. Arvestoffet er omgitt av en proteinkappe og i noen tilfeller membran fra vertscellen. Virus er avhengig av en inngangsport i organismen de skal infisere. For plantevirus kan denne inngangsporten enten være mekaniske skader på planten, eller vektorer som trenger gjennom celleveggen ved næringstikk. Mekaniske skader kan komme av gnising mellom planter, eller skader påført av maskiner og redskap. Sopp, nematoder og insekter kan fungere som vektorer for plantevirus. Vektor kommer av det latinske ordet for *bærer*, og viser i denne sammenhengen til levende vesen som overfører sykdomsfremkallende organismer (Tjønum 2018).

I landbruket er virus et problem som er vanskelig å bekjempe. Viruset eksisterer inni vertens celler og kan derfor ikke bekjempes på samme måte som andre plantepatogen, for eksempel med kjemiske midler. På grunn av dette er det nødvendig å iverksette tiltak før infeksjon. Kunnskap om virusets smittevei er derfor viktig.

Potetplanten er vert for mer enn 30 virussykdommer (Salazar 1996). Alle potetvirusene består av enkelttrådet RNA. Virusene er obligate parasitter og trenger derfor assistanse for å overføres til neste vert. Det kan være mekanisk, eller via en vektor. Den viktigste vektoren for potetvirus er bladlus. Ferskenbladlus (*Myzus persicae*) har vist seg å være spesielt effektiv, men er ikke like utbredt i Norge som i sydligere land i Europa, der primærverten fersken er vanligere. Den er likevel verdt å nevne ettersom den er en av artene som har potet som sekundærvert (Radcliffe and Ragsdale 2002).

Viruset spres fra den infiserte cellen via ledningsvevet xylem og floem, eller fra celle til celle via plasmodesmata. Plasmodesmata er kanaler for celle-til-cellekommunikasjon. Sink-source forholdet i planten er derfor avgjørende for hvor viruset føres, først til rot og knoll og deretter til de overjordiske delene av planten. Dette kan ta én til to uker avhengig av hvor raskt planten

vokser. Fra planten er infisert til den er smittedyktig kan det ta tre til fem uker (Sigvald 1984). Denne typen smittevei kalles systemisk infeksjon.

Symptom på virusmitte er nekrose, gulning og dårlig vekst. Høy temperatur kan føre til at symptomene blir mindre synlige (Chung, Canto et al. 2017), dette kalles symptommaskering. Symptomene kan være svake eller ligne næringsmangel og er derfor vanskelige å oppdage uten testing i lab.

Potetvirus A og Y

Potetvirus A og Y er to bladlusoverførte virustyper som skaper problemer i norske potetåkrer. Biologien til de to virusene er omtrent like, men potetvirus Y (PVY) er mer utbredt enn potetvirus A (PVA) i Norge og utgjør et større problem. PVY er et av de mest økonomisk betydningsfulle virus som angriper potetåkeren (Pelletier, Nie et al. 2012). Etersom biologien er omtrent lik og det er gjort mer forskning på PVY, tas det utgangspunkt i dette viruset i denne oppgaven. PVY opptrer i mange undergrupper av viruset, også kalt stammer. Stammene er samlet i gruppene PVY⁰, PVY^N og PVY^C. C-stammer er ikke påvist i Norge, men N og 0 er vanlige i norsk potetproduksjon. PVY er et positivt, enkelttrådet RNA-virus på omtrent 9700 nukleotid. PVY har en enkel åpen leseramme som koder for et stort polyprotein (Chung, Miller et al. 2008). PVY angriper i hovedsak planter i familien *Solanaceae*, inkludert potet. Angrep fører til stort avlingstap på grunn av redusert vekst (Radcliffe and Ragsdale 2002). Symptomene på viruset er vanskelige å oppdage i felt. Symptomene er lite spesifikke, ofte ikke synlige og de kan variere mellom ulike sorter potet . Viruset overføres fra sesong til sesong via infiserte settepoteter (Valkonen 2007). Plantene som gror opp fra fjorårets syke settepoteter blir en kilde til PVY for bladlus, som kan overføre dette til flere potetplanter i åkeren. Virusfrie settepoteter er derfor et viktig tiltak for å hindre og redusere smitte av PVY (Tian, Hepojoki et al. 2014).

Produksjon av virusfrie settepoteter foregår ved å rense meristemet. Meristemet inneholder plantens udifferensierte celler og utgjør plantens vekstpunkt. Dette er den eneste delen av planten der viruset ikke angriper, selv om resten av planten er infisert av virus. Meristemrensing foregår ved at meristemet kuttet ut fra poteten, for deretter å

oppformeres sterilt *in vitro*. *In vitro* vil si at cellekultur og små planter dyrkes på agarosegel i sterilt miljø, for eksempel i petriskåler og reagensrør. Små vevsplanter blir dyrket fra sykdomsfritt meristem *in vitro* på agarosegel, og sendes til Overhalla Klonavlssenter. Ved Overhalla Klonavlssenter produseres det miniknoller, som gis klassifisering P1. Miniknollene oppformerer videre i veksthus, de får da klassifiseringen P2. P2 selges til oppformering av sertifisert settepotet hos godkjente produsenter. Potet som er oppformert på friland får klassifisering B, med tilhørende tall etter hvor mange sesonger oppformeringen har gått over. For eksempel vil B3 si at poteten er oppformert over tre sesonger på friland, og har en høyere antatt virusandel enn B1 som kun har vært oppformert en sesong på friland. Normalt tar det omtrent seks år fra miniknoll til settepoteten selges til kommersiell dyrkning (Aspeslåen, Forbord et al. 2016). Oppformering på friland er et sårbart ledd i prosessen, ettersom potetplanten kan smittes av virus via bladlus. Hvert år blir flere partier med settepoteter avvist grunnet for høy andel virusinfiserte planter. Dette er et unødvendig tap for settepotetnæringen, som igjen fører til høyere pris på sertifiserte settepoteter. Hvis smitten er over 4% godkjennes ikke partiet som settepotet.

Bladlus

Bladlus (*Aphidoidea*) er en insektoverfamilie innenfor ordenen nebbmunner (*Hemiptera*). Omtrent 4000 arter hører til under ordenen (Radcliffe and Ragsdale 2002). Det er påvist ca. 300 bladlusarter i Norge. Minst 76 arter er fanget i vannfeller i potetåkre ved tidligere registreringer, hvor alle disse er mulige vektorer for PVY og PVA. Fem bladlusarter koloniserer potet i Norge: Grønnflekke veksthusbladlus (*Aulacorthum solanii*), liten potetbladlus (*Aphis nasturtii*), stor potetbladlus (*Macrosiphum euphorbiae*), ferskenbladlus (*Myzus persicae*) og *Rhopalosiphoninus latysiphon* (Johansen, personlig kommunikasjon). Underfamilien Aphididae overfører 57% av kjente insektoverførte virus (Blackman, Eastop et al. 2000). Størrelsen varierer mellom ulike arter, men generelt er bladlus omtrent 2 millimeter lange med en eggformet kropp. Huden er tynn, i noen tilfeller med sklerotiserte partier. Fargen på bladlus kan variere fra gul, grønn, rødlig, brun eller svart. Som andre insekter har bladlusa tre par bein og ett par antenner. Antennene har tre til seks ledd. Mange bladlusarter har i tillegg to rør på ryggen som brukes til å slippe ut alarmferomoner (Fjelddalen 2012). Egenskaper ved bl.a. antennene, ryggrørene og formen på pannen kan brukes til å skille mellom ulike arter, ettersom det er relativt stor variasjon på disse trekkene mellom bladlusartene.

Bladlus forekommer som både vingeløse og vingede individ innen samme art. Tettheten av individer, daglengde og næringsinnhold i planten avgjør hvorvidt et individ utvikler vinger. Spredning av virus til et potetfelt er nesten utelukkende via bladlus med vinger (Broadbent 1950). For ikke-persistente virus er bladlusen kun smittedyktig fra noen minutter til timer, eller for et par næringsstikk (Loebenstein, Berger et al. 2013).

Bladlus formerer seg raskt, og alle bladlusarter utvikler mange generasjoner gjennom en sesong. Varme forhold gir kortere utviklingstid og dermed økt antall bladlus. Under optimale forhold vil de fleste bladlusarter kunne utvikle seg fra fødsel til reproduktiv alder på en uke (Dixon 1990). De fleste bladlus har veksling mellom kjønnede og ukjønnede generasjoner (Fjelddalen 2012). Vekslingen foregår som regel ved at hanner dannes om høsten, disse formerer seg med hunnene som legger overvintrende egg. Eggene legges gjerne på trær, inntil knopper eller sprekker som beskytter dem mot vær og vind. Når knoppene springer klekkes bladlusen midt i matfatet. Når veksten avtar i disse bladene, migrerer bladlusen til urteaktige planter. Dette gjelder de fleste arter, men noen blir værende på trær eller busker gjennom hele sesongen. På sommeren formerer bladlusen seg ukjønn i stort antall og vivipare hunner føder ubefruktede, levende unger. Når tettheten av bladlus blir høy, eller næringsinnholdet i planten synker, dannes det vingede individ. Disse flyr ut og koloniserer nye planter. På høsten produseres hanner, for å sikre genetisk variasjon ved kryssbefruktning. Hvorvidt bladlus blir til hanner eller nye hunner påvirkes av daglengde og temperatur. Daglengde og temperatur avgjør derfor også tidspunktet for høstmigrasjonen (Fjelddalen 2012).

Ferskenbladlus (*Myzus persicae*) er betraktet som den mest effektive vektoren for PVY i flere land i Europa der ferskentreet er mer utbredt (Piron 1986). Faktorer som antall og evne til å utvikle vinger kan likevel gjøre andre bladlusarter til svært effektive smittebærere. Svermetidspunkt er også avgjørende for hvorvidt en bladlusart utgjør en smitterisiko (Harrington and Gibson 1989). De fleste bladlus lever av floemvæske, og prøvestikker for å vurdere de kvalitative og kvantitative egenskapene til planten (Radcliffe and Ragsdale 2002). PVY og PVA er ikke-persistente virus, som vil si at de ikke er vertsspesifikke for bladlusart og kan overføres av arter som ikke har potet som vertsplante. Ett smaksstikk er nok til å overføre

viruset, fordi smaksstikk perforering av cellemembranen er nødvendig både for overføring og opptak av virus (Harrington and Gibson 1989).

Hver bladlusart har en minimumstemperatur for flygning. For *M. persicae* er dette 12,8°C (Broadbent 1949). Lysintensitet er også avgjørende for migrering. Flyveaktivitet er størst ved intensitet over 1000 lux (Radcliffe and Ragsdale 2002). Bladlus flyr sakte, gjerne 1 til 3 kilometer i timen og flyr derfor helst ved vindhastighet under 5 km/t. De kan likevel fly ved hastigheter opp mot 40 km/t (Radcliffe and Ragsdale 2002).

Vertsplanter for bladlus

Ettersom det er mange ulike bladlusarter har de også ulike levesett. Noen arter er polyfage, som betyr at de lever på mange ulike planter, mens andre er monofage, som betyr at de har kun én vertsplante. Mange bladlusarter har vertsskifte, som vi si at bladlusen veksler mellom en primærvert og en sekundærvert. Primærverten er ofte en treaktig plante der bladlusen overvintrer som egg og lever av næringsrike blad om våren. Når næringsinnholdet reduseres utover sommeren migrerer bladlusen over til sekundærverten. Sekundærverten er ofte en urteaktig plante som er i stadig vekst gjennom sesongen. Stadig vekst gjennom sesongen sikrer bladlusen en jevn strøm av næringsstoff. Et eksempel på dette levesettet er rød eplebladlus (*Dysaphis plantaginea*) som har epletre som primærvert, men trekker over mot groblad utover våren. Havrebladlus (*Rhopalosiphum padi*) veksler på samme måte, den har hegg som overvintringsvert og havre som sekundærvert. Ferskenbladlus har fersken som primærvert, og ettersom fersken stort sett ikke er å finne i norsk fauna eller blir dyrket kommersielt i Norge blir den tvunget til å kun ha ukjønnnet formering i Norge (Fjelddalen 2012).

Bladlusen lever av plantens floemvæske. Floemet er ledningsvevet der planten frakter blant annet fotosynteseprodukt, aminosyrer, hormoner og signalmolekyl. Strømmen av floemvæske går fra fotosyntetiserende bladceller til forbruk i nye skudd og blomster om vår og forsommer. Næringsstrømmen snur på sensommeren, da vil sukkerholdig væske fraktes til lagring i røtter, stengler eller frø. Røtter gjelder for overvintrende arter, da for eksempel potetknoll. Nye blad trenger tilførsel av fotosynteseprodukter frem til mellom en fjerdedel og halve bladet er utviklet (UiO 2016).

Bladlusa stikker stikke/sugemunnen inn gjennom plantens ytre forsvarsverk, kutikula og cellevegg, for å suge opp næringsrik floemvæske. På den måten får viruset en inngangsport for å infisere planten. Bladlusoverførte virus deles inn i to grupper utfra hvordan det overføres; persistente og ikke-persistente virus. Ved persistent overføring følger viruset med floemvæsken ned i bladlusens tarm, hvor det fraktes med hemolymfen til bladlusens spyttkjertler. Fra spyttkjertlen overføres viruset med spytt til nye planter ved neste nærings- eller prøvestikk på en ny plante. Prosessen tar noen timer, men bladlusen er til gjengjeld permanent smittedyktig. Et eksempel på et persistent overførbart virus er potetbladrullevirus, som gjør stor skade i potetåker lenger sør i Europa, men dette viruset er ikke påvist i Norge. Ved ikke-persistent overføring fester viruset seg kun på bladlusens munnleder så det kan overføres direkte til en ny plante. Smitten vaskes raskt vekk, noe som gjør at bladlusen kun er smittedyktig i en kort periode. Både PVY og PVA overføres på ikke-persistent måte med bladlus som vektor. Et kort besøk og perforering av bladverk er nok til å overføre viruset (Kirchner, Hiltunen et al. 2014). Opptak av viruset, forflytting av bladlus og avgivelse av virus til ny plante kan foregå på sekunder (Munthe 2003).

Bladlus er en viktig skadegjører i potet, først og fremst på grunn av dens egenskap til å overføre virus, men direkte skade kan også føre til store avlingstap (Adams and Kelley 1950). Potetplanten er mest mottakelig for virus tidlig i sesongen, under vegetativ vekst før blomstring. Planten blir mindre mottakelig under aldring og avblomstring (26). Transporten av virus til potetknollene reduseres ettersom planten blir eldre. Dette kalles «mature plant resistance» (Difonzo, Ragsdale et al. 1994).

Bekjempelsesmetoder

Bruken av insekticider er utilstrekkelig for å hindre spredning av PVY (Kirchner, Hiltunen et al. 2014). Insekticider dreper sjeldent bladlusen raskt nok til å hindre spredning, da et smakstikk kan være nok til å overføre viruset (Shanks and Chapman 1965). Pyretroider tar ikke liv av vektoren umiddelbart, noe som kan føre til at bladlusen oppfører seg rastløst, økt aktivitet og perforering. Denne reaksjonen kan igjen øke overføringen av virus (Kirchner, Hiltunen et al. 2014). Insekticid som sprayes på potetplantas blader kan være effektive for å redusere bladluspopulasjonen, og dermed også redusere spredning innad i potetåkeren. Effekten mot innflygende bladlus er heller dårlig, ettersom middelet sjeldent dreper bladlusen raskt nok til å hindre overføring av viruset. Et annet problem med insekticider er at middelet ikke er

holdbart over tid, mens bladlusa flyr kontinuerlig inn i åkeren. Å holde bladlusa borte krever derfor flere omganger med sprøyting. Midler som tar livet av bladlusas naturlige fiender (nyttedyr) kan føre til ekstra store mengder bladlus (Gordon and McEwen 1984). Flere bladlusarter har utviklet resistens mot en rekke kjemiske midler. Denne resistensen påvirker i stor grad hvilke midler som er tilgjengelige til bruk mot bladlus (Radcliffe and Ragsdale 2002). Insekticid-resistens hos *M. persicae* er et verdensomspennende problem (Sawicki, Devonshire et al. 1978). Et alternativ til insekticider er mineralolje. Påføring av mineralolje på bladene kan forhindre at bladlusen perforerer bladet, og på den måten hindre virusspredning (Kirchner, Hiltunen et al. 2014). Det er også blitt foreslått at mineralolje kan hindre viruset i å feste seg på bladlusens munnleder, og dermed hindre at viruset blir overført mellom planter (Powell, Hardie et al. 1998). Bevegelsen sprøytingen medfører kan provosere bladlusen til mer bevegelse og flukt fra plante til plante, dette kan igjen føre til mer smitte innad i potetåkeren (Klostermeyer 1959). Bruk av ikke-giftige mineraloljer i veksthus viste en reduksjon i PVY-smitte (Bradley, Wade et al. 1962). På friland ble det påvist en reduksjon på hele 88% virusmitte (Bradley, Moore et al. 1966). Effekten var likevel enda bedre i veksthus, en reduksjon på tilnærmet 100%, noe som kan skyldes at oljen på friland i større grad ble vasket vekk i vær og vind.

Den mest effektive måten å kontrollere PVY er i følge Cockerham (1970) potetplantens opprinnelige forsvarsmekanismer mot virus. Mange ville potetsorter er resistente mot virus, men det er lite genetisk variasjon mellom de ulike sortene som brukes i dag. At en plante ikke blir infisert med virus kan komme av at vektoren ikke kommer til. Plantens ytre forsvarsverk kan hindre bladlus i å perforere bladet. Forsvarsverket kan være trikomer og kutikula, eller andre egenskaper som gjør planten til et dårlig valg for næringstikk eller kolonisering. Planter produserer signalmolekyl som påvirker oppførselen hos bladlus (Herrbach 1992). Dette kalles semiokjemikalier og kan gi en viss beskyttelse mot bladlusangrep og dermed også virusmitte.

Fravær av virussyptomer betyr ikke nødvendigvis at planten er virusfri. Lite symptomer kan gi et falskt inntrykk av resistens mot virus, men planten kan likevel være bærer av virus som kan gi redusert vekst hos andre sorter i området.

Introduksjon

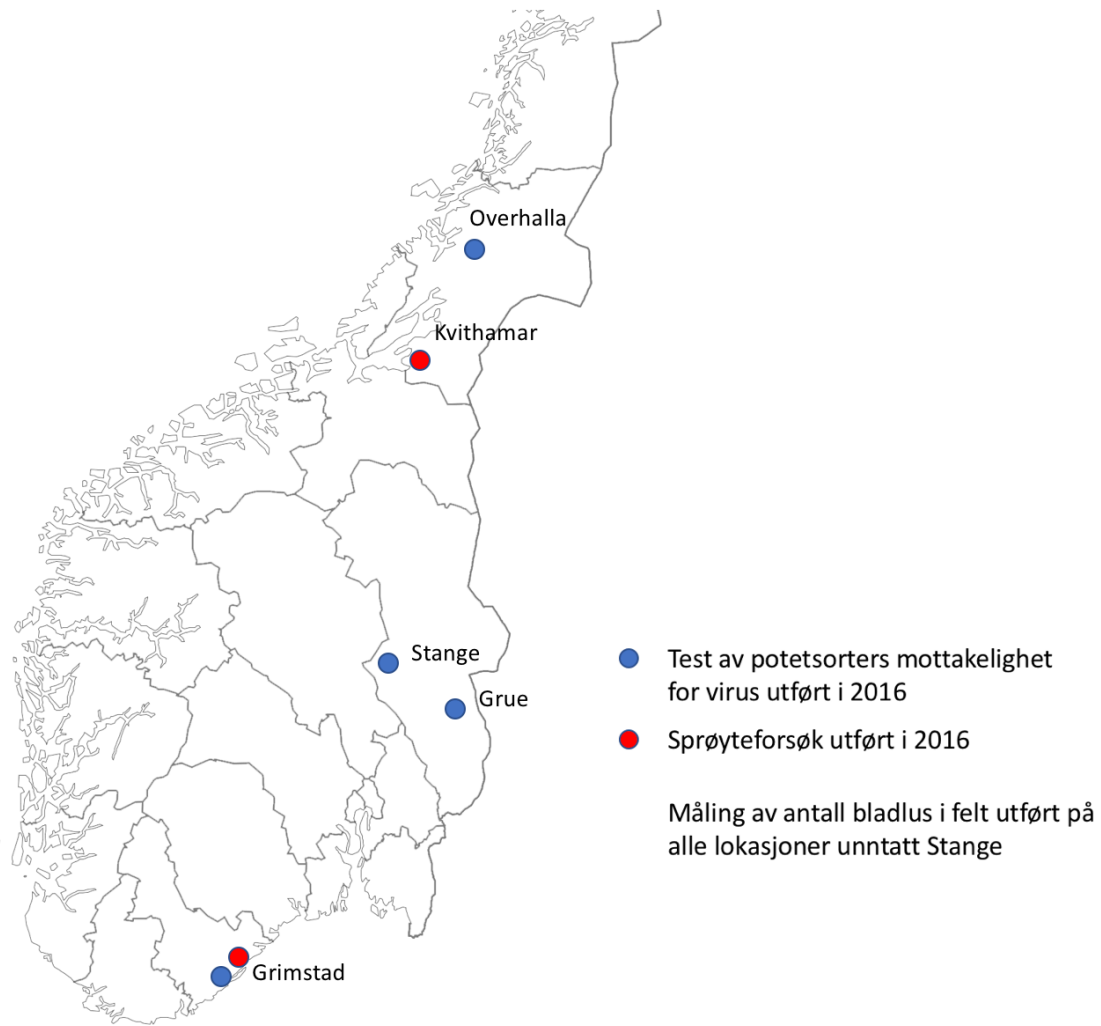
Potetvirus Y og A er patogener som har fått lite oppmerksomhet ettersom de er vanskelig å legge merke til i felt. Likevel taper norske settepotetprodusenter millionbeløp hvert år grunnet virusinfeksjoner (Glorvigen 2016). Store mengder settepotet må kasseres dersom mer enn 4% av partiet er smittet av virus. Dette er en grense satt av næringen for å sikre god kvalitet på settepotetene som selges (Glorvigen 2016). At store mengder potet kastes er dårlig utnyttelse av areal, koster settepotetprodusentene penger og fører til høyere priser for bøndene som produserer til konsum. Potet er spesielt utsatt for virussykdommer ettersom den er knollformert. Det gir viruset mulighet til å overføres fra en sesong til den neste i levende vev. De vanligste virustypene i norsk potetåker er potetvirus Y og potetvirus A. Disse er begge virus som overføres mellom potetplanter via bladlus (Radcliffe and Ragsdale 2002). I Norge er det et omfattende system for rensing av settepotet for sykdom. For å produsere virusfrie settepoteter må en arbeids- og tidkrevende prosess til. Meristemrensing blir gjort for å produsere plantemateriale helt fritt for virus, og dette foregår ved Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO). Her kuttes kun meristemet fra poteten ut for deretter å formeres opp sterilt *in vitro*. Til tross for at potetplanten er infisert av virus eller bakterier vil meristemet være sykdomsfritt. Fra meristemet vokser små planter som videre stiklingsformerer og deretter produserer mikroknoller. Disse mikroknollene oppformerer videre i jord før de kan settes ut i felt. For å produsere nok virusfrie potetknoller til potetindustrien må potetene oppformerer i en eller to sesonger på friland. Dette er et sårbart ledd i prosessen der smitte kan komme til via bladlus. Flere partier med settepoteter kan ikke godkjennes på grunn av for høy andel virussmittede planter. Dette er et unødvendig tap for settepotetnæringen, som igjen fører til høyere pris på sertifiserte settepoteter. Problemet er å oppformere settepotetene i stort nok antall uten at ny smitte kommer til underveis. Hensikten med oppgaven er å se på tiltak som kan redusere virusmitte i norsk potetproduksjon. Det ble undersøkt om bruk av kjemiske midler og mineralolje førte til reduksjon i antall virusinfiserte planter. Tre potetsorter som er i bruk i norsk potetproduksjon i dag ble vurdert for å se om det var forskjell på dem med tanke på smitten av virus. Det ble også registrert innflygning av bladlus. Forsøket ble utført i utvalgte potetåkre i de største settepotetområdene.

Prosjektets hensikt er å gjøre potetdyrking i Norge mer økonomisk lønnsomt, både for settepotetprodusentene og potetdyrkerne. Reduksjon av virusmitte vil være viktig for å sikre dette.

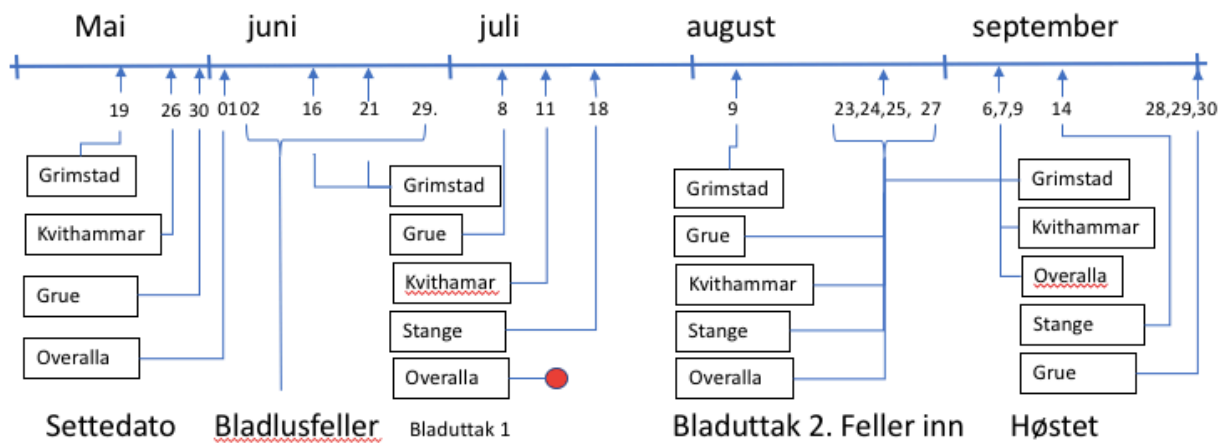
Material og metoder

Forsøket ble utført i fem distrikt i Norge. Disse fem områdene ble valgt fordi de står for store deler av den norske settepotetproduksjonen. Områdene var Hedmark og Nord-Trøndelag fordi de er de viktigste settepotetområdene, og Agder og Vestfold fordi disse områdene har hatt store problemer med bladlus. To forsøk ble utført; sortsforsøk og middelforsøk. Sortsforsøket gikk ut på å undersøke forskjellen mellom smitteforekomst i de tre potetsortene Asterix, Lady Clair og Innovator. Middelforsøket gikk ut på å undersøke effekten av kjemiske midler og mineralolje for å hindre bladlus i å overføre viruset. Sortsforsøket ble utført i Overhalla, Stange, Grue og Grimstad, middelforsøket ble utført i Kvithamar og Grimstad. Forsøksfeltene ble plassert i etablert åker med potet til konsum.

Felles for begge forsøk er at det ble utført fellefangst av bladlus for å registrere innflygning og mengde bladlus i feltet gjennom sesongen. Det ble også tatt virusprøver i form av bladprøver og knollprøver for å når PVA og PVY kom inn i feltet. Dette er beskrevet nærmere under overskriftene «bladlusfeller» og «virustesting».



Figur 1. Figuren viser hvor i landet forsøkene er utført, fargene representerer de ulike forsøkene.



Figur 2. Oversikt over hva som og gjort i felt og til hvilken tid det er blitt gjort.

Bladlusfeller

Forekomst av bladlus ble registrert for å få et bilde av når virusmitten kommer inn i åkeren. Vannfeller (Fig 3) ble brukt for å registrere innflygningen av bladlus i potetåkeren og hvordan bladlusinnflygningen fordelte seg over sesongen. Vannfellene var gule ettersom dette har vist seg å være effektivt for å tiltrekke bladlus uavhengig av art. Fellene hadde en grunnflate på 43 x 28 cm og en høyde på 11 cm. Fire gule vannfeller ble plassert rundt forsøksfeltet, én felle på hver side med fem meters avstand til kanten. I Grimstad var fellene plassert rundt sortsfeltet, men sprøytefeltet lå nær nok til at vannfellene var representative også for dette forsøket. Fellene ble plassert i omgivende potetåker, ikke på brakket mark eller annen grunn da dette kunne ha påvirket bladlusinnflygningen. Hver felle ble satt slik at fellas overflate til en hver tid var i høyde med toppen av potetriset. Vannfellene ble derfor hevet ettersom riset vokste for å sørge for dette. Hver felle ble fylt med 5 til 7 liter vann blandet med 1 til 2 teskjeer oppvaskmiddel. Oppvaskmiddel bel tilsatt for å bryte overflatespenninga, slik at insektene skulle synke til bunns. En pose Atamon (sukker, natriumbenzoat og benzosyre) ble tilsatt for å hindre at bladlusene ble brutt ned. Fellene ble satt ut en uke før antatt spiring av settepotetene og tatt inn ved nedsviing av riset. Fellene ble tømt og registrert med en ukes mellomrom gjennom sesongen. Samme dag hver uke ble fellene tømt og helt over på hver sin flaske. Flaskene var på forhånd tilsatt Atamon for å hindre at bladlusene ble brutt ned før de ble talt og registrert.



Figur 3. Gul vannfelle plassert mellom radene i potetfeltet.

Flaskene ble sendt til NIBIO der bladlusene ble sortert og telt opp. Først ble bladlus sortert ut fra andre insekt og satt på 70% etanol for lagring. Prøvene ble oppbevart ved 3°C. Utover høsten ble bladlusene sortert etter morfologiske trekk, omtrentlig ned til art ved hjelp av lupe med 11,5x forstørrelse. Dersom det var minst fem individer av en «art» ble fem individer sendt til barcoding for korrekt bestemmelse. Dersom det var færre enn fem individer av en «art» ble kun ett individ sendt til barcoding. I slutten av sesongen ble potetriset blir svidd ned. Nedsviing av potetriset blir gjort for å fremskynde modning, men det hindrer også smitte sent i sesongen når bladlusen migrerer. Ved nedsviing ble også bladlusfellene tatt inn og registreringen avsluttet.

Flaskene ble sendt til NIBIO der bladlusene ble sortert og talt opp. Først ble bladlus sortert ut fra andre insekter og lagt i dramsglass med 70% etanol for lagring. Prøvene ble oppbevart mørkt og kjølig (3°C). Utover høsten ble bladlus fra hver av de ulike forsøksstedene og fangstdatoene sortert etter morfologiske trekk ved hjelp av lupe med 11,5x forstørrelse omtrentlig ned til art.

Virustesting

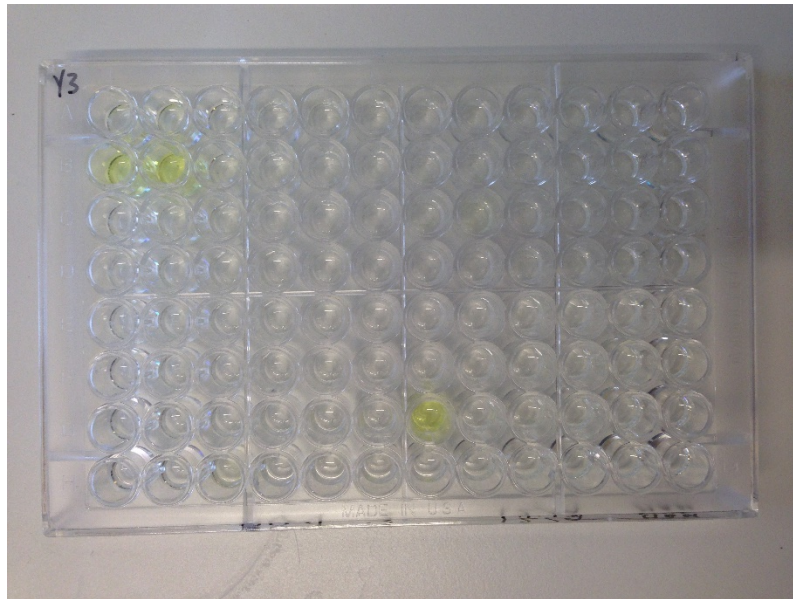
Bladprøver

Bladprøver ble tatt for å påvise eventuell smitte av virus i potetplantene. Dette ble gjort to ganger i løpet av sesongen; tidlig og sent. Ved testene ble det undersøkt for både PVA og PVY hos alle plantene. Første uttak ble gjort når potetriset var omtrent 10 cm høyt. Mellomstore blader ble valgt, femte utviklede blad så langt det lot seg gjøre. Fem til seks småblad ble tatt fra hver plante så de utgjorde omtrent ett gram i hver pose. Bladene ble knepet av gjennom posen, ikke med hendene eller annet redskap, fordi plantesaft på redskap eller hender kan overføre viruset til neste plante og spre viruset mekanisk. Prøvene ble sendt til NIBIO samme dag eller dagen etter innsamling for å hindre at bladmaterialet ble nedbrutt og uhåndterlig.



Figur 4. Bladprøver fra 2. bladuttak.

På NIBIO ble bladprøvene veid opp. 0,5 g av hver plante ble lagt i ELISA-poser og fryst ned til -18°C , ettersom det var for mange prøver til å teste samtidig. I løpet av høsten ble prøvene testet ved DAS-ELISA. Prøvene ble tilsatt coatingbuffer (1:500 DSMZ, 1:200 AGDIA) og deretter most i en homogeniseringsmaskin (Bioreba) for å frigjøre viruset fra cellene. Bufferen ble tilsatt for å hindre at viruspartiklene ble brutt ned av pH-endring når cellekjernen og vakuolen ble knust. Deretter ble prøvene testet for virus A og virus Y ved hjelp av DAS-ELISA og RT-PCR.



Figur 5. Illustrasjonsbilde av DAS-ELISA-plate med 96 brønner. Hver brønn representerer en potetplante og gulffarge representerer virusssmitte. De to brønnene øverst i rad A (1-2) og B (1-2) er kontrollbrønner, hvorav A1-2 inneholder kun buffer og B1-2 inneholder prøver som på forhånd er testet og inneholder virus.

Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) er en effektiv måte å påvise virus i planter. Dobbel-antistoff-sandwich-ELISA, forkortet DAS-ELISA, benytter seg av antistoffer, immunoglobuliner som fanger opp de antigenene en ser etter. Et spesifikt antistoff-enzym-konjugat benyttes for å påvise antigenet.

Knollprøver

Knollprøver ble tatt for å undersøke hvor mange planter som var infisert ved nedsviing av riset. Virusinnholdet ved nedsviing er viktig ettersom det er settepotetene som overfører virus til neste sesong. Knollprøvene ble tatt før resten av feltet ble høstet. Tre knoller ble høstet fra hver plante. Det øverste vekstpunktet ble skåret ut, med omtrent 1 cm radius. Disse ble dyppet i veksthormonet gibberellin for å bryte vinterdvalen. Etter dypping i gibberellin ble vekstpunktet tørket og satt til spiring i såjord i veksthus. Når plantene var store nok, ble det tatt prøver på samme vis som beskrevet under «Bladprøver». Disse ble også testet ved bruk av DAS-ELISA- metoden.

Middelforsøk

Middelforsøket ble gjennomført for å undersøke hvilke kjemiske midler og mineraloljer som kan tas i bruk for å hindre at potetplanter smittes med virus via bladlus. Målet er å finne ut

om et av midlene som er godkjent mot bladlus i Norge har effekt ved å hindre bladlus i å overføre PVA og PVY. Tre ulike sprøytere regimer ble undersøkt, for å finne ut om det var forskjell i antall planter som ble smittet med virus. Regimene som ble testet var Teppeki, Fibro, Teppeki+Fibro, i tillegg til en ubehandlet rute.

Tabell 1. Midler og konsentrasjon brukt i middelfeltet. A: Forebyggende ved første observerte bladlus i vannfelle, B: 7 dager etter behandling A, C: 7 dager etter behandling B og videre deretter. Sprøyteutstyret som ble brukt på de ulike regimene var NOR sprøyte med et sprøyte trykk på 2 bar og forskrevet dysetype beskrevet i NIBIO GEP-protokoll.				
Ledd	Virksomt stoff	Handelsnavn	Preparat pr. daa	Sprøyteintervaller
1	Ubehandlet	-	-	-
2	Flonikamid	Teppeki	16 g til 20 l vann	AC Behandling nr. 2 utføres to uker etter første behandling
3	Parafinolje	Fibro	0,7 l til 20 l vann	ABCDEFGH Ukentlig sprøyting
4	Flonikamid+ Parafinolje	Teppeki+ Fibro	16 g til 20 l vann+ 0,7 l til 20 l vann	ABCDEFGH A med Teppeki, B-C og E-H med Fibro D med Teppeki+ Fibro

Forsøket ble plassert i etablert potetåker og drevet i hovedsak av bonden som ellers forvalter åkeren. Andre insekticider enn Teppeki og Fibro ble ikke brukt, da det ville påvirke smitten og innflygning og overlevelsen av bladlus. Potetene ble satt for hånd for å hindre at viruset ble overført mekanisk. Potetene som ble satt var av typen Innovator P2 som kun har vært oppformert i veksthus tidligere. Det kan derfor forventes at potetknollene omtrent ikke inneholdt smitte ved setting. Potetfeltet rundt var satt med potetsorten *Rutt*, disse var vintertestet og inneholdt 0% PVY og PVA i Grimstad. I feltet på Kvithamar var det satt flere ulike sorter, mest av nummersorten P02-18-66, men også Lady Claire i tillegg til et par andre sorter. Potetsortene i feltet rundt på Kvithamar var ikke vintertestet så virusinnholdet var ukjent.

Hele forsøksfeltet dekket 1200 m² totalt, inkludert buffersoner. Buffersonene utgjorde 1 m mellom rutene og 3 m rundt feltet. Forsøket bestod av 5 gjentak. Hvert gjentak bestod av fire ledd og utgjorde 32 kvadratmeter, 3,2m i bredden x 10m i lengde. Hvert ledd inneholdt fire rader med potetplanter.

Sortsforsøket

Hensikten med sortsforsøket er å undersøke om det er forskjell i hvor utsatt disse potetsortene er for virus, og om det så er en eller flere sorter som egner seg bedre til bruk i settepotetproduksjonen.

Feltet ble også her plassert i tilknytning til etablert potetåker. Det ble brukt virusfrie settepoteter med et mellomrom på 30 cm innad i raden. Potetene ble satt for hånd, 1 til 2 cm under flatt land. Hver rute bestod av to rader ganger 4,2 m og avstanden mellom radene var 80 til 85 cm. Grensebeltet var på 1,5 m mellom hvert gjentak og rundt feltet. Feltet bestod av 9 ruter med 2 rader innen hver rute. Hver rad bestod av 14 knoller. Forsøket var til sammen 90 m². Det ble ikke kjørt i feltet. Insektsmiddel ble ikke brukt da dette ville påvirket resultatene med tanke på smitte og fangst av bladlus. Gjødsling, ugrasbekjempelse og behandling mot sopp ble gjort som med resten av åkeren. Prøver for virus og bladlusfangst ble gjort som beskrevet over.

Statistiske metoder

For å undersøke forskjellen mellom de ulike behandlingene ble binær logistisk regresjonsanalyse i R Studio (<https://cran.r-project.org/web/packages/popbio/index.html>) brukt. I forsøket ble det funnet enten virusmitte eller ikke virusmitte. Denne metoden ble brukt fordi det var mange virusfrie planter, så tallene for virus rask kunne druknet i nullene ved bruk av for eksempel ANOVA. Konfidensintervall på 95% ble brukt for å fastslå om forskjellene var store nok til å være signifikante. Resultater med $p < 0,05$ ble regnet som signifikant. Lady Claire ble testet mot Innovator og Asterix der Lady Claire ble satt til 1 og de to resterende sammen utgjorde 0.

Siden man bare kan teste to grupper av gangen, ble én og én sort testet mot resten.

H0: Det er ingen forskjell i PVY- og PVA-smitte mellom Lady Claire og de to andre sortene

H1: Det er forskjell i PVY- og PVA-smitte mellom lady Claire og de to andre sortene

I praksis ble først Lady Claire testet mot Innovator og deretter Innovator mot både Lady Claire og Asterix. Asterix ble testet mot Innovator og mot de to sortene Lady Claire og Innovator sammen.

Disse testene er gjort for å se om en av sortene er bedre enn de andre med tanke på virusmotstand, eller spesielt dårlige. Dette ble vist ved jitterplott for å vise sannsynlighet for at en sort ville være utsatt for virus. I jitterplottet er det satt inn histogram for å illustrere hvordan forsøksrutene er fordelt utover aksene med virusmitte.

Tilsvarende statistiske tester er gjort for middelforsøket. Effekten av ingen behandling er testet mot effekten av behandlingene til sammen. Denne hypotesen ble derfor testet med binær logistisk regresjon som beskrevet over. Teppeki+Fibro ble testet mot de andre behandlingene.

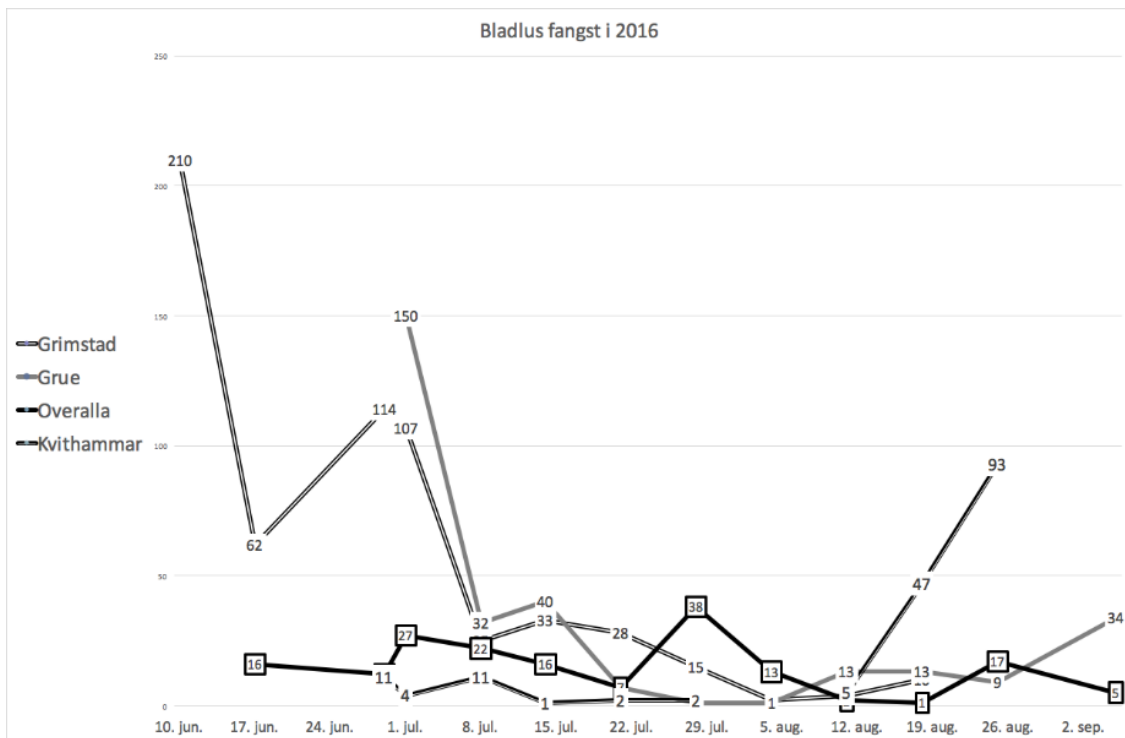
H0: Det er ingen forskjell mellom Teppeki+Fibro og de andre behandlingene

H1: Det er forskjell mellom Teppeki+Fibro og de andre behandlingene

Resultater

Bladlusregistrering

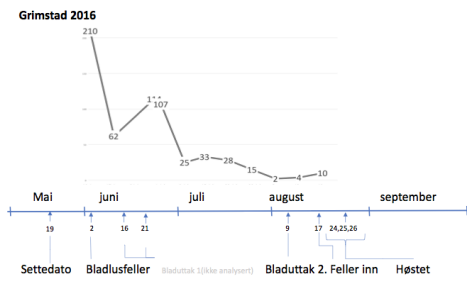
Den største variasjonen i registrering av innflygningen var mellom forsøksområdene. I Grimstad var den største registreringen på 210 bladlus, mens det største antall bladlus som ble registrert i Overhalla var 38.



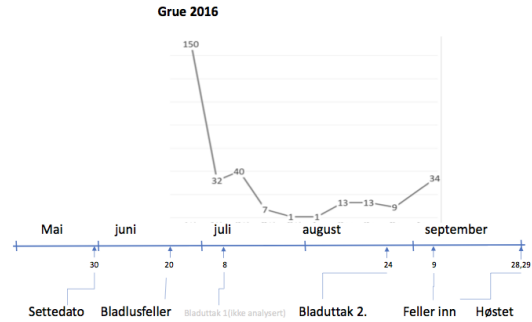
Figur 6. Figuren viser antall bladlus registrert i vannfeller gjennom vekstsesongen i forsøksfeltene. Linjene representerer stedene registreringen er gjort, Y-aksen viser antall bladlus, X-aksen viser datoen fellen er hentet inn.

For Grimstad og Grue var antallet bladlus i den første fellen det høyeste gjennom hele sesongen. Første felle i Grimstad stod ute i felt fra 03.06.2016 til 10.06.16. 210 bladlus ble fanget i denne perioden. Den første fellen i Grue stod ute i elleve dager i stedet for en uke, fra 20.06 til 01.07. 150 bladlus ble fanget i denne fellen. Første registrering i Kvithamar var på 11 bladlus for perioden 22.06.16 til 29.06.16. For Overhalla inneholdt første registrering 16 bladlus, fellene stod ute fra 10.06.16 og ble hentet inn 17.06.16.

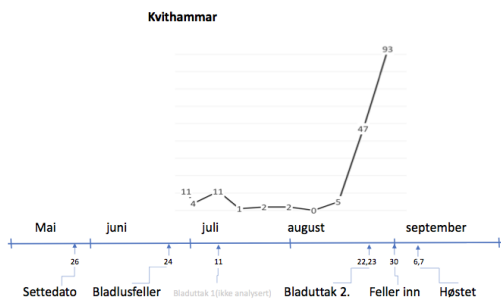
A)



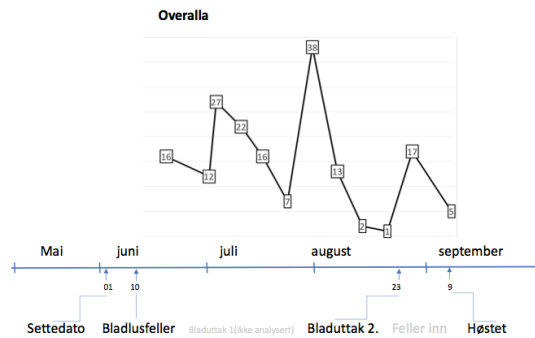
B)



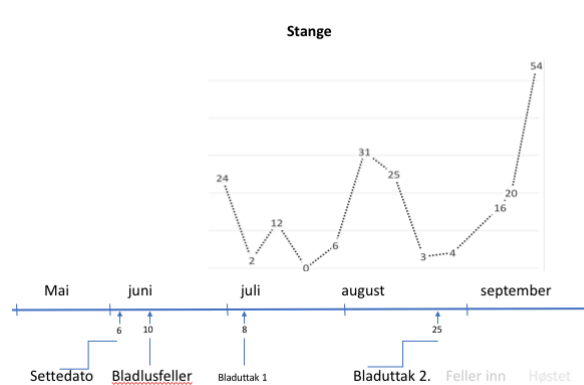
C)



D)



E)



Figur 7. Figuren viser antall bladlus registrert i vannfeller gjennom vekstsesongen i forsøksfeltene A) viser bladlusregistrering gjennom sesongen i Grimstad, B) viser for Grue C) for Kvithamar D) for Overhalla og E) for Stange. Y-aksen viser antall bladlus, X-aksen viser datoen fellen er hentet inn. På X-aksen er det markert av viktige hendelser gjennom sesongen, settetidspunkt, når bladlusfeller ble satt ut når bladprøver ble tatt og når potetene ble tatt opp.

Det var tydelig fall i antall bladlus etter første registrering i både Grimstad og Grue (Fig 7A, 7B). Andre felle for Grimstad stod i feltet fra 10.06 til 17.06 og fanget i løpet av den perioden 62 bladlus. Andre felle for Grue stod i felt fra 01.07 til 07.07 og inneholdt ved innhenting 32 bladlus. Etter en noe høyere tredjefangst er antallet bladlus registrert gjennom resten av sesongen i de to områdene relativt lavt.

I Grimstad var tredje registrering på 114 bladlus, felleperiode 23.06 til 29.06. Deretter faller antallet og femte registrering inneholder 25 bladlus, periode 01.07 til 07.07. I perioden 28.07 til 04.08 er registreringen nede i to bladlus. Det er en svak økning opp mot 9 bladlus i august for perioden 11.08 til 17.08.

For Grue er tredje registrering fra 07.07 til 14.07 på 40 bladlus. Deretter synker antallet og er nede på 1 bladlus både for perioden 21.07 til 28.07 og 28.07 til 04.08. Det er en svak økning igjen mot slutten av sesongen, siste registrering var på 34 bladlus, fellen ble satt ut i felt 28.08 og hentet inn 05.09.

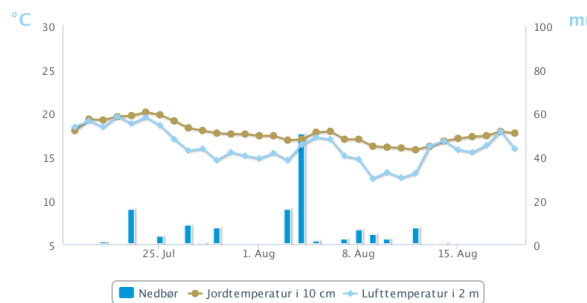
På Kvithamar var det få bladlus i vannfellene gjennom hele første del av potetsesongen (Fig 7). I juli var gjennomsnittet 4 bladlus per felle, med en registrering nede på en bladlus for perioden 12.07 til 19.07 og to bladlus i perioden 19.07 til 26.07. Mot slutten av august øker antallet bladlus opp mot 47 i felle 9 som stod i feltet fra 16.08 til 23.08 og 93 for felle 10 som stod i feltet fra 23.08 til 30.08.

Det var stor variasjon i antall bladlus registrert gjennom sesongen for Overhalla (Fig 7D). Det var vel og merke lite bladlus i Overhalla. Den høyeste registreringen var på 38 bladlus i perioden 22.07 til 29.07. I perioden 11.08 til 18.08 var registreringen nede på 1 bladlus.

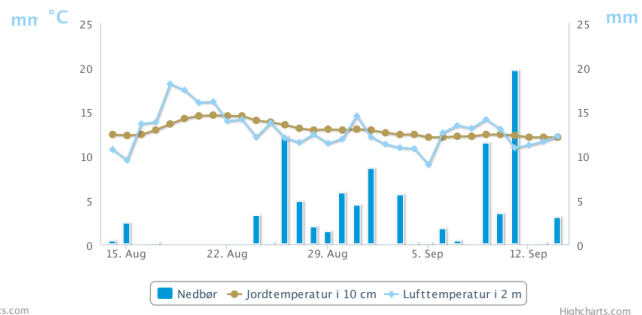
I Stange var det stor variasjon i bladlusfangst gjennom sesongen (Fig 6E). Stange skiller seg dessuten fra de andre lokalitetene ved å ha en økning av antall fangede bladlus i starten av august på 31 bladlus. Mot slutten av august er fangsten nede på 3 bladlus, men øker opp mot 54 i midten av september.

Værdata

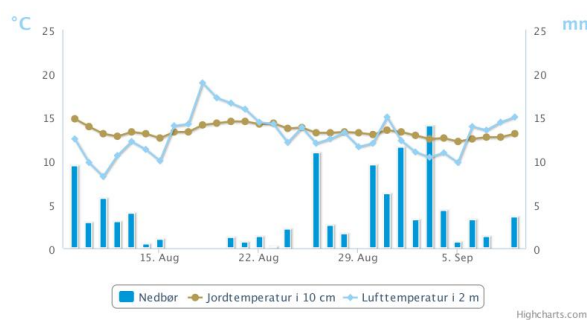
Grimstad



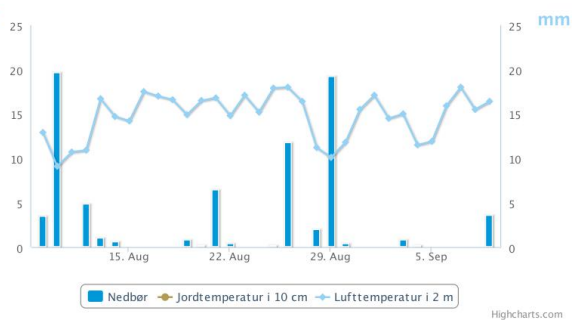
Overhalla



Kvithamar



Grue og Stange

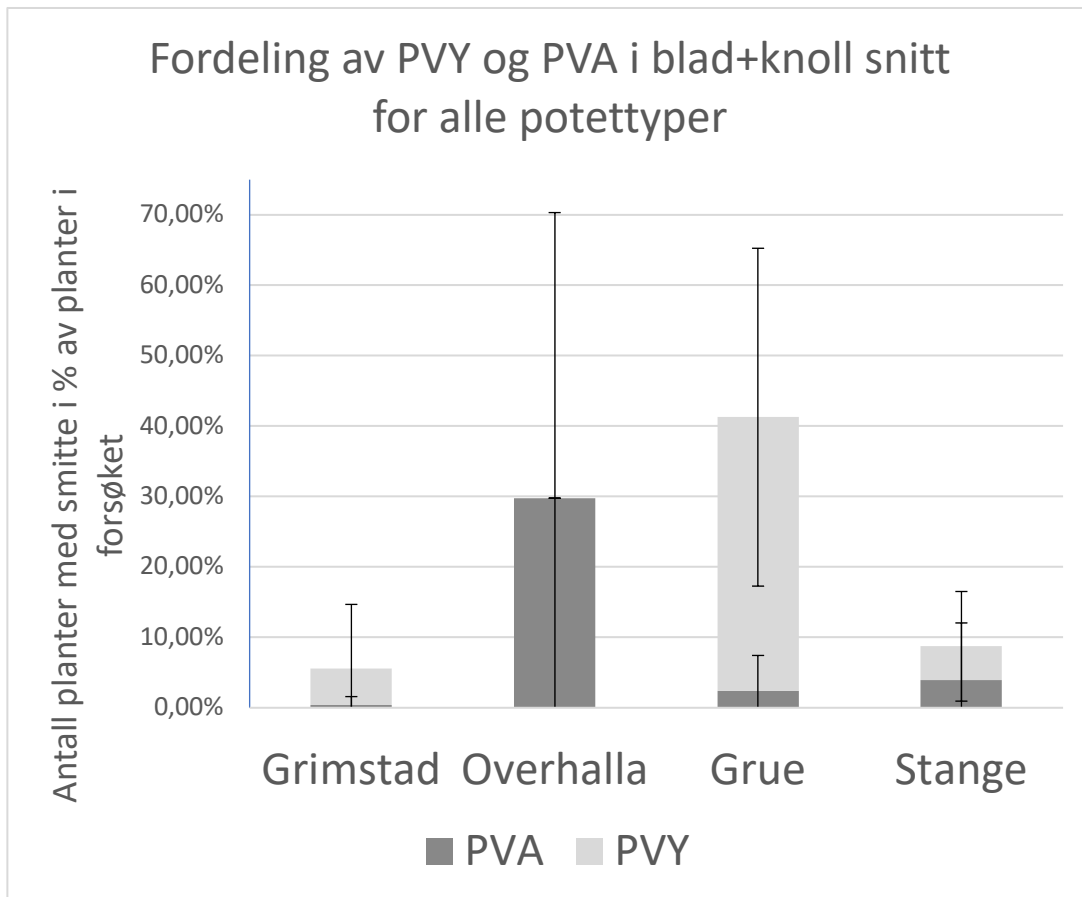


Figur 8. Værdata for perioden fra potetene ble satt til de ble høstet inn på de ulike forsøks-stedene. Kilde: landbruksmeteorologisk tjeneste NIBIO.

For Grue og Stange er værstasjonen på Åsnes brukt, da det var nærmeste stasjon med data fra denne perioden. Temperatur og værforhold antas å være omtrent det samme over dette området.

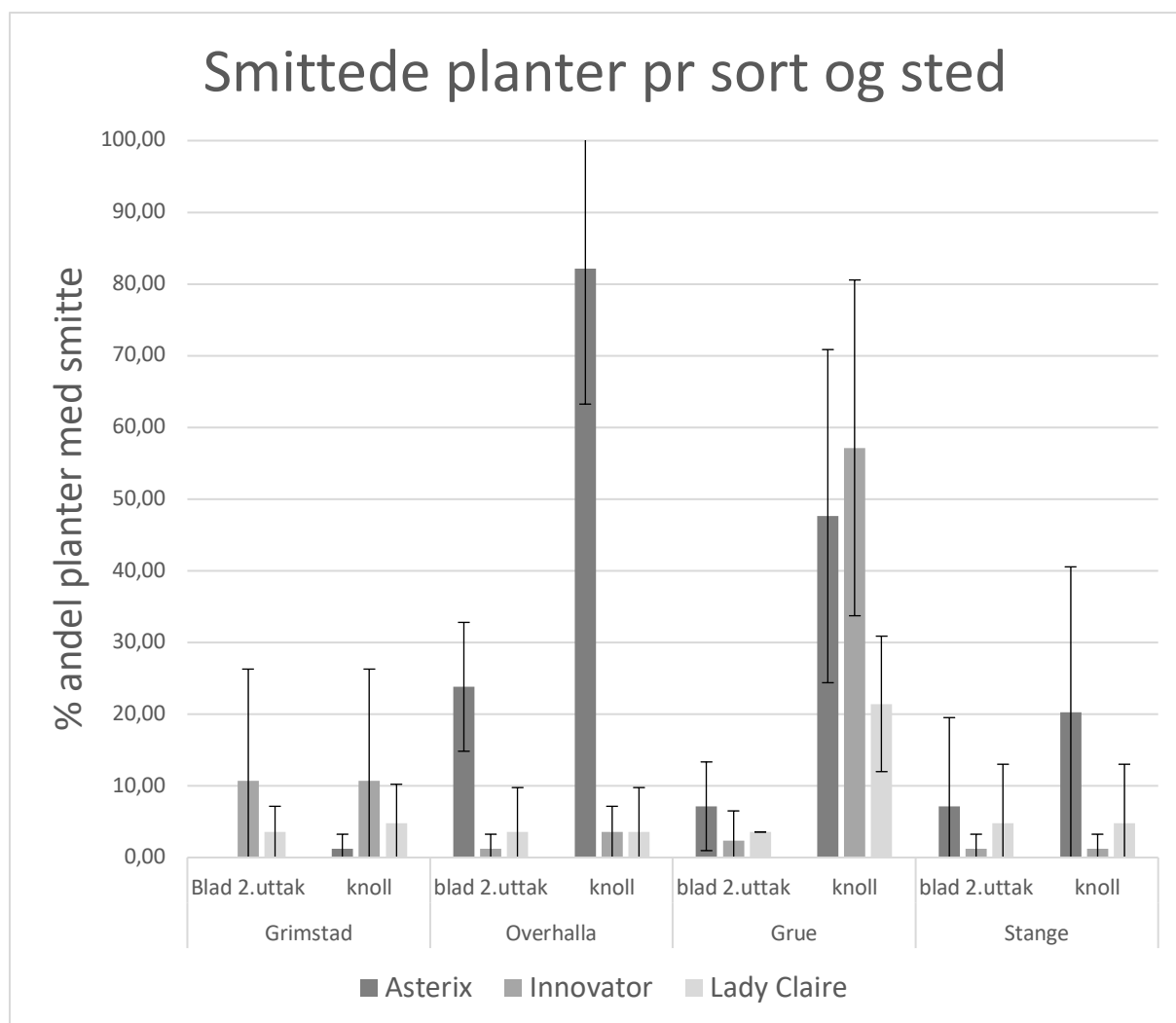
Sortsforsøk

Variasjonen i antall smittede planter var stor mellom de ulike områdene forsøket var utført. Det var også en tendens til at antallet smittede planter økte gjennom sesongen.



Figur 9. Prosent virusmittede potetplanter fra forsøkene utført i Grimstad, Overhalla, Grue og Stange. Samlet smitte, uten hensyn til ulik behandling. Verdiene er vist som gjennomsnitt av tre paralleller per sort (Asterix, Innovator, Lady Claire) +/- standardavvik. 10- verdiene er vist som gjennomsnitt av tre paralleller +/- standardavvik.

Forekomsten av PVY var høyere enn PVA, bortsett fra i Overhalla der det kun var påvist PVA (Fig 9). Grue hadde svært høyt antall infiserte planter av PVY. Grimstad hadde liten forekomst av begge virusstypene.



Figur 10. Registrering av virusmitte gjennom sesongen for fire lokaliteter, Grimstad, Overhalla, Grue og Stange. Tre ulike potetsorter ble brukt for å se på variasjonen i påvist smitte mellom disse. Sortene som ble brukt var Astrix, Innovator og Lady Claire. Verdiene er vist som gjennomsnitt av tre paralleller per sort (Asterix, Innovator, Lady Claire) +/- standardavvik. 10- verdiene er vist som gjennomsnitt av tre paralleller +/- standardavvik.

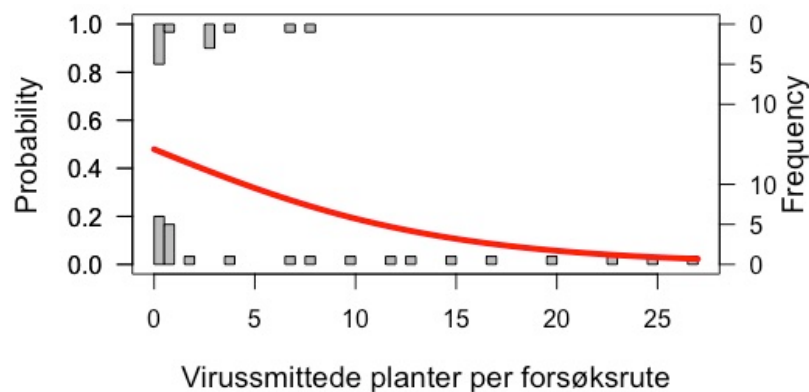
Lady Claire mindre smitte enn de to andre potetsortene. Asterix hadde mye virusmitte, så høyt som 82% smitte i Overhalla ved knolltest i slutten av sesongen. I Grue og Overhalla kan det se ut til at smitten har kommet sent i sesongen, da det er en økning i virusmittede planter mellom bladuttak 2 og knolltest.

Standardavviket i Overhalla er stort, så variasjonen mellom gjentakene er stor. Det var stor variasjon mellom de ulike lokalitetene når det gjaldt virusmitte. Grimstad hadde svært lite smitte, til tross for at resultatene fra bladlus-registreringene tydet på at det var mye bladlus i feltet. Overhalla hadde derimot mye smitte, men til gjengjeld et lavt antall bladlus registrert.

Sammenligning av virusmottakelighet fra sort til sort

Lady Claire vs. Asterix og Innovator

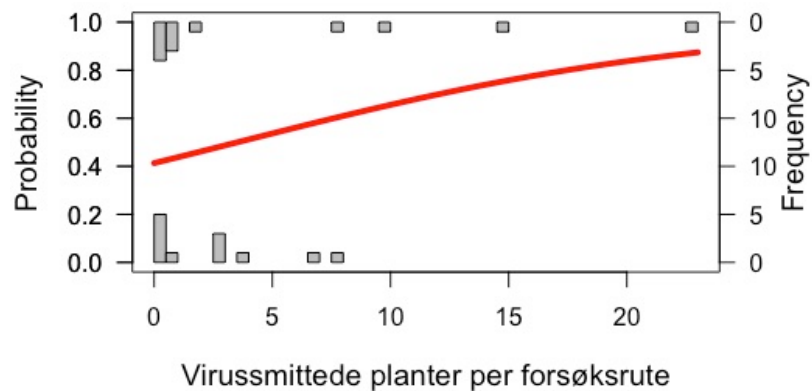
Figur 11 viser virusmengden i forsøksruter med potetsorten Lady Claire satt opp mot de to andre potetsortene i forsøket, Innovator og Asterix. Figuren viser sannsynligheten for at en forsøksrute med en gitt virusmengde er med potetsorten Lady Claire. Figuren inneholder også et histogram som viser fordelingen av forsøksruter på x-aksen som viser virus. Som en kan se av dette histogrammet er det dobbelt så mange forsøksruter med Innovator og Asterix, ettersom det er to sorter. Den røde linjen som viser sannsynlighet faller tydelig ettersom virusmengden øker langs x-aksen, det viser til at sannsynligheten for at en rute som inneholder mye virus er av sorten Lady Claire er lav. Histogrammet viser at ingen ruter med sorten Lady Claire inneholdt mer enn ti virusinfiserte planter. Plottet her sier ikke noe om forskjellene på de to andre sortene.



Figur 11. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten potetsorten Lady Claire eller en av de to potetsortene Asterix og Innovator. Rød linje indikerer sannsynlighet. Lady Claire er satt som 1, Asterix og Innovator er satt som 0. X-aksen viser antall virusmittede planter. Søylene viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Utregningene for sammenligningen mellom Lady Claire og de to andre sortene ga en p-verdi på $0,083 > 0,05$, som betyr at nullhypotesen ikke kan forkastes.

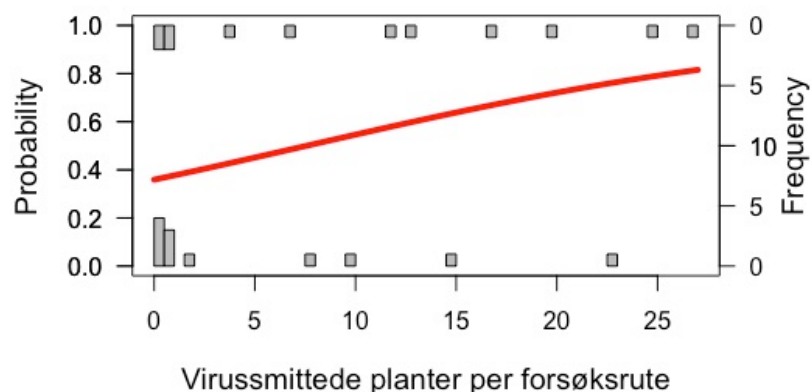
Lady Claire vs. Innovator



Figur 12. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten potetsorten Lady Claire eller potetsorten Innovator. Rød linje indikerer sannsynlighet. Lady Clair er satt som 1 og Innovator er satt som 0. X-aksen viser antall virussmittede planter. Søylene viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Figur 12 viser potetsorten Lady Claire mot potetsorten Innovator, for å se på forskjellen i sannsynlighet for virusmitte mellom de to ulike sortene. Figuren viser at sannsynligheten for at en forsøksrute med høyt antall virussmittede planter er sorten Lady Claire er større enn for sorten Innovator. Histogrammet viser at flere ruter med sorten Innovator hadde null smittede planter, men også mange ruter med Lady Claire hadde null eller få virussmittede planter.

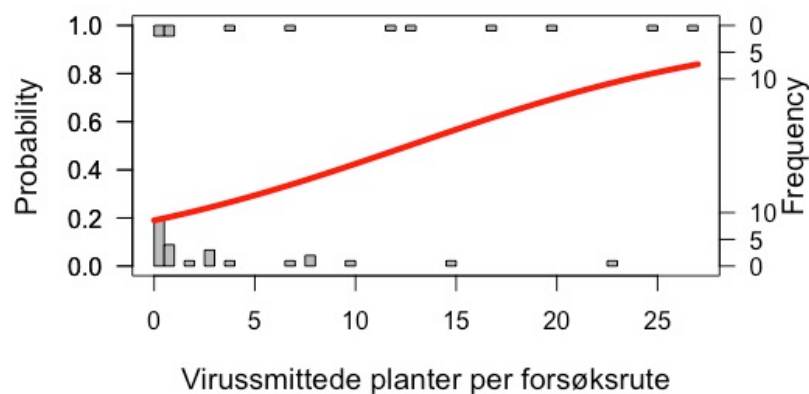
Asterix vs. Innovator



Figur 14. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten potetsorten Asterix eller potetsorten Innovator. Den røde linja indikerer sannsynlighet. Asterix er satt som 1, Innovator er satt som 0. X-aksen viser antall virussmittede planter. Søylene viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Av figur 14 kan det se ut til at det er en økning i sannsynligheten for at et felt inneholder potetsorten Asterix dersom det er et høyt antall virusinfiserte poteter. Den røde linjen er oppe mot 80% sannsynlighet dersom over 25 planter er smittet. Figuren viser også at Asterix hadde en jevnere fordeling av virus utover den sekundære x-aksen. En stor del av Innovator-plantene var virusfrie, som vises ved søylen ved verdien 0 langs primær x-akse.

Asterix vs. Lady Claire og Innovator



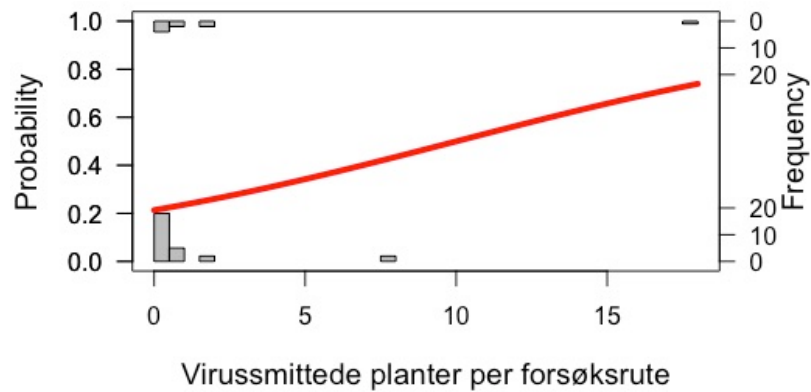
Figur 15. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten potetsorten Asterix eller en av de to potetsortene Lady Claire og Innovator. Sannsynligheten er vist som en rød linje som går fra 0 til 1 på Y-aksen. Asterix er satt som 1, Lady Clair og Innovator er satt som 0. X-aksen viser antall virusmittede planter. Søylen viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Figur 15 viser sannsynligheten for at en forsøksrute med mange planter smittet av PVA og PVY er med sorten Asterix (1) og ikke Lady Claire eller Innovator (0). Den røde linjen som viser sannsynlighet øker tydelig utover primær x-aksen som viser antall virusmittede planter i en forsøksrute. Histogrammet viser også at antallet ruter med mange virusmittede planter er høyere for Asterix til tross for at det er færre ruter med denne sorten totalt.

Utrekningene i R- studio viser at Asterix mot de to andre sortene var den eneste som gav signifikant forskjell ($p = 0.02573 < 0.05$) ved et konfidensintervall på 95%. Det er derfor grunn til å si at Asterix er spesielt utsatt for PVY og PVA. Testen holdt seg også innenfor goodness of fit krav på 1.5, med testresultat på 1.17.

Middelforsøk

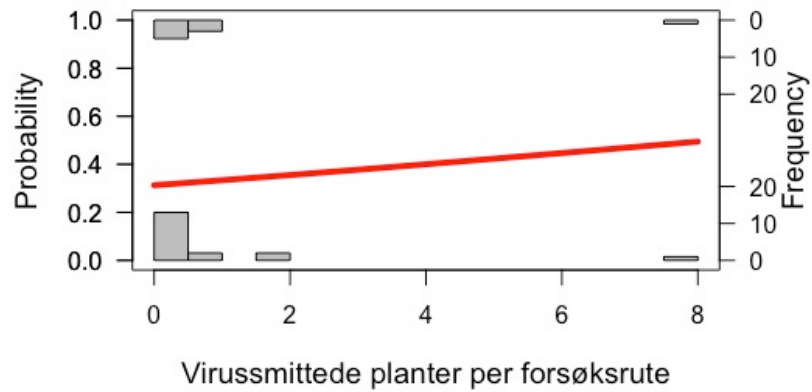
Ubehandlet vs. behandlet



Figur 17. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten ubehandlet eller behandlet med Teppeki, Teppeki+Fibro eller Fibro. Den røde linja indikerer sannsynlighet. Ubehandlet er satt som 1, de andre behandlingene er satt som 0. X-aksen viser antall virusmittede planter. Søykene viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Behandling generelt førte til mindre smitte av PVA og PVY (Fig 17), sannsynligheten for at en rute med høyt antall smittede planter var ubehandlet er på nesten 80%. Av utregningen med binær logistisk regresjon fra R-studio viser det seg likevel å ikke å være en signifikant forskjell, da $p=0,24$ som er betraktelig høyere en den satte verdien på $p=0,05$. H_0 påstår at det ikke er noen forskjell mellom behandling og uten behandling, og kan ikke forkastes på dette grunnlaget.

Teppeki + Fibro vs. de andre behandlingene



Figur 18. Jitterplot med histogram som viser sannsynligheten for at en rute med en gitt virusverdi er enten behandlet med Teppeki og Fibro eller en av en av de andre behandlingene. Den røde linja indikerer sannsynlighet. Teppeki+Fibro er satt som 1, de andre behandlingene er satt som 0. X-aksen viser antall virusmittede planter. Søykene viser antall planter som er registrert på den gitte virusmengden.

Figur 18 viser at antall det er få smittede planter for begge variabler. Histogrammet viser store bolker med virusfrie planter på verdien 0 x-aksen. Linjen som viser sannsynlighet øker svakt, men er ikke langt fra vannrett.

Utrekningene av binær logistisk regresjon i R-studio viste at det ikke var signifikant forskjell mellom bruk av Teppeki+Fibro og de andre behandlingene ($p=0.6081 > 0.05$). H_0 kan dermed ikke forkastes.

Diskusjon

Bladlusfangst og virus

Av resultatene ser en at antall bladlus varierte i stor grad mellom de ulike stedene forsøkene var utført. Det var likevel ingen klar sammenheng mellom hvor det var mest bladlus og hvor det var mest virus. Viruset sitter ikke på bladlusas munnleder mer enn noen minutter til timer, så for å overføre smitte må det derfor være smittede poteter i område der bladlusa nylig har oppholdt seg (Loebenstein, Berger et al. 2013). Det kan forklare hvorfor områder der det dyrkes lite potet hadde mindre virus, til tross for store mengder bladlus.

Temperaturen i Trøndelag er lavere i snitt enn det er for forsøksfeltene lenger sør. Dette kan ha påvirket oppformeringen av bladlus, det kan ha ført til lenger generasjonstid som igjen har ført til færre bladlus.

Lengre dager er for bladlusen et signal om migrasjon fra primærverten til sekundærverten. Denne flukten gjør bladlusen mer utsatt for å havne i forsøkets vannfeller. Kvithamar og Overhalla ligger lenger nord enn Grue og Grimstad. Etter vårjevndøgn blir dagene lengre i Midt-Norge enn områdene lenger sør. Vertsmigreringen kan derfor ha funnet sted allerede før fellene ble satt ut i disse områdene.

Variasjon i antall bladlus som ble registrert i vannfellene de ulike stedene kan skyldes ulik temperatur og daglengde. Spennet i breddegrad mellom Grimstad og Kvithamar gjør at daglengden sommerstid varierer for de ulike stedene. Det er usikkert om variasjonen er stor nok til å påvirke bladlusens migrasjon. Daglengde og temperatur er avgjørende for når bladlusen migrerer fra primærvert til sekundærvert. Migreringen kan være årsaken til den høye toppen for første registrering i Grimstad.

Det store antall bladlus fanget i første felleperiode for Grimstad, Grue og Stange kan komme av at de gule vannfellene ble spesielt synlig for bladlus når potetplantene i åkeren rundt ikke hadde spiret eller fortsatt var veldig små (Döring, Kirchner et al. 2004).

Dersom bladlus ved tidlig innflygning kommer direkte fra primærverten kan dette forklare at det var lite smitte tidlig i sesongen. Bladlus er nødt til å perforere en infisert potetplante for å bli smittedyktig. Det var mye smitte mellom andre bladuttak og knolltesten, til tross for at potetplanten blir mer motstandsdyktig med alderen (Radcliffe and Ragsdale 2002).

En annen forklaring på hvorfor smitten økte mot slutten av sesongen kan være at det var få virusinfiserte planter bladlusen kunne «hente» smitte fra. Fra bladlusen overfører viruset til viruset er spredd i planten tar det tid (Sigvald 1984). Når en plante først er infisert systemisk vil den være en kilde til virus for nye bladlus og viruset kan spres raskt over de korte avstandene i feltet. Dette til tross for at plantens alder fører til en viss grad av resistens (Difonzo, Ragsdale et al. 1994).

Sortsforsøk

Det kan se ut til at Asterix var spesielt utsatt for virus. De to andre sortene var omtrent like angrepet. Forsøkene som ble utført sier ingenting om hva denne forskjellen kommer av. Mulige forklaringer kan være at et signalmolekyl hindrer bladlusen i å lande, eller at planten har høyere konsentrasjon av giftstoffer. Bladlus kan også bli hindret i å lande av de ytre forsvarsmekanismene hos planten, for eksempel behåring eller tykk kutikula, eller mekanismer på innsiden av cellen som påvirker denne variasjonen mellom sortene. Ingen av sortene var effektive nok til å kunne brukes som tiltak mot virus alene, da alle partiene i forsøket ville blitt forkastet som settepotet på grunn av for høy virusforekomst.

Lady Claire ble testet mot Asterix og Innovator, det var ikke signifikante forskjeller mellom disse ved en konfidensintervall på 95%. Ved testene av de andre sortene var det kun Asterix viste seg å være signifikant dårligere enn de to andre sortene. Det var ikke stor nok forskjell på de to andre til å si at en var spesielt effektiv å ta i bruk for å hindre virusmitte.

Middelforsøk

Ukjent smittenivå i potetåkeren rundt kan forklare hvorfor det var betydelig mer smitte i Kvithamar enn i Grimstad der potetåkeren rundt inneholdt 0% virusmitte i følge vintertest.

Det ser ut til å være tendenser til at bruk av midler for å hindre smitte av PVA og PVY har effekt, men det var ikke signifikante forskjeller. Dette kan være fordi det var lite virusmitte i feltet generelt, så det var vanskelig å si noe ut fra de få smittede plantene som forekom. Dersom det hadde vært mer smitte i åkeren rundt forsøksfeltet i Grimstad hadde det antageligvis vært mer tallmateriale til å si noe sikrere om effekten av midler og mineralolje.

Konklusjon

Det ser ikke ut til å være noen direkte sammenheng mellom antall bladlus og smitte i potetåkeren. Selv om antallet bladlus er høyt, har det liten betydning dersom de ikke har vært innom en virusinfisert plante. Mengden smittede planter i området vil derfor ha større betydning. Det kan forklare hvorfor det ble registrert høyere antall virusmittede planter i områdene der det dyrkes mye potet.

Ut fra registreringene i dette forsøket kan det se ut til at den største mengden smitte kom sent i sesongen, i en tre ukers periode før innhøsting. Det er grunn til å tro at dette har vært smitte som har spredd seg innad i åkeren.

Lady Claire og Innovator hadde begge lite smitte i forhold til Asterix. Smittenivået for alle sortene var likeså høyt at partiene ikke ville blitt godkjent for salg som settepotet, så valg av sort alene ser ikke ut å være et godt nok tiltak mot PVA og PVY.

Det er ikke grunnlag for å si at noen av middelkombinasjonene eller midlene i seg selv kan hindre virusinfeksjon.

Referanser

- Adams, J. B. and R. A. Kelley (1950). "Potato aphid control studies, 1946–1949, at Woodstock, N. B., Canada." American Potato Journal **27**(5): 175-182.
- Aspeslåen, T., J. O. Forbord, O. Grundnes, E. Kjøs, H. A. Krogsti, E. L. Molteberg, O. J. Sundby and A. Sætre (2016). Status, flaskehalsar og mulige tiltak. NIBIO Rapport, NIBIO. **2**.
- Blackman, R. L., V. F. Eastop and N. H. Museum (2000). Aphids on the world's crops: an identification and information guide, Wiley.
- Bradley, R. H. E., C. A. Moore and D. D. Pond (1966). "Spread of Potato Virus Y curtailed by Oil." Nature **209**: 1370.
- Bradley, R. H. E., C. V. Wade and F. A. Wood (1962). "Aphid transmission of potato virus Y inhibited by oils." Virology **18**(2): 327-329.
- Broadbent, L. (1949). "FACTORS AFFECTING THE ACTIVITY OF ALATAE OF THE APHIDS MYZUS PERSICAE (SULZER) AND BREVICORYNE BRASSICAE (L.)." Annals of Applied Biology **36**(1): 40-62.
- Broadbent, L. (1950). "The Correlation of Aphid Numbers with the Spread of Leaf Roll and Rugose Mosaic in Potato Crops." Annals of Applied Biology **37**(1): 58-65.
- Chung, B. N., T. Canto, F. Tenllado, K. S. Choi, J. H. Joa, J. J. Ahn, C. H. Kim and K. S. Do (2017). "The Effects of High Temperature on Infection by Potato virus Y, Potato virus A, and Potato leafroll virus (vol 32, pg 321, 2016)." Plant Pathology Journal **33**(1): 101-101.
- Chung, B. Y.-W., A. W. Miller, J. F. Atkins and A. E. Firth (2008). "An overlapping essential gene in the Potyviridae." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **105**(nr.15).
- Cockerham, G. (1970). "Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y." Heredity **25**: 309.
- Difonzo, C. D., D. W. Ragsdale, E. B. Radcliffe and E. E. Bantari (1994). "SUSCEPTIBILITY TO POTATO LEAFROLL VIRUS IN POTATO - EFFECTS OF CULTIVAR, PLANT-AGE AT INOCULATION, AND INOCULATION PRESSURE ON TUBER INFECTION." Plant Disease **78**(12): 1173-1177.
- Dixon, A. F. G. (1990). "Evolutionary Aspects of Parthenogenetic Reproduction in Aphids." Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica **25**(1-4): 41-56.
- Döring, T. F., S. M. Kirchner, S. Kühne and H. Saucke (2004). "Response of alate aphids to green targets on coloured backgrounds." The Netherlands Entomological Society **113**: 53-61.

- Fjelddalen, J. (2012). "Bladlus. I Store norske leksikon." Retrieved 14.03.2018, 2018.
- Glorvigen, B. (2016). "Prosjektbeskrivelse: Ny kunnskap om redusert smittenivå av bladlusoverført virus (PVA og PVY) i settepotet." 12.
- Gordon, P. L. and F. L. McEwen (1984). "INSECTICIDE-STIMULATED REPRODUCTION OF MYZUS PERSICAE, THE GREEN PEACH APHID (HOMOPTERA: APHIDIDAE)." The Canadian Entomologist **116**(5): 783-784.
- Harrington, R. and R. W. Gibson (1989). "Transmission of potato virus Y by aphids trapped in potato crops in southern England." Potato Research **32**(2): 167-174.
- Herrbach, E. (1992). "Alarm pheromones and allelochemicals as a means of aphid control." Netherlands Journal of Plant Pathology **98**(2): 63-71.
- Kirchner, S., L. H. Hiltunen, J. Santala, T. Döring, J. Ketola, A. Kankaala, E. Virtanen and J. P. T. Valkonen (2014). Comparison of Straw Mulch, Insecticides, Mineral Oil, and Birch Extract for Control of Transmission of Potato virus Y in Seed Potato Crops.
- Klostermeyer, E. C. (1959). "The Relationship Between Insecticide-Altered Aphid Populations and the Spread of Potato Leaf Roll1." Journal of Economic Entomology **52**(4): 727-730.
- Loebenstein, G., P. H. Berger, A. A. Brunt and R. H. Lawson (2013). Virus and Virus-like Diseases of Potatoes and Production of Seed-Potatoes, Springer Netherlands.
- Munthe, T. (2003). "Virussjukdommer i potet." Grønn kunnskap **7**(nr.131). Norsk Landbruksrådgiving. (2017, 03.11.2017). "Potetsorter." from <https://potet.nlr.no/sortsinformasjon/>.
- Overhalla Klonavlssenter. (2017). "Organisering av settepotetavlen i Norge – Overhalla Klonavlssenter AS sin rolle." from <https://www.overhallaklon.no/settepotetavl/>.
- Pelletier, Y., X. Nie, M.-A. Giguère, U. Nanayakkara, E. Maw and R. Footitt (2012). "A new approach for the identification of aphid vectors (Hemiptera: Aphididae) of Potato virus Y." Journal of economic entomology **105**(6): 1909-1914.
- Piron, P. G. M. (1986). New aphid vectors of Potato virus YN.
- Powell, G., J. Hardie and J. A. Pickett (1998). "The effects of antifeedant compounds and mineral oil on stylet penetration and transmission of potato virus Y by Myzus persicae (Sulz.) (Hom., Aphididae)." Journal of Applied Entomology **122**(1-5): 331-333.
- Radcliffe, E. B. and D. W. Ragsdale (2002). "Aphid-transmitted Potato Viruses: The Importance of understanding Vector Biology." American journal of potato research **79**: 33.
- Salazar, L. F. (1996). Potatovirus and their control.

Sawicki, R. M., A. L. Devonshire, A. D. Rice, G. D. Moores, S. M. Petzing and A. Cameron (1978). "The detection and distribution of organophosphorus and carbamate insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulz.) in Britain in 1976." Pesticide Science **9**(3): 189-201.

Shanks, J. C. H. and R. K. Chapman (1965). "The Effects of Insecticides on the Behavior of the Green Peach Aphid and Its Transmission of Potato Virus Y1." Journal of Economic Entomology **58**(1): 79-83.

Sigvald, R. (1984). "The relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus Y0 (PVY0)." Potato Research **27**: 285-290.

Tian, Y. P., J. Hepojoki, H. Ranki, H. Lankinen and J. P. T. Valkonen (2014). "Analysis of Potato virus Y Coat Protein Epitopes Recognized by Three Commercial Monoclonal Antibodies." Plos One **9**(12): 20.

Tjønum, T. (2018, 20.02.2018). "Vektor: medisin. I Store medisinske leksikon." from <https://sml.snl.no/vektor - medisin>.

UiO. (2011, 19.03.2015). "Kultivar." from <http://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/k/kultivar.html>.

UiO. (2014, 28.08.2016). "Potet." from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/p/potet.html>.

UiO. (2016). "Floem." 2018, from <http://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/f/floemtr.html>.

Valkonen, J. P. T. (2007). Viruses: Economical losses and biotechnological potential. Potato Biology and Biotechnology. D. Vreugdenhil , J. Bradshaw, C. Gebhardt et al. Amsterdam, Elsevier Science B.V: 619–641.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway