



KØBENHAVNS UNIVERSITET
DET NATUR- OG
BIOVIDENSKABELIGE FAKULTET



Kandidatspeciale

Emma Christiani Skov

Agronomi – Produktion og Miljø

Indikatorplanter for rodgallenematoden *Meloidogyne hapla*

Vejleder: Mette Vestergård Madsen

Afleveret d. 29. august 2016

Titel og evt. undertitel: Indikatorplanter for rodgallenematoden *Meloidogyne hapla*

Title / Subtitle: Indicator Plants for the Northern Root-knot Nematode
Meloidogyne hapla

Vejleder: Mette Vestergård Madsen
Adjunkt
Terrestrisk Økologi
Biologisk Institut
Københavns Universitet

Afleveret den: 29. august 2016

Resumé

Tab forårsaget af angreb af *Meloidogyne hapla* (rodgallenematoder) i økologiske gulerødder er en væsentlig barriere for udvidelse af produktionen og imødekommelse af den stigende efterspørgsel. Dette projekt viser, at der er potentiale for at bruge indikatorplanter til at identificere, om marker er inficeret med *M. hapla*.

Mini romainesalat (*Lactuca sativa* var. *Longifolia* sort 'Xaroma') og alm. hanekro (*Galeopsis tetrahit*) udviklede lige så mange eller flere rodgaller som gulerod (*Daucus carota* sort 'Nairobi') ved inokulation med 3000 *M. hapla* 3, 17 og 30 dage efter fremspiring i potteforsøg. Ved inokulation efter 3 dage var der en højere andel rodgaller på primærroden end ved de 2 senere inokulationstidspunkter på salat og gulerod. På salat var der signifikant effekt (ANOVA, $P < 0,01$) af tæthed af *M. hapla* på J2-stadiet på antal rodgaller ved stigende inokulationsmængder fra 0 til 3000 J2 pr. potte. Der kunne ikke bestemmes en sammenhæng mellem inokulationsmængde og antal rodgaller på baggrund af datamaterialet. Ved indsamling af alm. hejrenæb (*Erodium cicutarium*) og hanekro (*Galeopsis* spp.) i marker, hvor der var konstateret forekomst af *M. hapla*, var der rodgaller på mindst én af planteprøverne fra otte ud af ni lokaliteter. Andelen af prøver med rodgaller svingede mellem lokaliteter fra 0 til 88 % for alm. hejrenæb (7 lokaliteter) og 39 til 45 % for hanekro (2 lokaliteter).

For at kunne anvende indikatorplanterne i praksis må der findes en sammenhæng mellem antallet af rodgaller på indikatorplanterne, tætheden af *M. hapla* i jorden og potentiel skade i afgrøden. Desuden skal der findes en passende procedure for prøvetagning, hvor planteprøvernes respons samt tæthed og rummelig distribution af prøverne svarer til den tolererede risiko for angreb af pletter i marken og prisen for prøvetagningen.

Indhold

FORORD	1
INDLEDNING	2
BAGGRUND	3
UDBYTTETAB.....	3
VISUELLE SYMPTOMER	4
MORFOLOGI OG LIVSCYKLUS	5
INFEKTION	6
REPRODUKTION	7
HABITAT	8
VÆRTSPLANTER OG SÆDSKIFTE	8
SKADESTÆRSKLER	9
IDENTIFIKATION	10
FORSKNINGSSPØRGSMÅL OG HYPOTESER	12
FORUNDERSØGELSE	12
MATERIALER OG METODER	14
FORSØG I VÆKSTHUS OG KLIMAKAMMER.....	14
Jord	14
Nematoder	14
Forsøgsopstilling	15
Timingforsøg	15
Effekt af inokulationsmængde.....	17
Vurdering af visuelle symptomer	17
Biomasse	17
VISUELLE SYMPTOMER PÅ UKRUDT I MARKEN	17
STATISTISK ANALYSE	18
RESULTATER	19
TIMINGFORSØGET	19
Plantevækst	21
EFFEKT AF INOKULATIONS MÆNGDE	23
VISUELLE SYMPTOMER PÅ UKRUDT I MARKEN	24

DISKUSSION.....	27
UDVIKLING AF VISUELLE SYMPTOMER	27
Antal rodgaller	27
Rodgallerne's placering.....	28
Potentiale som indikatorplante.....	29
EFFEKT AF STIGENDE INOKULATIONS MÆNGDE	30
Infektionssucces	32
VISUELLE SYMPTOMER PÅ UKRUDT I MARKEN.....	33
RUMMELIG DISTRIBUTION OG PRØVETAGNING	35
KONKLUSION	37
HYPOTese I OG II	37
HYPOTese III	37
HYPOTese IV.....	38
ANBEFALING	38
PERSPEKTIVER OG VIDERE ARBEJDE	39
SAMMENHÆNG MELLEM PLANTERESPONS OG TÆTHED AF <i>M. HAPLA</i>	39
PRØVETAGNING	40
MERE ØKO-GRØNT PÅ MARKEDET.....	40
REFERENCER.....	41

VEDLAGTE BILAG:

BILAG 1: Prøvetagningspriser

BILAG 2: Udbredelseskort

BILAG 3: Vurdering af rodgaller på ukrudt i marken

Forord

En forårsdag i 2015 var jeg med Lars Møller rundt og se på gulerodsproduktioner, som en del af et praktikbesøg hos GartneriRådgivningen A/S. Her snakkede vi om hvilke udfordringer, der er, for videreudvikling og fremtidig investering i økologisk gulerodsproduktion. Svaret var klart, både fra Lars Møller og fra de gulerodsproducenter, jeg siden er blevet introduceret for: Store, uforudsigelige tab pga. nematodangreb er den største barriere for frilandsgartnerier, som gerne vil imødekomme den stigende efterspørgsel efter danskproducerede økologiske gulerødder. Herfra udsprang idéen til dette specialeprojekt, som ikke havde kunnet lade sig gøre uden kontakten til gartnerierne formidlet af Lars Møller og den faglige sparring med min vejleder Mette Vestergård.

Mange mennesker har hjulpet mig undervejs. For det vil jeg gerne sige tak!

til Mette Vestergaard for god og tålmodig vejledning udi nematodernes verden og begrænsningens kunst, for tro på projektet, stor hjælpsomhed og et dejligt grin.

til Lars Møller for rig deling af faglige gulerodserfaringer, hjælp i forbindelse med indsamling af data, rekvirering af frø og generøs gæstfrihed. Desuden til Pernille Kynde, Richard de Visser og resten af de ansatte hos GartneriRådgivningen A/S for hjælpsomhed, sparring og forankring af projektet i verden udenfor universitetet.

til mine yndlings grøntdamer Mar van der List og Hanne Taxbøl Gunnarsen fra Svanholm ØkoGrønt for svar på utallige spørgsmål om alverdens grøntsager og for at have lært mig at bakke en traktor med vogn og køre en radrenser.

til gulerodsavlerne Mogens Hansen, Bjarne Viller Hansen, Engesvang Økologi ApS og DanRoots A/S for at jeg måtte indsamle planteprov på jeres marker.

til Johannes Hallmann, Julius-Kühn Instituttet for rekvirering af nematodkulturen, der er brugt i forsøgene og deling af erfaringer med at opretholde den.

til Søren Christensen for imødekommenhed og et helt særligt tav TØ's på klimakamre.

til Viktor for ekstra hænder, hvor de manglede.

til Marta, Signe, Luna og Bjarke for skarpe kommentarer og nye øjne.

Indledning

Der er stigende efterspørgsel efter danskproducerede økologiske grøntsager. Den kommer fra privatforbrugere, men også fra kommunale køkkener, der skal nå en målsætning om, at en bestemt andel af de købte råvarer skal være økologiske (NaturErhvervstyrelsen 2015). For at tilfredsstille efterspørgslen og undgå problemer med sædskiftesygdomme lejer flere gartnerier nu økologisk jord fra mælkeproducenter (Møller 2016).

Meloidogyne hapla (rodgallenematoden) trænger ind i planterødderne, som den bruger som fødekilde og habitat ved æglægning. Ved infektion danner værtsplanten såkaldte rodgaller, som kan variere i størrelse og antal efter planteart (Karssen & Moens 2006). I flere gartneriafgrøder er *M. hapla* en svært monitorerbar skadevolder, som kan forårsage udbyttetab på op mod 100 % i afgrøder som gulerødder, persillerødder, pastinakker, salat og løg (Hallmann et al. 2007; Duncan 2010; Moens et al. 2011). Der er over 550 registrerede værter for *M. hapla*, dog er ingen af værtsplanterne græsarter (Bongers 1994; Bélair & Benoit 1996; Rich et al. 2009). Den opformeres i høj grad på kløver, uden at det giver anledning til væsentlige udbyttetab (Duncan 2010). Kløver udgør en stor del af sædskiftet hos økologiske mælkeproducenter, og det er ofte dém, gartnerierne har mulighed for at leje jord af (Møller 2016). Typisk kender mælkeproducenter ikke forekomsten af *M. hapla* i deres marker, og gartnerierne kan på den måde få en dyr overraskelse, når de starter dyrkningen på den lejede jord.

For at undgå at etablere en modtagelig grøntsagskultur i marker med forekomst af *M. hapla* udtager nogle gartnerier jordprøver til analyse for *M. hapla* hos virksomheder som HLB og BLGG Agroxpertus. For at give et retvisende billede af skadestrykket skal jordprøverne helst udtages i februar (Duncan 2010), men her er svartiden lang, og det er praktisk talt umuligt at leje andre marker at dyrke på, hvis prøverne viser høje forekomster af *M. hapla*. For at få svar på jordprøven i ordentlig tid inden indgåelse af aftaler om jordleje, vil det være optimalt at kende nematodforekomsten i jorden allerede i august/september (Møller 2016). Her er problemet, at der stadig er planter på marken, så ved udtagning af en jordprøve vil man ikke få et billede af hele populationen, da nogle af nematoderne vil befinde sig i planterødderne, og dermed ikke komme med i analysen (Duncan 2010; Møller 2016). Derfor vil jeg i dette speciale undersøge, om det er muligt at

bruge planter, der udvikler rodgaller ved infektion med *M. hapla*, som indikatorplanter, så gartnerierne har et bedre grundlag at vurdere skadestrykket ud fra.

Baggrund

Udbyttetab

Der er beskrevet 4.100 planteparasitiske nematodarter (Decraemer & Hunt 2013), og på verdensplan er det estimeret, at skader på afgrøder forårsaget af planteparasitiske nematoder står for 8-10 % af det samlede afgrødetab (Nicol et al. 2011). Slægten *Meloidogyne* hører til familien Meloidogynidae i ordenen Tylenchida under klassen Secernentea. I *Meloidogyne* findes 98 beskrevne arter, som er distribueret over hele kloden. De er alle sedentære endoparasitter og har en del af deres livscyklus immobil i roden på værtsplanten (Jones et al. 2013). Globalt set er *M. incognita*, *M. arenaria* og *M. javanica* de arter, der forvolder størst skade i landbruget, men i tempereret klima findes de kun i væksthuse (Karssen & Moens 2006). *M. chitwoodi* og *M. fallax* er begge karantæneorganismer, der også forvolder skade på gulerødder. De forekommer blandt andet i Tyskland og Holland, men der er ingen registrerede forekomster i Danmark (NaturErhvervstyrelsen 2016b; NaturErhvervstyrelsen 2016c). Herhjemme skyldes de største tab i grøntsagsafgrøder *M. hapla*. Desuden forvolder mobile endoparasitter fra slægten *Pratylenchus* spp. og fritlevende nematoder fra slægten *Trichodorus* spp. problemer, som jeg dog ikke vil behandle i denne opgave (Jakobsen & Hansen 2002; Duncan 2010; Møller 2016).

Der bliver i stigende grad rapporteret tilfælde, hvor *M. hapla* forårsager udbyttetab i dansk økologisk gulerodsproduktion, og i nogle tilfælde har hele marker måttet kasseres ved høst pga. kvalitetstab som følge af infektion. Dyrkningsomkostningerne for økologiske gulerødder ligger mellem 57.000 og 102.000 kr. pr. ha. For en mark på 10 ha er der dermed investeret for mellem 570.000 og 1 mio. kr., som potentielt tabes ved en kraftig infektion med *M. hapla*, hvor hele høsten må kasseres (Møller 2016). I et studie af Hallmann et al. (2007) undersøgte forfatterne skadestab i økologiske grøntsagsproduktioner. *M. hapla* blev fundet på 17 % af markerne med økologisk dyrkede grøntsager. I Tyskland estimerer Moens et al. (2011), at *M. hapla* potentielt kan forårsage skadestab på 77 % i gulerødder, 60 % i salat og 44 % i løg. De tre kulturer blev i Danmark dyrket på næsten 4000 ha i 2015, hvoraf 1007 ha var økologiske (tabel 1).

Afgrødefordelingen for det økologiske areal i 2016 er ikke offentliggjort endnu, men det estimeres at ca. halvdelen af gulerodsarealet på i alt 2235 ha i 2016 dyrkes økologisk (Møller 2016).

Tabel 1 Opgørelse af arealanvendelse 2015 på baggrund af bedrifternes indberetning til NaturErhvervsstyrelsen i ha og % af samlede totale og økologiske areal med frilandsgartneri. (NaturErhvervsstyrelsen 2016a). Indberetningerne for økologiarealet 2016 er i skrivende stund ikke offentliggjort

Afgrøde	Totalareal		Økologisk areal	
	ha	%	ha	%
Gulerødder	2061	18.7	737	27.9
Salat	515	4.7	96	3.5
Løg	1409	12.8	174	6.6

Angreb fra *M. hapla* medfører ikke altid en mindre produktion (Bélair 1987; Gugino et al. 2008). I gulerødder og andre rodafgrøder skyldes reduktionen i salgbart udbytte primært, at infektion medfører dannelse af rodgaller og/eller hæmmet og uregelmæssig rodvækst, der gør at grøntsagerne ikke kan leve op til salgskravet om lige, glatte rødder (Bélair 1987; Gugino et al. 2006). I salat er det en kombination af mindre hovedstørrelse og symptomer på næringsstofmangel på bladene, der kan give udbyttereduktionen. Der kan dog være store forskelle i potentiel skade mellem sorter (Seinhorst 1961; Kaur & Mitkowski 2011).

Visuelle symptomer

Visuelle symptomer ved *M. hapla*-infektion afhænger af værtsplanten (Karssen & Moens 2006; Gugino et al. 2008). Ofte vil planten som følge af infektion danne fortykninger på rødderne kaldet rodgaller. På pælerødder kan infektion desuden vise sig i form af hæmning af væksten, så pæleroden bliver kort og stumpet eller forgrenet (figur 1).

Rodgaller dannes typisk 1-3 dage efter at *M. hapla* har penetreret roden. Antallet af rodgaller er afhængigt af, hvor mange rodgallenematoder der penetrerer rodsystemet, og størrelsen af rodgallerne kan

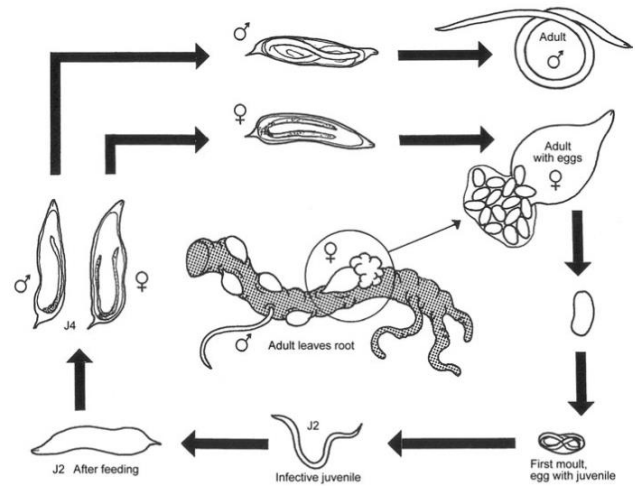


Figur 1 Rodgaller og hæmmet udvikling af pæleroden forårsaget af infektion med *M. hapla* på gulerod.

variere fra under 0,1 mm til 1 cm i diameter afhængigt af plantearten (Karssen & Moens 2006). Bélair (1987) fandt, at andelen af salgare gulrødder i inficerede marker faldt med senere såtidspunkt. I det ene forsøgsår var det primært antallet af delte rødder, der varierede, mens det i det andet forsøgsår var antallet af stumpede rødder, der forårsagede udbyttereduktionen ved det senere såtidspunkt.

Morfologi og livscyklus

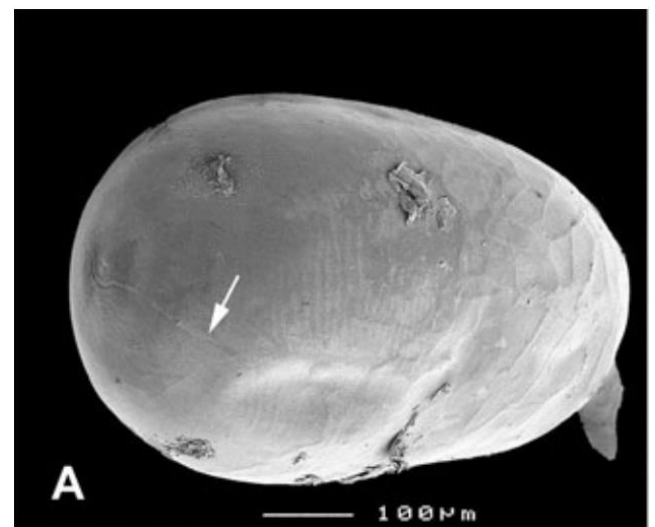
Det $81.5 \mu\text{m} \times 37.7 \mu\text{m}$ store *M. hapla* æg er i udgangspunktet enkelt-cellet. Som det ses af figur 2 udvikler det første juvenilstadie (J1) sig i ægget, hvorfra den infektiøse juvenile (J2-stadiet) klækker og er det første mobile stadie (Trudgill et al. 2005). J2 er vermiform, 0.34 mm lang og med en $9.7 \mu\text{m}$ lang stilet (figur 3) (Bongers 1994), som bruges til at trænge ind i planteroden og til at etablere en kanal, som den optager føde fra gigantcellerne igennem. De to sidste juvenilstadier (J3 og J4) er sedentære, dvs. immobile i roden, flaskeformede og har ikke nogen stilet. Hannerne undergår en fuld metamorfose til voksenstadiet med kutikula af J4 som skal, mens hunnerne vokser i størrelse fra J4 til voksenstadiet og går fra at være flaskeformet til pæreformet (Trudgill et al. 2005; Karssen & Moens 2006). Den voksne hun (figur 4) måler $0.61 \times 0.43 \text{ mm}$ og har en $11 \mu\text{m}$ lang stilet, mens hannen er vermiform, 1.14 mm lang med en $20 \mu\text{m}$ lang stilet (Bongers 1994).



Figur 2 Skematisk overblik over livscyklus for *Meloidogyne*. (Fra Karssen & Moens (2006)).



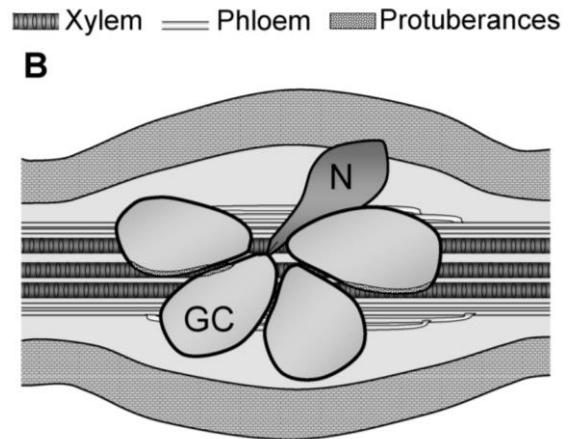
Figur 3 Hoved af *M. hapla* på J2-stadiet.



Figur 4 Elektronmikroskopbillede af *M. hapla* hun. (Fra Karssen & Moens (2006)).

Infektion

M. hapla på J2-stadiet penetrerer typisk det sted på roden, den først møder. Herefter bevæger den sig intercellulært frem til rodspidsen, hvor den vender om, for at komme ind i det vaskulære væv på indersiden af endodermis (Karssen & Moens 2006; Jones et al. 2013). Her omdannes phloem- eller phloemtilknyttede parenchymceller til 2-12 gigantceller (celler den får sin føde fra) tæt ved celledifferentieringsområdet (figur 5). Det vides ikke præcist, hvordan rodgallenematoderne



Figur 5 Schematisk tegning af rodgallenematode (N) og gigantceller (GC), som de er placeret i roden- Fra (Hofmann & Grundler 2007)

etablerer gigantceller, men de udskiller en række proteiner, som man mener har enzymatiske funktioner, og at cellevæksten reguleres derigennem (Hofmann & Grundler 2007). Gigantcellerne er væsentligt større end almindelige phloem- og parenchymceller og har flere cellekerner. De fremkommer ved, at cellerne undergår mitose, men uden at cellen deler sig efter dannelsen af en ny cellekerne. Ved etablering af fødestedet penetrerer nematoden den celle, der bliver til en gigantcelle med stiletten. Herefter etablerer den en kanal, der er direkte forbundet med det endoplasmatiske reticulum i en af gigantcellerne, hvorigennem den dagligt optager et volumen føde, der er omtrent fire gange så stort som gigantcellerne. I de kernerige gigantceller er der ekstra høj produktion af amino- og fedtsyrer, som nematoden optager sammen med sukker, vand og uorganiske molekyler gennem den etablerede kanal. Kanalen fungerer desuden som et filter, der selekterer celleindholdet, inden det optages. Det er uvist, om nematodens funktion som dræn for fotosynteseprodukter, vand og uorganiske forbindelser, i sig selv medfører en større tilførsel til gigantcellerne, eller om der ligger en mere kompleks signalmekanisme bag (Hofmann & Grundler 2007).

Infektion med *Meloidogyne* spp. øger produktionen af plantehormonerne auxin og cytokinin, hvorved cellevækst og -deling stimuleres. Dette er medvirkende til, at cellerne rundt om nematoden og gigantcellerne deler sig, hvilket bliver til den struktur, som kaldes rodgaller (Karssen & Moens 2006). Dannelsen af rodgallerne er dog ikke i sig selv vigtige for at *M. hapla* kan optage føde (Seinhorst 1961).

Reproduktion

Som visse andre *Meloidogyne*-arter kan *M. hapla*-hunnen udvikle levedygtigt afkom uden befrugtning, men reproduktion kan også foregå seksuelt. Der findes populationer, hvor den asekuelle reproduktion foregår ved kloning af hunnens DNA (apomixes, race B). I andre populationer undergår hunnens kønscelle meiose, men den efterfølgende kromosomfordobling sker ved en cellefusion af to af hunnens kønsceller frem for cellefusion med en kønscelle fra en han (automixes, race A) (Karssen & Moens 2006).

Andelen af hanner i populationen varierer med mængden af føde og de miljømæssige forhold. Generelt er andelen af hanner højere under ugunstige forhold. Her kan det også ske, at juvenile hunner omdannes til hanner ved overgangen fra J4- til voksenstadiet (Karssen & Moens 2006).

Modsat andre planteparasitiske nematoder, som fx cystenematoderne, er der for *M. hapla* ikke væsentlig forskel på, hvor mange eller hvor hurtigt æg klækkes i rodeksudater fra værtsplanter i forhold til klækning i rodeksudater fra planter, der ikke er værter eller vand (Inserra et al. 1983). Herimod er temperaturen vigtig for, hvor stor en andel æg der klækkes, og hvor hurtigt det går. Inserra et al. (1983) fandt, at udviklingen fra en-cellet æg til J2 skete over 95-97 dage ved 10 °C (166-170 graddage) eller 21-22 dage ved 20 °C (247-259 graddage), og at 60 % æg klækkede i løbet af 35 dage ved 15 °C, mens <1 % æg klækkede ved 4 °C. Generelt klækkes æg hurtigere, og andelen af klækkede æg er højere over 10 °C end ved lavere temperaturer (Inserra et al. 1983).

Æggene er omsluttet af en gelatinemasse og lægges udenfor hunnen. Hvis æggene ligger inde i roden, forbliver gelatinemassen blød, mens den hærder og kan blive orange eller brunlig, hvis den ligger på overfladen af roden eller i jorden. Hærdningen beskytter til en vis grad æggene mod udtørring. Æg der lægges under gode temperatur- og fugtighedsforhold klækker med det samme, mens æg, der lægges under mere ufavorable forhold (typisk lave temperaturer) er i en dvaletilstand, der først brydes, når temperaturen igen stiger om foråret (Karssen & Moens 2006).

Ved en gennemsnitlig dansk sæson kan der udvikles næsten 3 generationer fra starten af april til slutningen af oktober, når en generation kræver 552 graddage (Trudgill et al. 2005; DMI 2016).

Udviklingsraten (tid fra ét udviklingsstadium til det næste) er afhængig af temperatur, og der sker ingen udvikling under 8,25 °C. Over denne temperatur tager det 552-555 graddage for *M. hapla* at fuldende en livscyklus. Dog kan graddagebehovet være højere ved temperaturer på eller under 17 °C (Trudgill et al. 2005). Foruden temperatur kan mængden og kvaliteten af tilgængelig føde have indflydelse på generationstiden (Lahtinen et al. 1988; Trudgill et al. 2005).

På en god værtsplante, som fx tomat, kan *M. hapla* øge populationen med over en faktor 1000 i løbet af en sæson. For gulerod er reproduktionen noget lavere. Bélair & Benoit (1996) fandt at $\text{slutpopulation} = \text{startpopulation} \times 2,92$ for én generation. Hvis der er tre generationer på én vækstsæson, kan populationen således øges med en faktor 36 på gulerod.

Habitat

Nematoder er grundlæggende vandlevende organismer, og jordens vandindhold er på den måde afgørende for *M. haplas* bevægelighed og overlevelse på de stadier, hvor den ikke befinder sig i værtsplanten (Decraemer & Hunt 2013). For at rodgallenematoder har maksimal aktivitet i jorden, skal vandindholdet være 40-60 % af markkapacitet (Karssen & Moens 2006). Ved lavt vandindhold er aktiviteten hæmmet af luftfyldte porer, som nematoden ikke kan krydse. Ved højt vandindhold hæmmes ilttilgængeligheden for organismene, fordi luftskiftet bliver mindre (Wong & Mai 1973). Selv ved optimale temperaturer bevæger *M. hapla* sig kun i afstande af cm (Pinkerton et al. 1987), og de findes derfor typisk i pletter i marken (Bélair & Boivin 1988; Schomaker & Been 2006; Duncan 2010).

Værtsplanter og sædskifte

M. hapla inficerer og opformerer sig i mere end 550 plantearter (Bongers 1994; Bélair & Benoit 1996; Rich et al. 2009), hvoraf mindst 26 arter er af økonomisk betydning, herunder kartofler, sukkerroer, løg, ærter, gulerødder, salat, bønner, jordbær, skorzonerrødder, raps, kløver og vikke (Vrain 1982; Viaene & Abawi 1996; LaMondia 1999; Gugino et al. 2008; Duncan 2010), foruden en række pryddplanter, som jeg ikke behandler i dette speciale (LaMondia 1997). Risikoen for skade er størst i løg, ærter, gulerødder, skorzonerrødder, jordbær og cikorie (Duncan 2010). Fælles for værtsplanterne er, at arter af græsfamilien (*Poaceae*) glimrer ved deres fravær, hvorfor

korn i renbestand effektivt kan nedbringe antal *M. hapla* (Mojtahedi et al. 1988; Bélair & Parent 1996; LaMondia 1999; Duncan 2010). Desuden kan nogle tagetes-arter (*Tagetes* spp.) virke sanerende, mens andre vedligeholder eller opformerer populationen (Hooks et al. 2010).

Der er forskel på, i hvor høj grad værtsplanterne faciliterer opformering af rodgallenematoder (Seinhorst 1961; Bélair & Benoit 1996). I et studie af 32 ukrudtsarters værtsegenskaber for *M. hapla* fandt Bélair & Benoit (1996) opformeringsfaktorer, P_f/P_i (*M. hapla* ved slutningen af væksten/*M. hapla* ved start af væksten) mellem 0,02 og 13,71. Der er ikke nødvendigvis sammenhæng mellem opformeringsgraden og hvor mange rodgaller, der dannes på planten. For eksempel var P_f/P_i på *Stellaria media* (alm. fuglegræs) 2,85 og den udviklede fire rodgaller i gennemsnit og *Polygonum scabrum* (pileurt) havde $P_f/P_i = 3,08$, mens den gennemsnitligt udviklede 133 rodgaller (Bélair & Benoit 1996).

Hvis *M. hapla* først er til stede i marken, må man således jævnligt dyrke en ikke-værtsplante for at holde bestanden nede. Artssammensætningen og mængden af ukrudt har dog stor betydning for, hvor effektiv en kontrolstrategi sædskiftet er (Bélair & Benoit 1996). *M. hapla*s evne til at opformere sig på mange almindelige ukrudtsarter vanskeliggør kontrollen i økologisk korn, som typisk ikke kan holdes rent for ukrudt (Hallmann et al. 2007; Moens et al. 2011). Ligeledes kan grøn brak til tider opformere bestanden mere end modtagelige afgrøder som løg og gulerødder, fordi ukrudtsbekæmpelsen i afgrøden trods alt mindsker bestanden af værtsplanter (Bélair & Parent 1996).

Skadestærskler

Ved fastsættelse af en skadestærskel må man altid tage højde for forventet udbytte, udgifterne til etablering, høst og skadesbekæmpelse i afgrøden samt den forventede salgspris på udbyttet. Skadestærsklen er det skadestryk, hvor den salgbare del af afgrøden giver en indtægt, der dækker udgifterne (Pedigo 2016). Regnestykket er naturligvis behæftet med en del usikkerhed, da hverken salgspris, udbytte eller vedligeholdelsesudgifter (til fx ukrudts- eller skadedyrsbekæmpelse og vanding) kendes præcist på forhånd.

Hverken i konventionelle eller økologiske dyrkningssystemer findes bekæmpelsesmidler mod *M. hapla*, der kan bruges, når først skade er konstateret i en modtagelig afgrøde. Derfor kan man ikke løbende tage beslutninger om bekæmpelsesstrategi, men må danne sig et billede af skadestrykket inden afgrøden etableres.

For rodgallenematoder gælder det endvidere, at den skade, som en bestemt population forårsager, er afhængig af jordtype samt temperatur- og vandforhold i løbet af vækstsæsonen (Wong & Mai 1973; Griffin & Jensen 1997; Gugino et al. 2006). For eksempel fandt Gugino et al. (2006), at skadestærsklen lå mellem 15 og 190 *M. hapla* pr. 100 cm³ jord afhængigt af sæson og jordtype.

BLGG Agroxpertus anbefaler en skadestærskel for *M. hapla* på 100 individer pr. 100 cm³ jord, når der udtages én jordprøve pr. 1-2 ha, men så intensiv prøvetagning foretages sjældent i praksis, da prisen kommer op omkring 10.000-15.000 kr. pr. ha. Konsulenter indenfor gartnerierhvervet i Danmark og Tyskland får typisk analyseret 1 prøve pr. 10 ha, som er sammensat af flere delprøver fra arealet. Ved denne prøvetagningspraksis opereres i Danmark og Tyskland med en skadestærskel på 20-50 *M. hapla* pr. 100 cm³ jord (Møller 2016; Buck 2016). Udregning af priser på de forskellige prøvetagningsmetoder kan ses af Bilag 1.

Identifikation

Morfologisk identifikation af rodgallenematoder til artsniveau sker på baggrund af længden af det hanlige kønsorgan (spikulum), morfologien af det hunlige kønsorgan (vulva) og længden af stiletten (Bongers 1994). Identifikationen kræver særlig ekspertise, da arterne ligner hinanden meget, og der – specielt for *M. hapla* – er relativ stor variation i morfologien (Karssen & Moens 2006).

Analysefirmaer, som fx BLGG Agroxpertus, foretager både morfologisk identifikation under mikroskop og DNA-analyser på jordprøver (Karssen & Moens 2006; Møller 2016). Jordprøverne foretages ved først at ekstrahere æg, juvenile og/eller voksne fra jorden, hvorefter der laves en PCR-analyse (Karssen & Moens 2006). Sapkota et al. (2016) har desuden udviklet en metode, der gør det muligt at analysere mængden af *M. hapla* direkte på jord uden først at skulle ekstrahere individerne. Ulempen ved disse metoder er, at nematoderne flytter sig vertikalt i jorden afhængigt af årstiden, og at de veksler i mellem

at være i plantemateriale og i jordmatricen, alt efter hvilket vækststadie de er på (Bélair 1998; Karssen & Moens 2006). Begge dele vanskeliggør præcis estimering af forekomsten i jorden, og de mest præcise resultater opnås ved prøvetagning i februar (Duncan 2010), hvilket er for sent i forhold til hvornår der lægges markplaner.

M. hapla forårsager i mange tilfælde dannelse af rodgaller på værtsplanten (Bélair 1987; Bélair & Benoit 1996; Karssen & Moens 2006; Gugino et al. 2008; Duncan 2010 m.fl.). Rodgallerne på *M. hapla* adskiller sig morfologisk fra rodgallerne af andre *Meloidogyne*-arter. Infektion med *M. fallax* giver aflange fortykninger på siderødder, og overfladen af rodgaller fra *M. chitwoodi* er nubret, blomkålsagtig (figur 6). Rodgaller forårsaget af *M. hapla* er derimod glatte i overfladen, runde eller ovale og har ofte siderødder gående ud fra dem, hvorfor de også kaldes "spiders" (Duncan 2010; Hallmann 2016)



Figur 6 Rodgaller forårsaget af *M. fallax* (tv (fra Duncan (2010)) *M. chitwoodi* (m) og *M. hapla* (th) på gulerod

Gugino et al. (2008) udnyttede, at rodgallerne, der udvikles på salat, er store og let synlige med det blotte øje, og viste at man kan bruge de visuelle symptomer på salat til at estimere mængden af *M. hapla* i jorden.

Der er ikke rapporteret forekomst af andre *Meloidogyne*-arter i Danmark, hvilket yderligere forsimples brugen af værtsplanter til identifikation af *M. hapla*. Symptomerne kan praktisk talt ikke forveksles, med mindre rodgallerne er for små eller rodsystemet er i for dårlig stand til, at man kan se dem med det blotte øje.

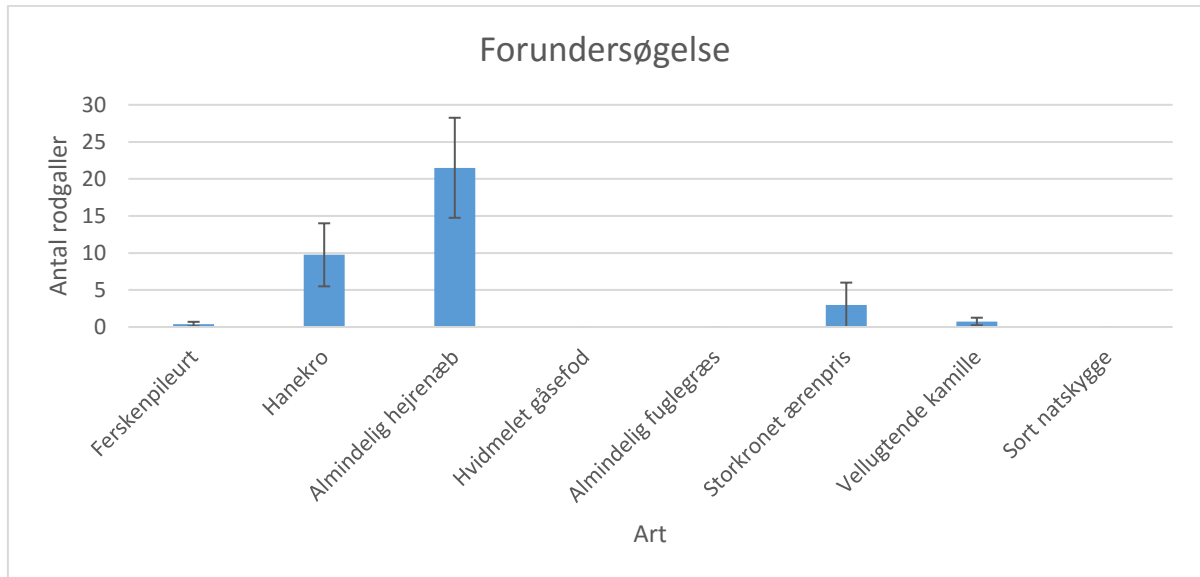
Forskningsspørgsmål og hypoteser

Jeg undersøger i dette projekt, om rodgallenematoden *M. hapla* laver visuelle symptomer på almindeligt forekommende ukrudtsplanter og på salat. Formålet er at finde ud af, om disse potentielt kan anvendes som indikatorplanter til at bestemme skadestrykket i marken. Som udgangspunkt skal symptomerne på en indikatorplante afspejle, hvordan afgrødeplanten ville udvikle sig, hvis den voksede under de samme betingelser. For at en plante er interessant som indikator, skal følgende kriterier derfor være opfyldt:

- 1) Planten skal findes i det miljø, hvor skadestrykket ønskes estimeret, eller det skal være let at udplante den, uden at det har konsekvenser for den øvrige brug af marken.
- 2) Det skal være muligt at udtage plantepróven, så rodnettet bevares så intakt, at det kan undersøges for symptomer.
- 3) Symptomerne skal være lette at erkende og genkende, og planten skal udvikle symptomer uafhængigt af hvilken vækstfase, den inficeres i.
- 4) Der skal være sammenhæng mellem symptomerne på indikatorplanten, tætheden af *M. hapla* i jorden og potentiel skade på en modtagelig afgrøde, der vokser under samme betingelser.

Forundersøgelse

I juli 2015 indsamlede jeg ukrudtsprøver af 9 forskellige arter fra fire jyske lokaliteter, hvor der var konstateret forekomst af *M. hapla* for at se, om nogle af dem havde synlige rodgaller. Det drejede sig om ferskenpileurt (*Persicaria maculosa*), hvidmelet gåsefod (*Chenopodium album*), alm. fuglegræs (*Stellaria media*), storkronet ærenpris (*Veronica persica*), hanekro (*Galeopsis* spp.), sort natskygge (*Solanum nigrum*), storkenæb (*Geranium* spp.), alm. hejrenæb (*Erodium cicutarium*) og vellugtende kamille (*Matricaria recutita*). Arterne er almindeligt forekommende i grøntsagssædskifter. Desuden har andre fundet rodgaller fra *M. hapla* på nogle af arterne eller på nære slægtninge til dem (Rich et al. 2009). Minimum 50 % af prøverne af alm. hejrenæb (én lokalitet: Bording (GPS-koordinater: 56.274697, 9.166305)) og hanekro (to lokaliteter: Sønder Felding (GPS-koordinater: 55.954790, 8.852559), Faarup (GPS-koordinater: 56.535050, 9.821286)) havde rodgaller, og gennemsnitligt havde de flere rodgaller end de andre arter (Figur 7). Samlet set fandt jeg rodgaller på 56 % (10 ud af 18) prøver af hanekro og alm. hejrenæb, hvilket var væsentligt flere, end for de 7 andre arter.



Figur 7 Antal rodgaller på ukrudt indsamlet i juli 2015. n=5-14. Fejllinjer angiver middelværdi $\pm$ SE.

På baggrund heraf, og fordi de er almindeligt forekommende som ukrudt på agerjord (udbredelseskort findes i bilag 2) (Mossberg & Stenberg 2003; Hartvig 2015), besluttede jeg at arbejde videre med hanekro og alm. hejrenæb som potentielle indikatorplanter for forekomst af *M. hapla*. Jeg ville gerne undersøge, om symptomerne var afhængige af, hvornår i plantevæksten infektionen fandt sted, og om jeg kunne genfinde symptomerne i andre marker, hvor forekomst af *M. hapla* var konstateret. Jeg inkluderede også salat i undersøgelserne, da resultater fra studier i USA har vist, at den udvikler leterkendelige rodgaller (Viaene & Abawi 1996; Gugino et al. 2008). Desuden er den hurtigtvoksende, og frø og udplantningsplanter er lettilgængelige.

For at finde ud af, om planterne kunne fungere som gode indikatorplanter, opstillede jeg en række forsøg, hvor jeg søgte at teste følgende hypoteser:

- I. Der dannes rodgaller på salat, alm. hejrenæb og alm. hanekro ved infektion med J2 *M. hapla* uafhængigt af, hvornår i væksten de inficeres.
- II. Rodgallernes placering på gulerod, salat, alm. hejrenæb og alm. hanekro er afhængig af, hvornår i væksten de inficeres.
- III. Dannelsen af rodgaller på salat er afhængig af, hvor mange J2 *M. hapla* der er til stede i jorden.
- IV. Der dannes rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro, der er naturligt fremspiret i marker, hvor *M. hapla* forekommer.

Materialer og metoder

For at teste hypoteserne, opsatte jeg to forsøg og indsamlede planteprøver fra *M. hapla*-inficerede marker. I det ene forsøg – *timingforsøget* – undersøgte jeg, om udvikling af rodgaller på salat, alm. hejrenæb og alm. hanekro adskilte sig fra udvikling af rodgaller på gulerod ved tre forskellige inokulationstidspunkter (hypotese I og II). I det andet forsøg – *effekt af inokulationsmængde* – undersøgte jeg, om antallet af rodgaller på salat er afhængigt af inokulationsmængden (hypotese III). *Timingforsøget* foregik i klimakammer og *effekt af inokulationsmængde* foregik i væksthushus.

Endvidere har jeg undersøgt *visuelle symptomer på ukrudt i marken* ved at indsamle hanekro og alm. hejrenæb fra marker, jeg vidste, var inficeret med *M. hapla*, og undersøge dem for forekomst af rodgaller (hypotese IV). Da det praktisk talt er umuligt at skelne forskellige arter af hanekro inden blomstring, arbejder jeg med symptomer på hanekro-slægten i indsamlingen af markdata.

Forsøg i væksthushus og klimakammer

Jord

Jorden til *timingforsøget* og *effekt af inokulationsmængde* var en grov sandjord (JB1) med 2.7 % organisk materiale fra pløjelaget på Læstenvej 2, 8990 Fårup (GPS-koordinater: 56.534112, 9.820821), som blev gravet op 8. februar 2016. Marken var økologisk certificeret. Forekomst af *M. hapla* blev konstateret i gulerødder i 2013, hvor andelen af angrebne gulerødder var tæt på 100 %. Der var vinterrug i marken i sæsonen 2015 (Møller 2016).

Jorden blev homogeniseret ved at passere den gennem en 5 mm sigte, hvor sten og organisk materiale større end 5 mm blev frasorteret. For at sikre, at jorden var fri for *M. hapla* og andre plantepatogene nematoder inden forsøgsstart, blev den autoklaveret ved 121 grader i 21 minutter og opbevaret indendørs ved 20 °C indtil forsøgsstart.

Nematoder

De rodgallenematoder, jeg anvendte i forsøgene, var to forskellige partier af Münster-populationen af *M. hapla* på J2-stadiet, begge rekvireret fra Julius Kühn-Institutet – Nationalt Afgrødeforskningscenter, Institut for Epidemiologi og Patogendiagnostik, Tyskland. Til *effekt af inokulationsmængde* og inokulering af alm. hanekro til *timingforsøget*

anvendte jeg nematoderne umiddelbart efter, at jeg havde modtaget dem. Til inokulering af gulerødder og salat i *timingforsøget* opformerede jeg nematod-kulturen inden forsøgsstart ved at inokulere nematoderne på 2 uger gamle (2 løvblade synlige) tomatplanter (*Solanum lycopersicum*) af sorten "Alicante" dyrket i klimakammer ved 23-25 grader, 18 timers lys og 6 timers mørke. 8 uger efter inokulering høstede jeg æg fra rødderne ved at vaske dem for jord, blende dem i 0,25 % NaClO og opsamle æggene på en 20 µm sigte, som beskrevet af Hussy & Barker (1973). Herefter lagde jeg æggene til klækning på et dobbelt papirfilter støttet af et plastiknet nedsunket i vand i en skål. Efter klækning vil en stor andel af J2-larverne bevæge sig gennem filterpapiret og synke ned på bunden af skålen. De nyklækkede J2 høstede jeg løbende fra vandet over en periode på 7 dage og overførte dem til et 50 mL centrifugerør, som jeg opbevarede i køleskab ved 5°C. Dagen inden inokulering blandede jeg alle J2 *M. hapla* i en 500 mL flaske på magnetomrører i 10 min. For at bestemme nematodtætheden (J2 *M. hapla* pr. mL) udtog jeg fem prøver á 0,5 mL, mens *M. hapla* suspensionen var under omrøring, talte hvor mange J2, der var i prøven under stereomikroskop og bestemte tætheden ved at tage gennemsnittet af antal individer i de fem prøver. Inden hver inokulation bestemte jeg igen nematodtætheden ved samme metode og justerede inokulationsvolumen herefter.

Forsøgsopstilling

Timingforsøg

Jeg ønskede at undersøge de visuelle symptomer på gulerod, salat, alm. hanekro og alm. hejrenæb, når de blev inokuleret med samme mængde *M. hapla* på tre forskellige tidspunkter i væksten. Det viste sig at være svært at få frø af alm. hanekro og alm. hejrenæb til at spire, og jeg havde en begrænset mængde frø. Derfor valgte jeg at så alle frøene på én gang som beskrevet nedenfor og efter fremspiring inddele planterne, så det passede med, at de havde omtrent samme alder (tid efter fremspiring) ved inokulering som salat- og gulerodsplanterne i tre behandlinger.

Gulerod og salat

Jeg spirede gulerodsfrø (*Daucus carotae*) af sorten "Nairobi" samt mini-romaine-salatfrø (*Lactuca sativa* var. *Longifolia*) af sorten "Xaroma" på fugtigt trækpapir ved 10-12°C i hhv. 10 dage (gulerod) og 4 dage (salat).

I 0,6 L plastikpotter beklædt med en frysepose på indersiden fyldt med 700 g autoklaveret, sigtet jord opvandet til 60 % af markkapacitet såede jeg 1 spiret frø af enten gulerod eller salat pr. potte. Ved inokulation lavede jeg fem 0,5 cm dybe huller i jorden i hver potte, hvori jeg injicerede 3000 *M. hapla* juvenile med en 5 mL plastik sprøjte 3 (behandling A), 17 (behandling B) eller 30 (behandling C) dage efter såning. Potterne stod i vækstkammer i 14 timers lys ved 15°C og 10 timers mørke ved 5°C. Lysintensiteten (fotonfluxen) var 350 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. 56 dage efter inokulering af behandling A stoppede jeg forsøget og registrerede biomasse og visuelle symptomer som beskrevet nedenfor. Der var seks replikater af gulerod for alle tre behandlinger og salat behandling A og 5 replikater af salat behandling B og C.

Alm. hanekro og alm. hejrenæb

D. 27. oktober 2015 indsamlede jeg alm. hanekro (*Galeopsis tetrahit*) på frøstadiet fra en økologisk dyrket mark ved Skibby (Hornsherred). Planterne tørrede jeg ved 18-22°C i 4 uger, hvorefter jeg rensede frøene fra. Herefter opbevarede jeg dem udendørs i en vandtæt beholder fra november 2015 til februar 2016 for at bryde frøhvilen (Karlsson et al. 2006).

Frø af alm. hejrenæb er rekvireret fra Stephen Mifsud, kandidat i biodiversitet og plantetaksonomi (Den Royale Botaniske Have i Edinburgh) via maltawildplants.com.

Til forsøget med alm. hanekro og alm. hejrenæb såede jeg 10 frø pr. potte i fugtig jord som forinden var homogeniseret og autoklaveret som beskrevet ovenfor. Herefter vandede jeg potterne til 60 % af markkapacitet og satte dem i vækstkammer under samme lys- og temperaturforhold som for salat og gulerod til alm. hanekro var spiret i 16 af potterne. Alm. hejrenæb spirede kun i en enkelt potte, hvorfor jeg måtte opgive at have den med i denne del af projektet. Potterne med alm. hanekro tyndede jeg til en plante pr. potte dagen inden inokulering, og inddelte dem i tre behandlinger efter planternes vækststadiet: A) Ingen færdigudviklede bladsæt (n=7, hvoraf hanekro i én potte spirede dagen efter inokulering), B) ét færdigudviklet bladsæt eller mere, men ingen sideskud (n=5) og C) første sideskud synlige (n=5). Planterne inokulerede jeg med 3000 *M. hapla* på J2-stadiet som beskrevet ovenfor, hvorefter jeg satte dem tilbage i klimakammeret. 28 dage efter inokulering, stoppede jeg forsøget (så tiden fra inokulation til høst her var lige så lang som behandling C for gulerod og salat) og registrerede biomasse og visuelle symptomer som beskrevet nedenfor.

Effekt af inokulationsmængde

For at imitere infektion af udplantningsplanter af salat fra en *M. hapla* population i jorden foregik inokulationen anderledes end i *timingforsøget*. Jeg forspirede salatfrø af sorten "Xaroma" som beskrevet for *timingforsøget*, hvorefter jeg såede dem i sphagnum i 4×4 cm spirebakker. Forinden steriliserede jeg sphagnummen i autoklave ved 121 °C i 20 min. Salaten blev sat til fremspiring i væksthuse (18-35 °C) i naturligt lys (Danmark, 12. april 2016). Til inokulering afvejede jeg 775 g homogeniseret, autoklaveret jord i en ren spand. Heri tilsatte jeg 0, 100, 200, 300, 600 eller 3000 *M. hapla* juvenile i vandig opløsning (100 individer mL⁻¹), samt vand så der blev tilsat i alt 180 mL væske til hver portion jord. Suspensionen blandede jeg med jorden, inden jeg fyldte den i en 0.6 L plasticpote beklædt indvendigt med en frysepose. I midten af hver potte lavede jeg en fordybning, hvori jeg plantede den to uger gamle salatplante. Potterne blev sat i væksthuse, hvor jeg vandede dem dagligt med postevand til 60 % af markkapacitet. Seks uger efter inokulering stoppede jeg forsøget og registrerede biomasse og visuelle symptomer som beskrevet nedenfor.

Vurdering af visuelle symptomer

Til bestemmelse af visuelle symptomer delte jeg underjordiske fra overjordiske plantedele, hvorefter jeg vaskede rødderne fri for jord under rindende vand på en 2 mm sigte. Jeg spredte rodsystemet ved hjælp af rindende vand, og lagde det på vandsugende papir. Herefter talte jeg antal rodgaller, der sad direkte på eller mindre end 5 mm fra primærroden (primærrodgaller) og på siderødderne (sekundærrodgaller).

Biomasse

Efter vurdering af visuelle symptomer på rødderne tørrede jeg over- og underjordiske plantedele separat ved 110 °C i 24 timer, hvorefter jeg vejede dem.

Visuelle symptomer på ukrudt i marken

I perioden fra 19. maj til 23. juni 2016 gravede Lars Møller (GartneriRådgivningen A/S) og jeg 15-20 planter af alm. hejrenæb og/eller hanekro op fra marker inficeret med *M. hapla*. Inficeringen var konstateret inden for de sidste tre år enten ved analyse af jordprøver fra marken foretaget af BLGG AgroXpertus eller ved visuel konstatering af angreb med skade til følge på gulerødder, pastinakker eller persillerødder. For at minimere risikoen for, at *M. hapla*-populationen var kraftigt reduceret siden sidste

konstatering, var det et kriterie for marken, at der ikke havde været anvendt hverken bekæmpelsesmidler mod nematoder (kemiske eller biologiske) eller kemiske bekæmpelsesmidler mod ukrudt i græs-, korn eller majsafgrøder og at arealet ikke måtte have ligget som sort brak.

For hver plante vaskede vi rodsystemet i en bakke med vand, spredte rødderne ud på et ensfarvet underlag og noterede antal rodgaller på hhv. primær- og sekundærrødder, som beskrevet i ”vurdering af visuelle symptomer” ovenfor. For alm. hejrenæb konstaterede vi, at hos planter, der var spiret frem ved etablering af marken i efteråret, var størstedelen af rodsystemet så dybt nede i jorden, at det var praktisk umuligt at få tilstrækkeligt rodmateriale med op. Derfor er kun alm. hejrenæb fremspiret om foråret medtaget i datamaterialet.

Lars Møller (GartneriRådgivningen A/S) har foretaget prøvetagningen på baggrund af protokollen i Bilag 3.

Statistisk analyse

Data fra *timingforsøget* er analyseret for effekt af inokulationstidspunkt og planteart ved hjælp af tosidet variansanalyse (ANOVA). *Effekt af inokulationsmængde* på antal rodgaller er analyseret ved hjælp af ensidet variansanalyse (ANOVA), hvor inokulationsmængden er behandlet som kvantitativ variabel. Herefter har jeg for data fra begge forsøg analyseret for forskel mellem behandlinger ved parvis sammenligning med Tukey’s test. Analyserne er foretaget i RStudio. Markdata er analyseret med Mixed-Effects Model i SAS System, hvor lokaliteten er behandlet som tilfældig effekt, mens arten (hanekro eller alm. hejrenæb) samt om arealet tidligere havde været dyrket med gulerødder, pastinakker eller persillerødder, er behandlet som fikserede effekter.

I *effekt af inokulationsmængde* lavede jeg lineær regression af antal rodgaller som funktion af antal inokulerede *M. hapla* i SigmaPlot.

Resultater

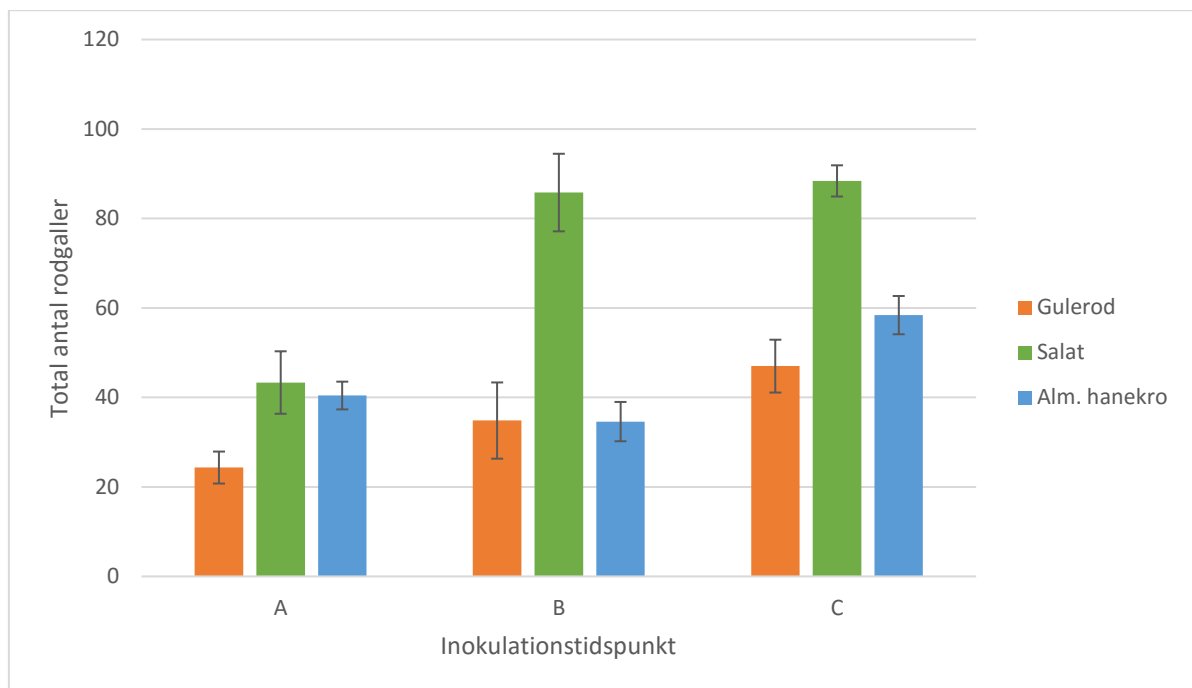
Timingforsøget

I *timingforsøget* undersøgte jeg, hvor mange rodgaller, der blev dannet på gulerod, salat og hanekro ved tre forskellige inokulationstider, og om placeringen af rodgallerne var forskellig mellem arter og behandlinger. Som det ses af tabel 2 var antallet af primærrodgaller højere ved behandling A end ved behandling B og C for alle arter, mens behandling B og C ikke var forskellige fra hinanden (ANOVA, $P < 0,001$; Tukey's test, $P < 0,001$). På alm. hanekro fandt jeg ingen primærrodgaller i behandling B og C. Der var et højere antal rodgaller ved de sene inokulationstidspunkter i forhold til det første på salat og gulerod, og der var forskel på arterne, i hvor mange sekundærrodgaller de havde (ANOVA, $P < 0,001$, Tukey's test, $P < 0,001$). Rodgalletætheden (rodgaller/rodbiomasse) var højest ved det tidlige inokulationstidspunkt. Dette var dog ikke signifikant (ANOVA, $P = 0,3992$), hvilket afspejles i den højre standardafvigelse for alle arter, især ved det tidlige inokulationstidspunkt. For salat i behandling A var rodgalletætheden ekstremt høj, hvilket skyldes, at rodsystemerne generelt var meget små i denne behandling (ca. $\frac{1}{4}$ af vægten af rodsystemerne fra salat i behandling B og C, dog var én gentagelse kun 0,0002 g) mens total rodgaller var halvt så stort som i behandling B og C.

Tabel 2 Behandling angiver for gulerod og salat inokulation med 3000 *M. hapla* (J2) ved 0 (A), 14 (B) eller 28 (C) dage efter fremspiring. For alm. hanekro er planterne inokuleret med *M. hapla* ved vækststadiet inddelt efter: kimblade til 1. sæt løvblade (A), mere end 1. sæt løvblade, uden sideskud (B) eller med sideskud (C). Primær rodgaller er antal rodgaller på eller indenfor 5 mm fra primærroden. Sekundær rodgaller er rodgaller på siderødder, mere end 5 mm fra primærroden. Rodgaller/rodbiomasse er summen af primær og sekundærrodgaller pr. g tørvægt rod. n=5-7. Middelværdi $\pm$ SE.

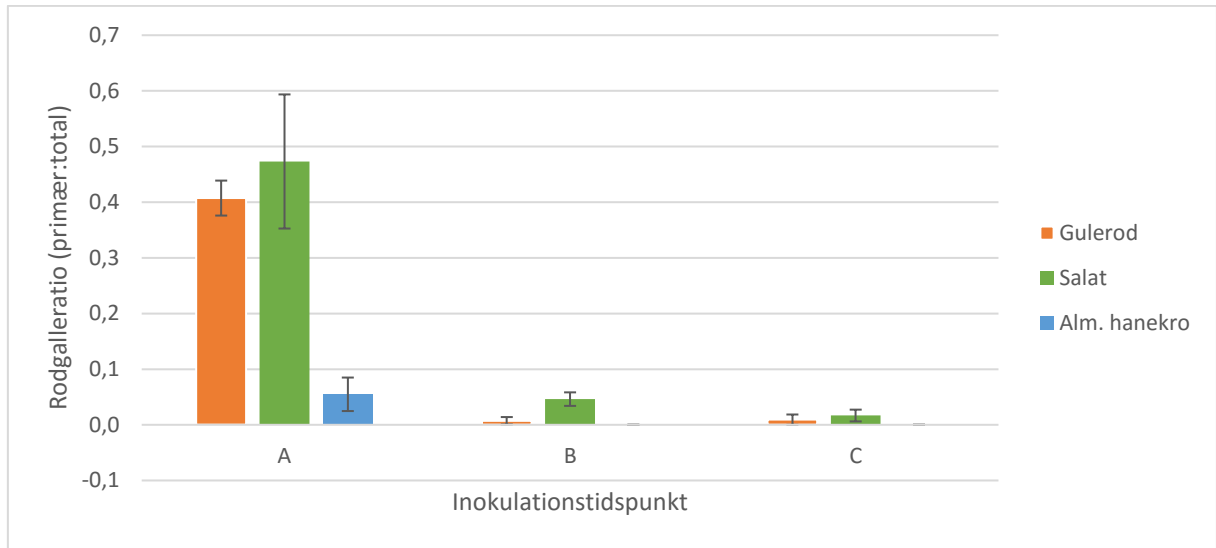
Art	Behandling	Primær-rodgaller	Sekundær-rodgaller	Rodgalletæthed Rodgaller/g rodbiomasse
Gulerod	A	9,7 $\pm$ 1,33	14,7 $\pm$ 2,8	602 $\pm$ 209
	B	0,33 $\pm$ 0,33	34,5 $\pm$ 8,4	54 $\pm$ 23
	C	0,33 $\pm$ 0,33	46,7 $\pm$ 6,0	69 $\pm$ 11
Salat	A	14,7 $\pm$ 1,73	28,7 $\pm$ 6,7	11789 $\pm$ 10628
	B	3,40 $\pm$ 0,75	82,4 $\pm$ 9,1	45 $\pm$ 5,4
	C	1,40 $\pm$ 1,40	87,0 $\pm$ 3,5	46 $\pm$ 2,0
Alm. hanekro	A	2,14 $\pm$ 1,16	38,3 $\pm$ 3,4	40 $\pm$ 17
	B	0 $\pm$ 0	34,6 $\pm$ 4,4	12 $\pm$ 4,8
	C	0 $\pm$ 0	58,4 $\pm$ 4,3	9 $\pm$ 1,3

Overordnet varierede antallet af rodgaller mellem arter og inokulationstidspunkter, og der var en vekselvirkning mellem de to parametre (ANOVA, $P < 0,01$). Både alm. hanekro og salat lavede lige så mange eller flere rodgaller (total) som gulerod ved alle inokulationstidspunkter (figur 9). I gennemsnit over alle behandlinger havde alm. hanekro 44 ($\pm 3,3$) rodgaller, hvilket ikke var forskelligt fra gennemsnittet for gulerod på 35 ($\pm 4,4$) (Tukey's test, $P > 0,05$), men i begge tilfælde lavere end salat, der gennemsnitligt havde 71 ($\pm 6,8$) rodgaller (Tukey's test, $P < 0,001$).



Figur 9 Total antal rodgaller på gulerod, salat og alm. hanekro ved med inokulation med *M. hapla* ved tiderne A (0 dage efter fremspiring for gulerod og salat, < et blivende bladsæt for hanekro), B (14 dage efter fremspiring for gulerod og salat, mere end ét blivende bladsæt, men ingen sideskud for hanekro) og C (28 dage efter fremspiring for gulerod og salat, efter sideskudsdannelse for hanekro). $n=5-7$. Fejllinjer markerer middelværdier $\pm$ SE.

Ved behandling A var der ikke signifikant forskel på det totale antal rodgaller mellem de tre plantearter, mens antal rodgaller for salat i behandling B og C var højere end for alm. hanekro og gulerod (Tukey's test, $P < 0,01$) (figur 9).



Figur 10 Antal rodgaller på primærrødder i forhold til total antal rodgaller på gulerod, salat og alm. hanekro ved inokulationstiderne A (0 dage efter fremspiring for gulerod og salat, < et blivende bladsæt for alm. hanekro), B (14 dage efter fremspiring for gulerod og salat, ét blivende bladsæt eller mere, men ingen sideskud for alm. hanekro) og C (28 dage efter fremspiring for gulerod og salat, efter sideskudsdannelse for alm. hanekro). $n=5-7$. Fejlinjer markerer middelværdier $\pm$ SE.

Det meget lave antal rodgaller på primærrødder på de to sene inokulationstidspunkter (tabel 2), afspejles i den lave rodgalleratio (ratio mellem antal rodgaller på primærrødder og det total antal rodgaller, figur 10). For det tidlige inokulationstidspunkt var rodgalleratioen 0,42 for salat og 0,40 for gulerod, hvilket var signifikant højere end hanekro, der havde en rodgalleratio på 0,055 ved inokulationstidspunkt A (ANOVA, $P < 0,001$; Tukey's test, $P < 0,001$). For gulerod og salat var rodgalleratioen ved inokulationstidspunkt A statistisk forskellig fra de to senere inokulationstidspunkter, hvilket ikke var tilfældet for hanekro (Tukey's test, $P < 0,001$). Rodgalleratioen for inokulationstiderne B og C var ikke signifikant forskellige fra hinanden (Tukey's test, $P = 0,98$).

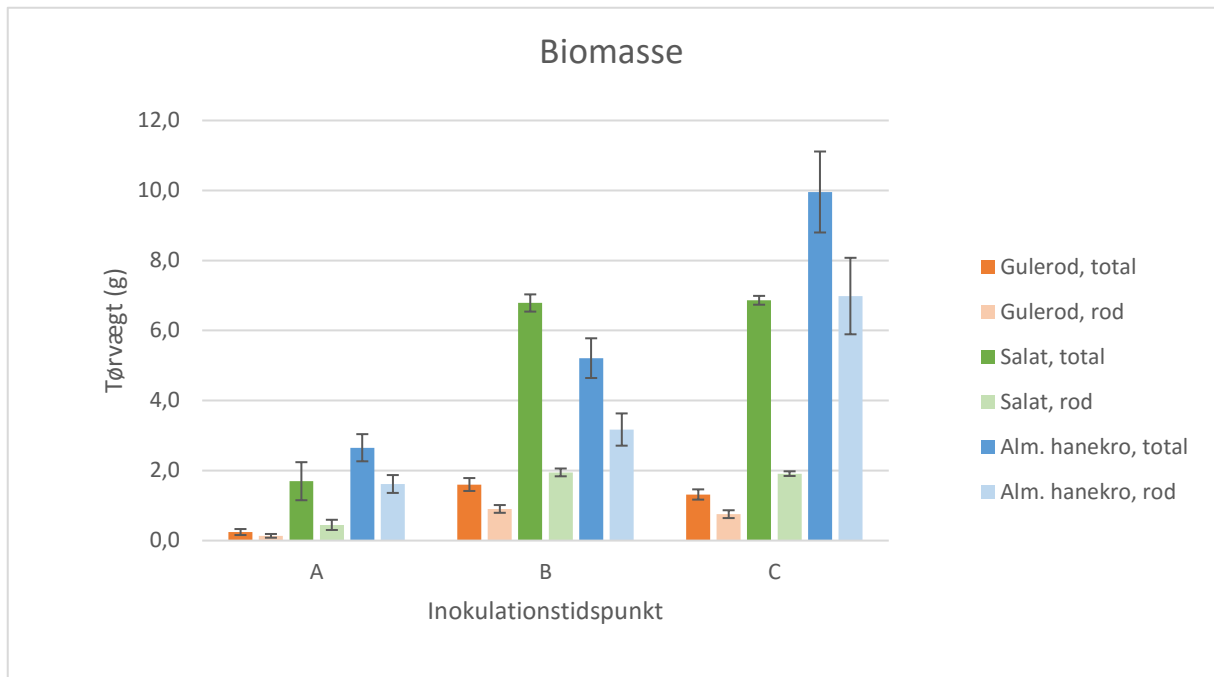
Plantevækst

Ved afslutning af forsøget var der stor visuel forskel på væksten i behandling A for gulerod og salat, hvorimod behandling B og C lignede hinanden (figur 11).



Figur 11 Gulerod (øverst) og salat (nederst) ved forsøgsafslutning. Inokuleret med 3000 M. hapla (J2) ved hhv. 3 (bund), 17 (midt) og 30 dage efter fremspiring (top).

Total- og rodbiomassen i behandling B og C var højere end i behandling A for både salat og gulerod (ANOVA, $P < 0,001$; Tukey's test, $P < 0,001$) (figur 12). Alm. hanekro havde forskellig alder ved høsttidspunktet (28 dage til 2 måneder), men alle planter i samme behandling havde omtrent samme alder, hvilket afspejles i forskellen i biomasse mellem de tre behandlinger ved slutningen af forsøget (figur 12).



Figur 12 Total- og rodbiomasse (tørvægt) af gulerod, salat og alm. hanekro ved inokulation med *M. hapla* til tiderne A (0 dage efter fremspiring for gulerod og salat, < et blivende bladsæt for alm. hanekro), B (14 dage efter fremspiring for gulerod og salat, ét blivende bladsæt eller mere, men ingen sideskud for alm. hanekro) og C (28 dage efter fremspiring for gulerod og salat, efter sideskudsdannelse for alm. hanekro) ved forsøgets afslutning. n=5-7. Fejlinjer markerer middelværdier $\pm$ SE.

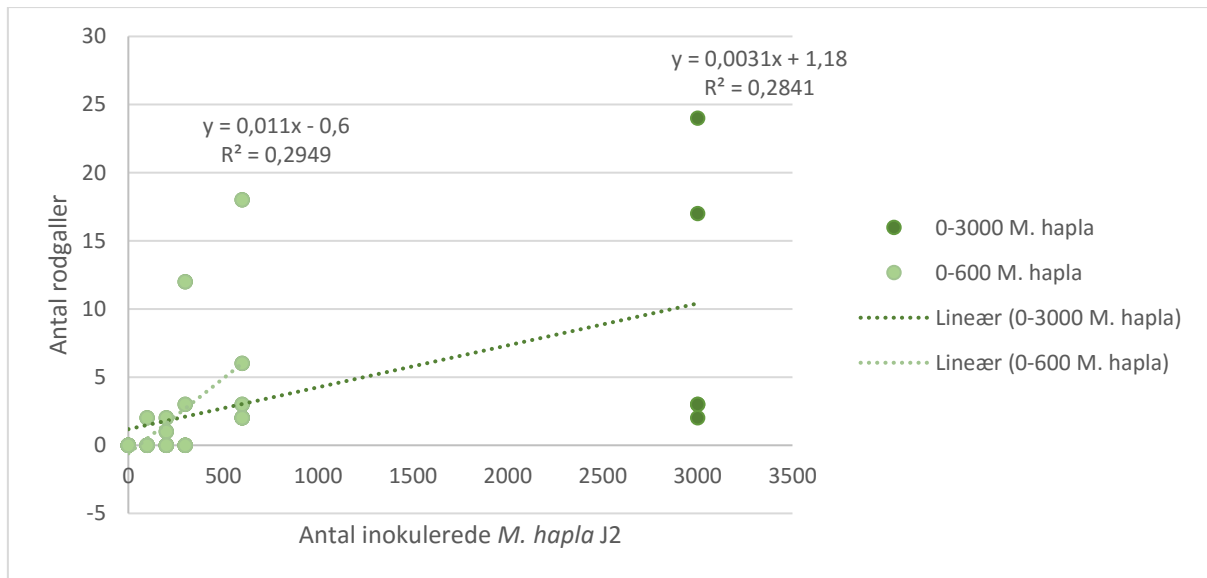
Effekt af inokulationsmængde

Ved inokulation af doser fra 0 til 3000 *M. hapla* pr. salatplante var der signifikant effekt af dosis på udviklingen af totalt antal rodgaller ved ensidet variansanalyse (ANOVA, $P < 0,01$) (figur 13). Inokulation med 3000 *M. hapla* gav således et højere antal rodgaller end ved 0 inokulerede *M. hapla*, om end forskellen ikke var signifikant (Tukey's test, $P = 0,082$). Der var ikke forskel mellem resten af behandlingerne. Kun for inokulation med 600 og 3000 *M. hapla* blev der dannet rodgaller på alle replikater, mens der ved inokulation med 100, 200 og 300 *M. hapla* kun blev dannet rodgaller på 1-2 planter i hver behandling. Der var som forventet ingen rodgaller på planter, der ikke var inokuleret med *M. hapla*.

Ved lineær regression var den bedst tilpassede model $y = 0,0031x + 1,18$ (ligning 1)

($R^2 = 0,2841$) (t -test, $P = 0,0024$). Skæringen var ikke forskellig fra 0 ($P = 0,318$).

Inokulationsmængden på 3000 *M. hapla* er urealistisk høj i forhold til naturlige forekomster på produktionsjorde i Danmark. Jeg har derfor også lavet lineær regression over data fra 0 til 600 inokulerede *M. hapla* ($y = 0,0011x - 0,6$; ligning 2) (t -test, $P = 0,005$). Her var skæringen heller ikke forskellig fra 0 ($P = 0,578$).



Figur 13 Total antal rodgaller udviklet på salat 4 uger efter inokulering med stigende antal J2 *M. hapla*.

Visuelle symptomer på ukrudt i marken

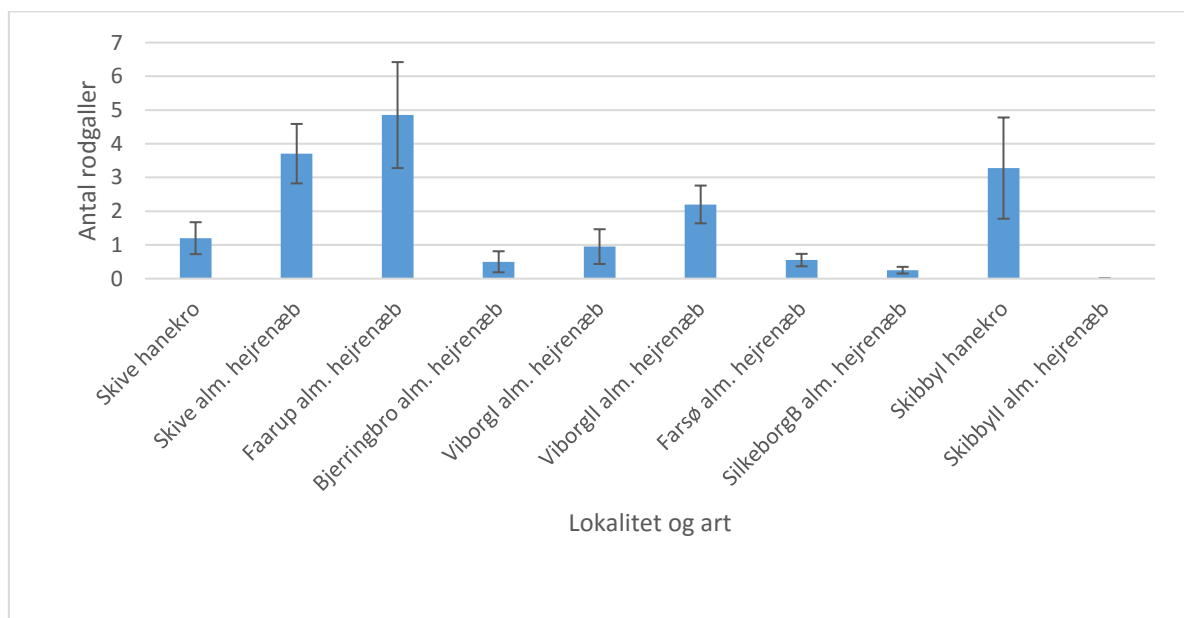
I forundersøgelsen i juli 2015 fandt jeg rodgaller på alm. hejrenæb og arter af haneekroslægten i marken, men kun fra ganske få lokaliteter. Formålet med indsamlingen af markdata i 2016 var således at se, om jeg kunne finde rodgaller på de to ukrudtsarter på andre lokaliteter, hvor der givetvis ville være forskel i både de fysiske forhold, dyrkningshistorien og skadestrykket. I 2016 indsamlede vi planteprøver fra 9 lokaliteter, der levede op til kriterierne beskrevet i afsnittet Materialer og metoder. Karakteristika for lokaliteterne kan ses i tabel 3.

Vi fandt rodgaller på 41 % (79 ud af 193) af prøverne og på mindst én prøve fra hver lokalitet i 8 ud af 9 tilfælde.

Overordnet havde prøverne fra Faarup et signifikant højere antal rodgaller end prøverne fra Bjerringbro, ViborgI, Farsø, Silkeborg B og SkibbyII (ANOVA, $P < 0,05$). Derudover var der ikke signifikante forskelle på antal rodgaller mellem lokaliteterne (figur 14).

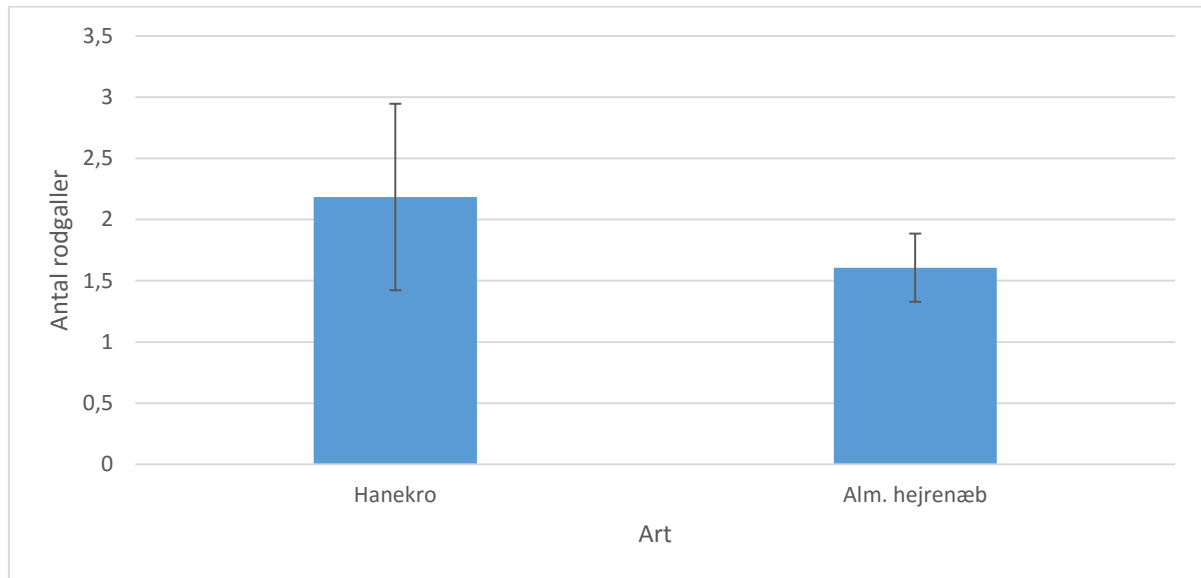
Tabel 3 Karakteristik af lokaliteter. Jordtype er klassificeret efter det danske jordklassifikationssystem. Afgrøde og forfrugt angiver hovedafgrøden i marken i indsamlingsåret og året inden. Historie angiver om der har været dyrket gulerødder, persillerødder og/eller pastinakker i marken. Økologisk angiver om marken i prøveindsamlingsåret var økologisk certificeret. Labanalyse angiver om infektion af marken med *M. hapla* er konstateret ved en genetisk analyse af udtaget jordprøve ved BLGG Agroxpertus eller andet analysefirma. Hvis der ikke er foretaget laboratorieanalyse, er bestemmelsen foregået ved registrering af rodgaller på gulerod, persillerod eller pastinak. År for konstatering er årstallet for første konstatering af angreb fra *M. hapla*. Antal prøver angiver hvor mange planter af hhv. alm. hejrenæb og hanekro der er indsamlet til datasættet.

Lokalitet	Jordtype JNr	Afgrøde	Forfrugt	Historie	Økologisk	Labanalyse foretaget	År for konstatering	Antal prøver	
								Alm. hejrenæb	Hanekro
Skive	1	Gulerod	Rug	Ja	Ja	Ja	2012	17	20
Faarup	1	Jordskok	Rug	Ja	Ja	Nej	2009	20	-
Bjerringbro	1	Gulerod	Kål	Nej	Nej	Ja	2016	20	-
ViborgI	1	Rug	Rug	Ja	Ja	Nej	2014	20	-
ViborgII	1	Majs	Kartofler	Ja	Ja	Nej	2013	20	-
Farsø	1	Jordskok	Kløvergræs	Ja	Ja	Nej	2011	20	-
Silkeborg	1	Rug	Rug	Nej	Ja	Ja	2015	20	-
SkibbyI	4	Rug	Grøntsager	Ja	Ja	Ja	2006	-	18
SkibbyII	6	Bygærter	Gulerod	Ja	Ja	Nej	2015	18	-



Figur 14 Antal rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro efter lokalitet. n=20, undtagen Skive Hanekro: n=17, SkibbyI og SkibbyII: n=18. Fejllinjer angiver middelværdier $\pm$ SE.

Andelen af prøver med rodgaller varierede for alm. hejrenæb fra 0 til 88 % mellem de 8 lokaliteter og for hanekro havde 39 % (7 ud af 18) af prøverne fra SkibbyI rodgaller mens det gjaldt for 45 % (9 ud af 20) af prøverne fra Skive. Der var ingen forskel på gennemsnitligt antal rodgaller på de to arter (Mixed Effects Model, $P = 0,15$) (figur 15).



Figur 15 Antal rodgaller på hhv. hanekro (n=38) og alm. hejrenæb (n=155) indsamlet på 9 forskellige marker, hvor der har været konstateret forekomst af *M. hapla*. Føjlinjer angiver middelværdier $\pm$ SE.

På lokaliteter, hvor der havde været dyrket en modtagelig afgrøde, var det gennemsnitlige antal rodgaller på planteprøverne højere, end på lokaliteter, hvor der ikke havde været dyrket en modtagelig afgrøde (ANOVA, $P < 0,05$). Det var dog ikke muligt at afgøre, om forskellen mellem marker, der tidligere havde haft en modtagelig afgrøde og marker, der ikke tidligere havde haft modtagelig afgrøde, udelukkende kunne tilskrives variationen mellem lokaliteter (Mixed Effects Model, $P = 0,1861$).

Da forfrugten (2015) var forskellig for fem af lokaliteterne og var den samme (rug) for de resterende fire lokaliteter, kan man ikke skelne effekten af lokalitet fra effekten af forfrugt, hvorfor denne ikke er analyseret.

Diskussion

Udvikling af visuelle symptomer

Antal rodgaller

For at de undersøgte arter kan være egnede som indikatorer for forekomst af *M. hapla*, skal de udvikle rodgaller, når *M. hapla* er til stede i jorden (hypotese I). I *timingforsøget* udviklede alle planterne rodgaller, og både alm. haneke og salat udviklede i gennemsnit mindst lige så mange rodgaller som gulerod ved både tidlig, middel og sen inokulation med 3000 J2 *M. hapla*. Der var en tendens til, at der blev dannet flere rodgaller (total), jo senere inokulationen fandt sted. I behandling B og C udviklede salat omtrent dobbelt så mange rodgaller som de to andre arter (figur 9). For at der kan dannes en rodgalle, skal det infektiøse stadium af *M. hapla* møde en rod. Chancen for at det sker, er alt andet lige større, når der er flere rødder. Ved de to sene inokulationstidspunkter var rodnettet større end ved det tidlige inokulationstidspunkt (figur 12). Dette kan måske også være en del af forklaringen på, at salat havde flere rodgaller i behandling B og C end gulerod i disse behandlinger. Ser man på forholdet mellem rodsystemets vægt og antallet af rodgaller, var rodgaller/rodbiomasse større for gulerødder end for salat (tabel 2).

Inokulationsmængden i *timingforsøget* svarer til fem *M. hapla* pr. cm³ jord og gennemsnitligt blev der udviklet 70 rodgaller pr. salatplante. Det svarer til resultaterne fra Gugino et al. (2008), der fandt hhv. 78,6 og 96,6 rodgaller pr. plante på salat af sorten 'Ithaca' ved inokulation med hhv. fire og otte *M. hapla* pr. cm³ jord. I et studie af effekter på salat i mikroparceller i marken fandt Viaene & Abawi (1996), at 11-35 % af rodsystemet på salat af sorten 'Montello' fik rodgaller, når de inokulerede med fem *M. hapla* æg pr. plante. I et drivhusforsøg i organisk jord i samme studie gav samme inokulationsmængde rodgaller på 36-65 % af rodsystemet, det er dog ikke klart, hvad forskellen skyldes. Opgørelsen af symptomer i procent af rodsystemet, der er inficeret, gør det svært at sammenligne med resultaterne fra *timingforsøget*.

Hos Slinger & Bird (1978) skete der en fast forøgelse af antallet af rodgaller hver 16. dag, hvilket indikerer klækningen af en ny generation J2. I *timingforsøget* var der ikke tegn på udvikling af flere rodgaller, når planten havde været inficeret med *M. hapla* i længere tid. Dette skyldes sandsynligvis, at temperaturen i *timingforsøget* var så lav, at

temperatursummen (552-555 graddage (Trudgill et al. 2005)), der er nødvendig for at *M. hapla* gennemfører en generation ikke blev nået i løbet af forsøget.

Resultaterne fra *timingforsøget* bekræfter, at der udvikles rodgaller på salat og alm. hanekro ved inokulation med *M. hapla* (hypotese I), hvilket er i overensstemmelse med resultater fra forsøg med salat præsenteret i Viaene & Abawi (1996); Gugino et al. (2006) og Gugino et al. (2008). Det er ikke lykkedes mig at finde udgivet materiale, der påviser at arter fra hanekro-slægten er værtsplante for arter af rodgallenematoder (*Meloidogyne* spp.), og at de danner rodgaller ved infektion med *M. hapla*. *Timingforsøget* bekræfter imidlertid, at der dannes rodgaller på alm. hanekro, når planten inficeres med *M. hapla*.

Rodgallernes placering

For at en plante er god som indikator, skal den afspejle, hvordan afgrøden ville blive inficeret af en skadegører, hvis den voksede under samme betingelser.

Infektionstidspunktet kan være vigtigt for, hvor på rødderne, gallerne er placeret (hypotese II). For alle tre arter var antallet af primærrodgaller højere ved det tidlige inokulationstidspunkt end ved de to senere tidspunkter (tabel 2). Det passer med at *M. hapla* efter penetration af roden bevæger sig til rodspidsen, hvor den danner gigantcellerne og initierer dannelsen af rodgallen (Karssen & Moens 2006; Jones et al. 2013). Hvis penetrationen sker meget tidligt i væksten, vil primærroden stadig være det senest dannede rodvæv, hvorimod den allerede er dannet ved de sene inokulationstidspunkter, hvorfor rodgallerne her dannes på sekundærrødder. I *timingforsøget* kom dette til udtryk som en højere rodgalleratio ved behandling A i forhold til de to sene inokulationstidspunkter for salat og gulero. I marken ville behandling B og C svare til en situation, hvor primærroden er udviklet, når *M. hapla* inficerer, hvilket kan betyde et højere salgbart udbytte, trods angreb, da risikoen for kvalitetstab af pæleroden mindskes (Bélair 1987).

Også for alm. hanekro var der tendens til flere primær- end sekundærrodgaller i behandling A (figur 10). Risikoen for, at man mister sekundærrødder ved opgravning af en indikatorplante, er større end for primærrødder. For at udvælge planter, der er inficeret kort efter fremspiring, skal man vide, hvornår *M. hapla* var på J2-stadiet i den pågældende mark, og hvornår planten er spiret. Ukrudt spirer ofte i forbindelse med jordbearbejdning (Froud-Williams et al. 1984), mens det ikke umiddelbart er indlysende,

hvornår *M. hapla* er på J2-stadiet. Det ville være interessant at udvikle en model, der kan forudsige, hvornår *M. hapla* er på hvilket udviklingstrin, fx på baggrund af jordtemperatur.

Biomassen er lavere for både gulerod og salat ved behandling A end ved behandling B og C, hvilket stemmer overens med resultater fra Gugino et al. (2006) og Viaene & Abawi (1996), der har vist, at infektion med *M. hapla* resulterer i en kvantitativ udbyttereduktion. *Timingforsøget* tyder på, at udbyttereduktionen ikke kun er afhængig af antallet af *M. hapla* i marken, men også af, hvornår i væksten, planterne bliver inficeret. På den måde har timing mellem den primære roddannelse og med *M. haplas* udvikling til J2-stadiet indflydelse på, hvor på roden gallerne dannes og på biomasseproduktionen. Resultaterne i *timingforsøget* viser, at tidlig infektion både hæmmer plantevæksten, og dermed det kvantitative udbytte, og at udviklingen af pæleroden især bliver påvirket ved tidlig infektion, hvilket for rodfrugter sænker kvaliteten af udbyttet.

Placeringen af rodgaller på gulerod, salat og alm. hanekro i *timingforsøget* bekræfter hypotese II om at de visuelle symptomer er afhængig af, hvornår i væksten infektion med *M. hapla* finder sted.

Potentiale som indikatorplante

Der dannes rodgaller på salat og alm. hanekro ved både tidlig, middel og sen inokulation, hvilket sammenholdt med udbredelsen af hanekro og lethed af at dyrke salat gør de to arter interessante at undersøge nærmere for deres anvendelighed som indikatorplanter for forekomst af *M. hapla*. Udviklingen i antal rodgaller, der dannes og hvor på rødderne, de er placeret, svarer for alm. hanekro til rodgalledannelsen på gulerod, mens der udvikles flere rodgaller på salat end på gulerod. *Timingforsøget* viser, at rodgalledannelsen på hanekro- og salatrødder, der er inficeret på et givent tidspunkt, kan give et billede af, hvordan en gulerod, der havde vokset det samme sted på det samme tidspunkt, ville have været inficeret. For at få et retvisende billede må man dog finde ud af, hvad sammenhængen mellem antallet af rodgaller på salat og på gulerod er ved samme inokulationsmængde for ikke at overestimere effekten, da salat danner flere rodgaller end gulerod.



Figur 16 Rodgaller efter infektion med *M. hapla* på salat ved inokulation 3 dage efter fremspiring



Figur 17 Rodgaller efter infektion med *M. hapla* på alm. hanekro ved inokulation på vækststadium < første sæt løvblade



Figur 18 Rodgaller efter infektion med *M. hapla* på gulerod ved inokulation 3 dage efter fremspiring

De rodgaller, der dannes på salat (figur 16) er større og dermed lettere at se, end på alm. hanekro (figur 17) og gulerod (figur 18). Derfor kan salat vise sig at være mere praktisk anvendelig som indikatorplante, især for mennesker, der ikke har skarpe øjne eller er vant til at bruge en lup.

Effekt af stigende inokulationsmængde

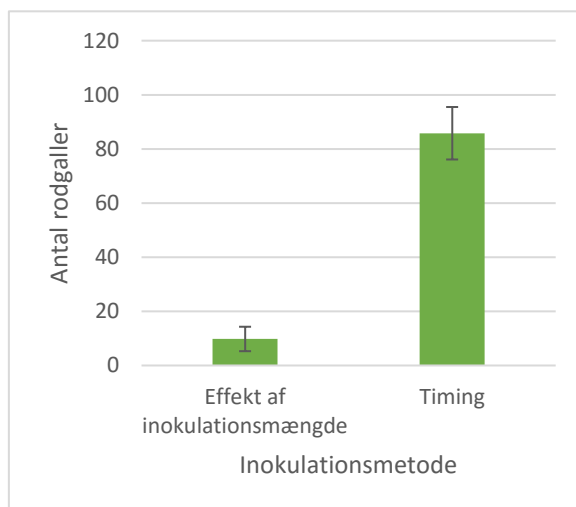
For at kunne vurdere risikoen ved at dyrke en modtagelig afgrøde er det centralt at vide, i hvor stort antal skadevolderen er til stede. Hypotese III antager, at symptomerne vil øges med stigende inokulationsmængde. I *effekt af stigende inokulationsmængde* var der forskel på antallet af rodgaller på salat ved stigende inokulationsmængder, men det kunne ikke identificeres, hvilke inokulationsmængder, der havde signifikant forskelligt respons. Der var stor forskel i inokulationssuccesen mellem replikater inden for samme behandling, hvilket har resulteret i stor spredning i antal rodgaller ved sammen inokulationsmængde. Den lineære regression over inokulationsmængder fra 0 til 3000 *M. hapla* (ligning 1) viser, at der dannes én ekstra rodgalle for hver 300 *M. hapla* der er til stede. Ved regressionen, hvor data fra inokulationsmængden på 3000 *M. hapla* er taget ud (ligning 2), skal der stadig 100 *M. hapla* til, for at der bliver dannet én ekstra rodgalle.

Gugino et al. (2008) undersøgte sammenhængen mellem antal J2 *M. hapla* i jorden inden udplantning/såning og forekomsten af rodgaller på salat i markforsøg på en blanding af mineralske og organiske jorde i staten New York i USA. De fandt at antallet af rodgaller (målt på en skala for rodgalleforekomst (RGF) fra 1 (ingen rodgaller) til 9 (>80 % af rodsystemet har rodgaller)) kunne beskrives lineært: $RGF = 1,25 + 0,046 \times J2 \text{ } M. \text{ hapla pr. } 100 \text{ g jord}$ ($P < 0,001$, $R^2 = 0,78$). Med denne sammenhæng har 25-35 % af rodsystemet galler ved 100 *M. hapla* pr. 100 g jord, som er skadetærsklen for gulerødder (Duncan 2010), mens der, hvis man tager skadetærsklen fra (Vrain 1982) på 2,7 *M. hapla* pr. 100 cm³ organisk jord, kun er rodgaller på 1-3 % af rodsystemet (volumenvægt af den organiske jord antages at være 0,5 g pr. cm³). Desuden fandt de, at der var sammenhæng mellem RGF på salatudplantningsplanter og både andelen af gulerødder, der havde symptomer på infektion med *M. hapla*, samt hvor alvorlig skaden var (antal rodgaller og placering på hhv. pælerod eller siderødder). Viaene & Abawi (1996) fandt en højere skadestærskel for salat i drivhusforsøg (7-8 *M. hapla* æg pr. cm³ jord) end i mikroparceller i marken (1-2 *M. hapla* æg pr. cm³ jord) i organisk jord. Den store forskel mellem estimerne af skadestærsklerne hos Vrain (1982), Viaene & Abawi (1996) og Duncan (2010) kan skyldes, at studierne er lavet i forskellige jordtyper, hvor følsomheden for *M. hapla* er større i organiske end mineralske jorde. I alle tilfælde var der en højere respons

fra planterne på et stigende antal *M. hapla*, end det jeg fandt i *effekt af stigende inokulationsmængder*.

Der er altså en sammenhæng mellem antal *M. hapla* i jord og antal rodgaller på salat, men sammenhængen er afhængig af lokale forhold, som salaten har vokset under. Både Viaene & Abawi (1996) og Gugino et al. (2008) fandt lineære sammenhænge mellem tætheden af *M. hapla* og antal udviklede rodgaller. Resultaterne af *effekt af stigende inokulationsmængde* indikerer, at hypotese III kan bekræftes. Med det forelæggende datamateriale er det dog ikke muligt at bestemme en model for sammenhængen mellem inokulationsmængde og antal rodgaller på salat, som ville kunne bruges til at vurdere, om skadestærklen er overskredet, da responsen fra salaten ikke kunne skelne imellem variationer i antal rodgaller med forskelle i inokulationsmængder mindre end 100 *M. hapla*.

Infektionssucces



Figur 19 Total antal rodgaller på rødder af salat seks uger efter inokulering med 3000 J2 *M. hapla*. Effekt af inokulationsmængde er inokuleret ved at blande 3000 J2 i 180 mL vand med 775 g homogeniseret, autoklaveret sandjord pr. potte, hvori udplantningsplanter fremspiret i sphagnum blev plantet. Potterne har stået i væksthuss ved 18-35 °C. Timing er inokuleret ved at lave fem fordybninger rundt om en to uger gammel salatplante, hvori 3000 J2 blev sprøjtet i med en plasticsprøjte. Potterne har stået i klimakammer ved 16 timers lys, 15 °C og 8 timers mørke, 5 °C. Samme jord er brugt til begge forsøg

En af årsagerne til, at jeg ikke på baggrund af forsøget *effekt af stigende inokulationsmængde* kunne finde en tilpas fintfølende model for sammenhæng mellem antal inokulerede *M. hapla* og udviklingen af rodgaller på salat, er, at inokulationen lykkedes dårligt, og at der derfor var stor spredning i antal rodgaller ved samme inokulationsmængde. I *timingforsøget* resulterede inokulation med 3000 J2 *M. hapla* i 85,8 ($\pm 19,4$) rodgaller pr. plante, mens samme dosis i *effekt af stigende inokulationsmængde* kun gav 9,8 ($\pm 9,0$) rodgaller (ANOVA, $P < 0,001$) (figur 19).

Den anvendte salatsort og jorden var den samme i begge forsøg. Den lave infektionssucces i *effekt af stigende inokulationsmængde* i forhold til *timingforsøget* kan skyldes, at nematoderne

er blevet beskadiget ved inokulering, eller at kontakt mellem rødderne, der primært har været i sphagnum-blokken og nematoderne i mineraljorden, var for lille.

Pinkerton et al. (1987) fandt, at *M. hapla* bevægede sig længere ved 18 °C end ved 12 og 24 °C. Samtidig udvikler nematoden sig hurtigere og bruger mere af sin oplagrede energi ved stigende temperaturer. Der er altså tre hovedfaktorer i relation til temperatur, der kan have mindsket infektionssuccesen: 1) rødderne var i et mindre jordvolumen, og 2) mobiliteten af nematoderne har været begrænset af den høje temperatur, hvilket tilsammen har mindsket sandsynligheden for, at nematoden ville møde en rod. 3) *M. haplas* energiforbrug stiger og den tid det tager, før den når næste udviklingstrin, falder med stigende temperatur (Lahtinen et al. 1988; Trudgill et al. 2005). De inokulerede nematoder vil således have haft kortere tid til at møde og inficere en rod i *effekt af stigende inokulationsmængde* i forhold til *timingforsøget*.

Høje temperaturer i væksthuset kan også have haft en mere generel betydning for den manglende infektionssucces. Populationer af *M. hapla* fra områder med forskellige temperaturforhold har infektionsoptimum ved forskellige temperaturer (Inserra et al. 1983; O'Bannon & Santo 1984; Pinkerton et al. 1987; Griffin & Jensen 1997). Griffin & Jensen (1997) fandt, at mængden af rodgaller på markstenkløver (*Melilotus officinalis*), vikke (*Astragalus cicer*) og lucerne (*Medicago sativa*) inokuleret med *M. hapla* isolater fra Utah og Wyoming steg med stigende temperatur indtil 25 °C, mens den steg indtil 30 °C (maksimal temperatur testet) for et isolat fra Californien. Temperaturoptimum for infektion med den brugte *M. hapla*-linje kendes ikke, og den lavere infektionssucces ved høj temperatur kan i dette forsøg ikke skilles fra effekten af at blande inokulum i jorden i stedet for at injicere det, og effekten af at bruge udplantningsplanter af salat, frem for at lade salat spire i potten.

Visuelle symptomer på ukrudt i marken

Som det sås af *effekt af stigende inokulationsmængde*, kan man ikke altid være sikker på, at tilstedeværelse af *M. hapla* i en jord er ensbetydende med, at der udvikles rodgaller på de planter, der vokser i den. For at kunne bruge en plante som indikator, er det ikke nok, at der dannes rodgaller ved infektion med *M. hapla* under kontrollerede forhold i klimakammer. Planten skal udvikle rodgaller under naturlige jord- og klimaforhold, hvis den spirer frem i en mark, hvor *M. hapla* er til stede (hypotese IV). Forundersøgelsen i juli

2015 viste, at der var rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro i marker, hvor *M. hapla* forekom, men det var kun et begrænset antal lokaliteter, der indgik i undersøgelsen.

Indsamlingen af de to ukrudtsarter i maj og juni 2016 viste, at der var rodgaller på mindst én plante på 8 ud af 9 undersøgte lokaliteter, hvor forekomst af *M. hapla* var konstateret, og at der i gennemsnit var rodgaller på 42 % af plantepróverne. Der var ikke forskel på antallet af rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro (figur 15). I gennemsnit havde hanekro indsamlet i marken 2,2 rodgaller. De planter, der havde flest rodgaller havde hhv. 32 (forundersøgelse, 2015) og 20 (SkibbyI, 2016). Til sammenligning var gennemsnittet i *timingforsøget* 44 (± 3). Resultaterne af indsamlingen i denne undersøgelse bekræfter hypotese IV, hvilket sammenholdt med, at arterne er almindeligt forekommende som ukrudt, gør dem interessante at undersøge nærmere for deres potentiale som indikatorplanter.

Da kun to af lokaliteterne ikke var JB 1-jorde (hhv. JB 4 (SkibbyI) og JB 6 (SkibbyII)), kan det ikke ud fra denne undersøgelse vurderes, om jordens tekstur havde indflydelse på antal rodgaller. Vrain (1982), Viaene & Abawi (1998) og Duncan (2010) fandt svingende skadestærskler for salat og gulerod på hhv. organiske- og sandjorde. Hallmann et al. (2007) fandt, at udbyttetab på over 50 % oftest forekommer på sandjorde, og der var flest tilfælde af udbyttetab på 10-50 % på sand- eller lerblandede sandjorde. Store udbyttetab sker også oftest på sandede jorde i Danmark (Møller 2016). For at kunne bestemme en sammenhæng mellem antallet af rodgaller på hanekro og alm. hejrenæb, der er fremspiret i marken, og antal *M. hapla* i jorden er det nødvendigt at undersøge, hvilken indflydelse jordens tekstur har på udviklingen af de visuelle symptomer.

På baggrund af datamaterialet kan man ikke se, om antallet af rodgaller er afhængigt af, om der har været dyrket en modtagelig afgrøde (gulerod, pastinak eller persillerod) på arealet tidligere. På mange økologiske arealer dyrkes kløver, enten som grøngødning eller som foderafgrøde til kvæg. Selvom kløver ikke skades af *M. hapla*, opformeres populationen på afgrøden (Duncan 2010). Ud fra datasættet er det ikke klart hvilke marker, der har været dyrket med kløver, hvorfor kategoriseringen af marker med en dyrkningshistorie med afgrøder, der kan opformere populationen, ikke har været præcis. Ydermere vil sammensætningen og udbredelsen af ukrudtsarter, der er værter for *M. hapla* i marken kunne bidrage væsentligt til opformering af populationen.

Det er ikke muligt at sige, om den ene art er bedre anvendelig som indikatorplante end den anden på baggrund af datamaterialet fra denne undersøgelse. Tidligt i prøvetagningsfasen blev vi dog opmærksomme på, at de alm. hejrenæb-planter, vi fandt i marken, kunne være spiret frem enten efteråret inden prøvetagning (typisk i efterårssåede afgrøder som rug) eller i foråret i prøvetagningsåret. Rodudviklingen for de efterårsspirede individer var langt dybere, hvilket gjorde det praktisk talt umuligt at holde rodsystemet intakt ved opgravning, og det var ikke muligt at vurdere antallet af rodgaller på det ødelagte rodsystem. På den baggrund er efterårsspirede alm. hejrenæb ikke inkluderet i datamaterialet. Hvis man vil undersøge alm. hejrenæbs potentiale som indikatorplante nærmere, skal man være opmærksom på dette forhold. I den forbindelse især på, at de, der tager plantepróverne, kan skelne mellem forårs- og efterårsspirede alm. hejrenæb, hvis prøverne indsamles i marker, hvor afgrøden er etableret om efteråret.

Både hanekro og alm. hejrenæb er som udgangspunkt interessante at undersøge nærmere for potentiale som indikatorplanter. For at kunne bruge dem i praksis må det dog undersøges, om der er en sammenhæng mellem antal rodgaller og forekomsten af *M. hapla* i jorden, og om denne sammenhæng kan bruges på tværs af forskellige lokaliteter, eller om der evt. skal korrigeres for tekstur og dyrkningshistorie.

Rummelig distribution og prøvetagning

For at give et grundlag for at beslutte om man skal dyrke en modtagelig afgrøde i en mark, er det ikke bare nødvendigt at overveje, hvilken type prøve man tager og hvordan de analyseres, men det er også afgørende hvor mange prøver, der tages, og hvordan prøverne er distribueret over marken (Bélair & Boivin 1988; Wheeler et al. 1994; Been & Schomaker 2006). Selvom det ikke har været en del af forskningsspørgsmålet for dette speciale, vil jeg i det følgende komme med nogle overvejelser, der er nødvendige i forbindelse med monitorering af *M. hapla*-forekomst.

For at finde ud af om en skadestærskel er overskredet, må man danne sig et billede af, hvor høj tætheden af *M. hapla* er i marken. Et detaljeret billede giver et bedre beslutningsgrundlag, men samtidig er det dyrere at lave. Spørgsmålet er derfor: Hvordan fås et tilfredsstillende billede af skadestrykket med færrest muligt antal prøver?

På mark-niveau optræder subpopulationer af *M. hapla* typisk i ovale pletter. Pletterne er smallere på tværs af køreretningen, da maskiner vil trække jord med sig, og dermed spreder nematoderne i køreretningen. Jo mindre der jordbearbejdes, jo mere samlet vil nematodsubpopulationen være (Been & Schomaker 2006). Effekten af jordbearbejdning er medvirkende årsag til, at der kan være stor forskel på, hvordan forekomsten af *M. hapla* optræder i forskellige marker (Wheeler et al. 1994). Endvidere varierer tætheden af nematoderne indenfor en lille skala, og der kan være variationer på over 100 individer pr. 70 g jord indenfor bare 10 cm afstand. Når man udtager jordprøver anbefales det derfor at tage flere delprøver med et jordspyd med en lille (1-2 cm) diameter, som blandes for at få et samlet billede af tætheden i området (Been & Schomaker 2006).

Når der tages prøver for at monitorere *M. hapla*-forekomst og -tæthed, gælder det om at tage prøver i et mønster og med en tæthed, der gør, at man rammer de pletter, hvor nematoderne forekommer. Pletterne er tilfældigt distribueret i marken, og et præcist billede af nematodforekomsten kunne opnås ved at tage prøverne i et tilfældigt mønster (Bélair & Boivin 1988; Been & Schomaker 2006). Det er dog højst upraktisk, hvorfor det anbefales at tage prøverne i et net- eller zigzagmønster. Da pletterne typisk er længere i køreretningen, kan afstanden mellem prøverne i denne retning være større, end på tværs af køreretningen (Been & Schomaker 2006). Bélair & Boivin (1988) udviklede en plan for udtagning af planteprøver, baseret på akkumuleret RGF i gulerødder (rodgalleforekomst, svarende til den beskrevet af Gugino et al. (2008)). Planen tager højde for den økonomiske skadestærskel, den tilfældige fordeling af nematodpletterne og et tolereret fejlniveau for resultatet. Her udtages 10-72 prøver, hvor det i løbet af prøvetagning evalueres om den akkumulerede RGF overskrider en øvre grænse, over hvilken det anbefales at iværksætte bekæmpelse af *M. hapla*. Hvis der ved et bestemt antal prøver opnås en akkumuleret RGF under en fastsat nedre grænseværdi stoppes prøvetagning, idet det antages at forekomsten af *M. hapla* ligger under skadestærkelen. Systemet er dog baseret på, at der dyrkes gulerødder i samme mark år efter år, og at der behandles med et kemisk nematodbekæmpelsesmiddel (1,3-dichlorpropen nematicid), hvis skadestærkelen overskrides. Det ville være interessant at undersøge, om man kan bruge en af de tre indikatorplanter behandlet i dette projekt, til at udvikle en lignende prøvetagningsstrategi.

Konklusion

Hypotese I og II

I *timingforsøget* udviklede salat og alm. haneke lige så mange eller flere rodgaller end gulerod ved inokulation med 3000 *M. hapla* ved alle tre inokulationstidspunkter. Ved inokulation tidligt i væksten var der en højere andel rodgaller på primærroden end ved senere inokulationstidspunkter på alle tre arter. Det er en fordel, at der udvikles rodgaller igennem hele væksten, da det gør prøvetagningstidspunktet mere fleksibelt. Samtidig kan rodgallerne placering give en indikation af, hvornår i væksten planten er blevet inficeret. Ukrudtet spirer som regel i forbindelse med lyspåvirkning eller jordbearbejdning, hvorfor man vil kunne forvente, at rodgaller på primærroden er dannet umiddelbart efter fremspiring. På den måde kan rodgallerne både indikere, om der er *M. hapla* i marken eller ej, men også give en indikation af, hvornår i væksten planten er blevet inficeret. Resultaterne af *timingforsøget* bekræfter dermed hypotese I og II.

Hypotese III

I *effekt af stigende inokulationsmængde* var der en signifikant effekt af stigende inokulationsmængde, når denne blev behandlet som en kvantitativ variabel i en ensidet variansanalyse. Hældningsparameteren ved lineær regression var også signifikant, men lavere end forventet både med og uden data for 3000 inokulerede *M. hapla* i regressionen. Ved parvis sammenligning af antallet af rodgaller kunne jeg ikke se signifikante forskelle mellem de anvendte inokulationsniveauer, og ud fra datamaterialet kunne jeg ikke bestemme en model for sammenhængen.

For at kunne bruge indikatorplanterne mere præcist vil det være nødvendigt at kende sammenhængen mellem antallet af rodgaller på de tre arter og forekomsten af *M. hapla* i jorden. For salat burde det være relativt enkelt at finde en sådan sammenhæng.

Erfaringerne fra *effekt af inokulationsmængde* er dog, at man må være opmærksom på de temperatur- og fugtforhold man laver testen under, for at inokuleringen er succesfuld.

Om end der ikke kan opstilles en model, der beskriver udviklingen i antallet af rodgaller ved stigende inokulationsmængde på baggrund af datamaterialet, bekræfter forsøget hypotese III.

Hypotese IV

Indsamlingen af alm. hejrenæb og hanekro viste, at de i de fleste tilfælde danner rodgaller, når de er fremspiret i marker, hvor der er konstateret forekomst af *M. hapla*. Fordelen ved at bruge dem som indikatorarter er, at de i mange tilfælde er i marken i forvejen. Dermed kræver det et minimum af tid, økonomisk investering og forberedelse at undersøge dem for rodgaller, i forhold til at skulle indsamle jordprøver til laboratorietest (nuværende praksis) eller udplante salat enten i marken eller i indsamlede jordprøver. Ulempen er, at alm. hejrenæb og hanekro ikke altid er i de marker, man gerne vil undersøge, og at rodgallerne er relativt små, hvilket øger sandsynligheden for, at man overser galler ved gennemgang af rodsystemet. Desuden er der vanskelighederne med at etablere en sammenhæng mellem de visuelle symptomer og tætheden af *M. hapla* i jorden, som beskrevet ovenfor. Fundene af rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro i *vurdering af rodgaller på ukrudt fremspiret i marken* bekræfter hypotese IV.

Anbefaling

Umiddelbart kan opgravning og undersøgelse af forekomst af rodgaller på alm. hejrenæb og hanekro i marken give en indikation af om *M. hapla* er til stede eller ej. For at være uafhængig af ukrudtsfloraen i marken, kan samme undersøgelse af sammenhæng mellem rodgaller på en indikatorplante og skade fra *M. hapla* på gulerødder året efter foretages med udsået salat som indikator. Der må indsamles data på forekomsten af planter med rodgaller det ene år, hvorefter oplysninger om skader på gulerødder forårsaget af *M. hapla* registreres året efter for at finde en sammenhæng imellem indikatorplantens respons og risiko for skadestab i den efterfølgende afgrøde. Det kan i den forbindelse være interessant at undersøge om metoden brugt af Bélair & Boivin (1988) kan bruges til at bestemme en model for sammenhængen. For salat bør det undersøges, om der opnås forskellige resultater hvis man 1) udsår salat i marken 2) udtager jordprøver, og sår salat i dem under kontrollerede temperatur- og fugtforhold eller 3) man planter småplanter af salat i stedet for at så dem enten som i 1) eller 2).

Perspektiver og videre arbejde

Sammenhæng mellem planterespons og tæthed af *M. hapla*

Indikatorplanter kan altså bruges til bestemmelse af forekomster af *M. hapla*. For at kunne bruge planterne til at vurdere risikoen ved dyrkning af en modtagelig afgrøde, skal det undersøges, hvad sammenhængen er mellem indikatorplantens respons på tætheden af *M. hapla* i jorden og risikoen for skade på afgrøden.

For hanekro og alm. hejrenæb kan det være et problem at finde en god måde at "fange" nematoderne i en jordprøve, for at lave en korrelation mellem antal *M. hapla* i jordprøven og antallet af rodgaller på indikatorplanten. Hvis man graver ukrudt op samtidig med, at man tager jordprøver, vil der være stor sandsynlighed for, at nematoderne sidder inde i planteroden og dermed ikke kommer med i analysen af jordprøven. Alternativt har anden generation *M. hapla* allerede forladt roden og dermed kommer man til at lave en relation mellem antallet af rodgaller og populationen efter opformering på værtsplanten i stedet for populationen inden opformering på værtsplanten.

For salat kan man komme uden om dette problem ved at analysere jordprøver for antallet af *M. hapla* på en delprøve, mens man dyrker salat i en anden delprøve. Dette kan forsøges både forår og efterår for marker, hvor der skal dyrkes gulerødder året efter, hvorefter resultaterne af jordprøven og salattesten kan sammenlignes med evt. skade i gulerødder i marken året efter. Da det er svært at få alm. hanekro og alm. hejrenæb til at spire under kontrollerede forhold, vil det være svært at bruge samme metode til at finde en sammenhæng mellem antallet af rodgaller på disse to arter og tætheden af *M. hapla* i jorden.

Rodgaller på salat er store og let synlige, hvilket giver den en fordel som indikatorart i forhold til hanekro og alm. hejrenæb. Endvidere kan man med salat styre, hvornår i sæsonen, man vil teste for antallet af *M. hapla*.

Det kræver yderligere erfaringer med de to metoder at beslutte, hvornår på året det er optimalt at teste forekomsten af *M. hapla*. Om foråret kan man få en indikation af, hvor alvorlig infektionen kan være under de klimaforhold, der er ved gulerøddernes fremspiring, mens man om efteråret får effekten af den populationsudvikling, der har været henover dyrkningssæsonen med.

Prøvetagning

Uanset hvilke indikatorplanter man arbejder videre med, er det også nødvendigt at forholde sig til, hvor mange prøver, der skal til for at give et tilstrækkeligt billede af nematodforekomsten, og hvor i marken prøverne skal tages. Ved indsamling af 20 planter pr. lokalitet i *vurdering af rodgaller på ukrudt fremspiret i marken* var der én ud af 12 lokaliteter, hvor der ikke fandtes rodgaller på nogen af planterne, men forholdet mellem antal prøver og arealets størrelse varierede mellem lokaliteterne. Hvis der tages mange prøver, og de tages spredt i marken, bliver billedet alt andet lige mere retvisende, end hvis der tages få prøver, og/eller de kun tages i en lille del af marken. Omkostningerne stiger naturligvis, hvis der skal tages flere prøver. Da nematoderne typisk forekommer i pletter i marken, kan man regulere antal og rummelig spredning af prøverne i forhold til, hvor store pletter med *M. hapla*, man er villig til at acceptere, sandsynligheden for falsk negativt udfald af en prøve, og hvor meget man er villig til at betale for undersøgelsen, i stil med prøvetagningsplanen udarbejdet af Bélair & Boivin (1988)

Mere øko-grønt på markedet

Hvis man kan finde en relation mellem antallet af rodgaller på indikatorplanterne, antal prøver der skal tages og sandsynlig skade på en modtagelig afgrøde, har man et værktøj, der giver gartnerierne mulighed for at sikre deres produktion mod angreb af rodgallenematoder. Den nuværende risiko for skadestab, der er forbundet med at etablere gulerødder eller en anden modtagelig afgrøde, kan på den måde minimeres, og derved bliver det mere interessant for gartnerierne at producere flere økologiske grøntsager, der kan efterkomme den stigende efterspørgsel.

Referencer

- Been, T.H. & Schomaker, C.H., 2006. Distribution Patterns and Sampling. In R. N. Perry & M. Moens, eds. *Plant Nematology*. CABI, 302–326.
- Bélair, G., 1987. A note on the influence of cultivar, sowing date and density on damage to carrot caused by *Meloidogyne hapla* in organic soil. *Phytoprotection*, 68:71–74.
- Bélair, G., 1998. Seasonal and vertical distribution of *Meloidogyne hapla* in organic soil. *Phytoprotection*, 79:1–8.
- Bélair, G. & Benoit, D.L., 1996. Host Suitability of 32 Common Weeds to *Meloidogyne hapla* in Organic Soils of Southwestern Quebec. *Supplement to Journal of nematology*, 28(4S):643–647.
- Bélair, G. & Boivin, G., 1988. Spatial Pattern and Sequential Sampling Plan for *Meloidogyne hapla* in Muck-Grown Carrots. *Phytopathology*, 78:604–607.
- Bélair, G. & Parent, L.E., 1996. Using Crop Rotation to Control *Meloidogyne hapla* Chitwood and Improve Marketable Carrot Yield. *HortScience*, 31(1):106–108.
- Bongers, T., 1994. De Nematoden Van Nederland, 3. udgave, 2. oplag. Koninklojke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging.
- Buck, H., 2016. Personlig kommunikation. Cand.agro, konsulent ved Ökoring, Tyskland. e: h.buck@oekoring.de
- Decraemer, W. & Hunt, D.J., 2013. Structure and classification. I *Plant Nematology*, redigeret af R. N. Perry & M. Moens. CABI, 3–32.
- DMI 2016. Klimanormaler. *Tilgængelig på internet:*
<http://www.dmi.dk/vejr/arkiver/normaler-og-ekstremer/klimanormaler-dk/> .
Citeret d. 26. august 2016
- Duncan, L.W., 2010. Nematode Management in Arable Farming. *Nematode Management Action Plan*. Colophon. 1–57.
- Froud-Williams, R.J., Chacellor, R.J. & Drennan, D.S.H., 1984. The Effects of Seed Burial and Soil Disturbance on Emergence and Survival of Arable Weeds in

- Relation to Minimal Cultivation. *Journal of Applied Ecology*, 21:629–641.
- Griffin, G.D. & Jensen, K.B., 1997. Importance of Temperature in the Pathology of *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi* on Legumes. *Journal of Nematology*, 29(1):112–116.
- Gugino, B.K., Abawi, G.S. & Ludwig, J.W., 2006. Damage and Management of *Meloidogyne hapla* Using Oxamyl on Carrot in New York. *Journal of Nematology*, 38(4):483–490.
- Gugino, B.K., Ludwig, J.W. & Abawi, G.S., 2008. An on-farm bioassay for assessing *Meloidogyne hapla* infestations as a decision management tool. *Crop Protection*, 27:785–791.
- Hallmann, J., Frankenberg, A., Paffrath, A., Schmidt, H., 2007. Occurrence and importance of plant-parasitic nematodes in organic farming in Germany. *Nematology*, 9(6):869–879.
- Hallmann, J., 2016. Personlig kommunikation. Prof. Dr. ved Julius Kühn-Institutet – Nationalt afgrødeforskningscenter, Institut for epidemiologi og patogendiagnostik. e: johannes.hallmann@jki.bund.de, t: +49 (0) 251 87106 25
- Hartvig, P., 2015. Atlas Flora Danica. Gyldendal, København
- Hofmann, J. & Grundler, F.M.W., 2007. How do nematodes get their sweets? Solute supply to sedentary plant-parasitic nematodes. *Nematology*, 9(4):451–458.
- Hooks, C.R.R. et al., 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 46:307–320.
- Hussy, R.S. & Barker, K.R., 1973. A COMPARISON OF METHODS OF COLLECTING INOCULA OF MELOIDOGYNE SPP. INCLUDING A NEW TECHNIQUE. *Plant disease reporter*, 57(12):1025–1028.
- Inserra, R.N., Griffin, G.D. & Sisson, D. V, 1983. Effects of Temperature and Root Leachates on Embryogenic Development and Hatching of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla*. *Journal of nematology*, 15(1):123–127.
- Jakobsen, J. & Hansen, L.M., 2002. Nematoder som skadedyr på gulerødder. *Grøn Viden*

- *Markbrug*, (254):1–4.

- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G.J., Gaur H.S., Helder, J., Jones, M.G.K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M.L., Perry, R.N., 2013. Review: Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9):946–961.
- Karlsson, L.M., Ericsson, J.A.L. & Milberg, P., 2006. Seed dormancy and germination in the summer annual *Galeopsis speciosa*. *Weed Research*, 46:353–361.
- Karssen, G. & Moens, M., 2006. Root-knot nematodes. I *Plant Nematology*, redigeret af R. N. Perry & M. Moens. CABI, 59–90.
- Kaur, P. & Mitkowski, N.A., 2011. Evaluation of *Lactuca* Germplasm for Resistance to the Northern Root-knot Nematode. *International Journal of Vegetable Science*, 17:26–36.
- Lahtinen, A.E., Trudgill, D.L. & Tiilikkala, K., 1988. Threshold Temperature and Minimum Thermal Time Requirements for the Complete Life-Cycle of *Meloidogyne hapla* from Northern Europe. *Nematologica*, 34:443–451.
- LaMondia, J.A., 1999. Influence of Rotation Crops on the Strawberry Pathogens *Pratylenchus penetrans*, *Meloidogyne hapla*, and *Rhizoctonia fragariae*. *Supplement to Journal of nematology*, 31(4S):650–655.
- LaMondia, J.A., 1997. Management of *Meloidogyne hapla* in Herbaceous Perennial Ornamentals by Sanitation and Resistance. *Supplement to Journal of nematology*, 29(4S):717–720.
- Moens, M., Viaene, N. & Wesemael, W., 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13(1):3–16.
- Mojtahedi, H., Santo, G. & Wilson, J., 1988. Host Tests to Differentiate *Meloidogyne chitwoodi* Races 1 and 2 and M. *hapla*. *Journal of nematology*, 20(3):468–473.
- Mossberg, B. & Stenberg, L., 2003. Den nye nordiske flora. Oversat fra svensk efter Den nya nordiska floran af Jon Feilberg. Gyldendal, København
- Møller, L., 2016. Personlig kommunikation. Cand.agro, konsulent ved

GartneriRådgivningen A/S, Hvidkærvej 29, 5250 Odense SV. e: irm@seges.dk, t:
+45 4084 3011

NaturErhvervsstyrelsen, 2016a. Statistik over økologiske jordbrugsbedrifter 2015.1–40.

Tilgængelig på internet:

http://naturerhverv.dk/fileadmin/user_upload/NaturErhverv/Filer/Indsatsomraader/Oekologi/Nyheder_og_baggrund/Tal_og_fakta_om_oekologi/Antal_oekologiske_bedrifter/Statistik_over_oekologiske_jordbrugsbedrifter_2014_Juli_2015.pdf.

Citeret d. 26. august 2016

NaturErhvervsstyrelsen 2016b: *Meloidogyne chitwoodi*. *Tilgængelig på internet:*

<http://agrifish.dk/plants/harmful-pests/nematodes/meloidogyne-chitwoodi/>.

Citeret d. 26. august 2016

NaturErhvervsstyrelsen 2016c: *Meloidogyne fallax*. *Tilgængelig på internet:*

<http://agrifish.dk/plants/harmful-pests/nematodes/meloidogyne-fallax/>. Citeret d.

26. august 2016

NaturErhvervsstyrelsen, 2015. Nøgletal for økologi. 1–8.

Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs, L., Hockland, S., Tahna Maafi, Z.,
2011. Current Nematode Threats to World of Agriculture. I *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions*, redigeret af J. Jones, G. Gheysen, & C. Fenoll. Springer Science+Business Media B. V., 21–43.

O'Bannon, J.H. & Santo, G.S., 1984. Effect of Soil Temperature on Reproduction of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* Alone and in Combination on Potato and *M. chitwoodi* on Rotation Plants. *Journal of nematology*, 16(3):309–312.

Pedigo, Larry 2016. Economic Thresholds and Economic Injury Levels. Iowa State University, Department of Entomology. *Tilgængelig på internet:*

<http://ipmworld.umn.edu/pedigo>. Citeret d. 26. august 2016

Pinkerton, J.N. et al., 1987. Vertical Migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under Controlled Temperature. *Journal of Nematology*, 19(2):152–157.

Rich, J.R., Brito, J.A., Kaur, R., Ferrell, J.A., 2009. Weed Species As Hosts of *Meloidogyne*: A Review. *Nematropica*, 39(2):157–185.

- Sapkota, R., Skantar, A.M. & Nicolaisen, M., 2016. A TaqMan real-time PCR assay for detection of *Meloidogyne hapla* in root galls and in soil. *Nematology*, 18:147–154.
- Schomaker, C.H. & Been, T.H., 2006. Plant Growth and Population Dynamics. I *Plant Nematology* redigeret af R. N. Perry & M. Moens, CABI. 275–301.
- Seinhorst, J.W., 1961. Plant-nematode inter-relationships. *Annual Review Microbiology*, 15:177–196.
- Slinger, L.A. & Bird, G.W., 1978. Ontogeny of *Daucus carota* Infected with *Meloidogyne hapla*. *Journal of Nematology*, 10(2):188–194.
- Trudgill, D.L. et al., 2005. Thermal time – concepts and utility. *Annals of Applied Biology*, 146:1–14.
- Viaene, N.M. & Abawi, G.S., 1996. Damage Threshold of *Meloidogyne hapla* to Lettuce in Organic Soil. *Journal of Nematology*, 28(4):537–545.
- Vrain, T.C., 1982. Relationship Between *Meloidogyne hapla* Density and Damage to Carrots in Organic Soils. *Journal of Nematology*, 14(1):50–57.
- Wheeler, T.A., Madden, L.V., Riedel, R.M., Rowe, R.C., 1994. Distribution and Yield-Loss Relations of *Verticillium-Dahliae*, *Pratylenchus Penetrans*, *P-Scribneri*, *P-Crenatus*, and *Meloidogyne-Hapla* in Commercial Potato Fields. *Phytopathology*, 84(8):843–852.
- Wong, T.K. & Mai, W.F., 1973. *Meloidogyne hapla* in Organic Soil: Effects of Environment on Hatch, Movement and Root Invasion. *Journal of Nematology*, 5(2):130–138.

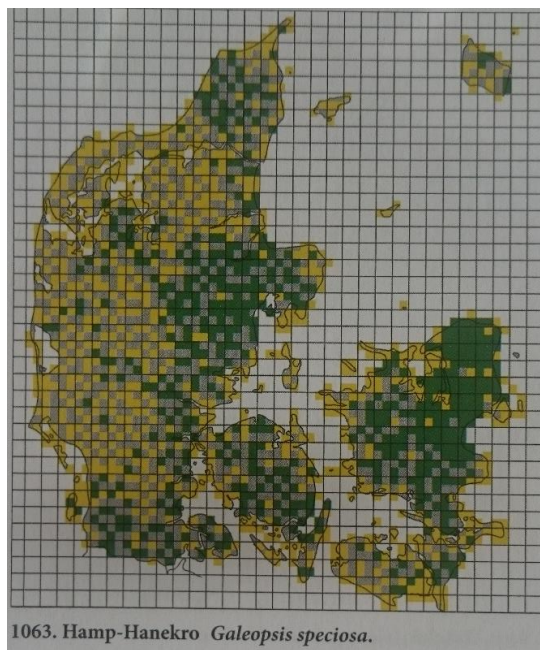
Bilag 1

Prøvetagningspriser

Prøvetagning	Pris, kr	Pris, kr
<i>10 ha</i>	<i>800 kr/mandetime</i>	<i>300 kr/mandetime</i>
Jordprøver, lab anbefalinger		
Udtagning af prøver, 1,5 time	1200	450
Forsendelse, pakke max 5 kg	300	300
Analyse, 10 prøver à 1200 kr	12000	12000
TOTAL	13500	12750
Jordprøver, dansk praksis		
Udtagning af prøve, 1,5 time à 800 kr	1200	450
Forsendelse, pakke max 1 kg	200	200
Analyse, 1 prøve à 1200 kr	1200	1200
TOTAL	2600	1850
20 plantep prøver, hanekro og alm. hejrenæb		
Udtagning af prøver, 1,75 timer	1400	525
Analyse, 20*10 min	2800	1050
TOTAL	4200	1575
20 plantep prøver, salatudplantningsplanter		
Udtagning af jordprøver, 2 timer	1600	600
Plantning af salat + pasning i 3 uger, 2 timer	1600	600
Analyse, 20*10 min	2800	1050
TOTAL	6000	2250

Bilag 2

Udbredelseskort



Figur 3 Udbredelse af alm. hanekro (øverst tv), alm. hejrenæb (øverst th), hamp-hanekro (nederst tv) og Skov-hanekro (nederst th) i Danmark. Grøn: presensrude; gul: absensrude; grå: utilstrækkeligt undersøgt rude uden fund. Fra Hartvig (2015)

Bilag 3

Vurdering af rodgaller på ukrudt i marken

*Projektet går ud på at undersøge om Hanekro og/eller Alm. Hejrenæb kan bruges som indikatorarter for forekomst af rodgallenematoden *Meloidogyne hapla* i marken. I juli 2015 fandt jeg tydelige rodgaller på Alm. Hejrenæb på en lokalitet i Bording og på Hanekro på en lokalitet i Sdr. Felding. Formålet med denne indsamling er at vise, om resultaterne er de samme på forskellige lokaliteter.*

For hver lokalitet skal der tages mindst 15, helst 20 prøver af hver planteart, og data for hver plante indtastes. Bemærk at der er 3 ark i excelfilen: I den første noteres grundlæggende oplysninger (dato for prøvetagning, hvornår problemer med *M. hapla* er konstateret i marken, afgrøde i år, forfrugt, JB-nr, GPS-koordinater og adresse for lokaliteten). I de to næste ark noteres resultaterne for vurdering af rodgaller på hhv. Alm. hejrenæb og Hanekro.

Materialer

- Spade
- Spand og vand, til at vaske rødder i
- Pincet
- Evt. lup
- Kamera (telefonkamera er OK)
- Plasticposer
- Vandfast tusch/mærkater

Data sendes til: emmachristiani@gmail.com

Rødder med galler lægges i en pose markeret med dato, art og prøvenummer og sendes til:

Mette Vestergaard
Sektion for Terrestrisk Økologi
Institut for Biologi
Københavns Universitet
Universitetsparken 15, Bygning 1
2100 København Ø

RING TIL MIG HVIS I HAR SPØRGSMÅL ELLER ER I TVIVL OM NOGET! TLF:
30237721

1. Prøvetagning

1.1 Kriterier for lokaliteten

Der skal have været konstateret rodgallenematoder i marken indenfor de sidste 3 år.

Herefter må der ikke have været bekæmpet med midler mod nematoder, kemisk bekæmpelse af ukrudt i korn eller græs-afgrøder og/eller sort brak. Konstateringen kan enten have været efter analyse af jordprøver, eller ved konstatering af visuelle symptomer på gulerødder.

1.2 Udtagning og forberedelse af prøverne

- 1) Der udtages 15-20 prøver af hhv. Hanekro ssp. og Alm. Hejrenæb pr. lokalitet. Gå gerne efter områder i marken hvor der "normalt" forventes angreb (Lars Møller kan give anvisninger), men tag prøverne i zig-zag mønster hen over området.
- 2) Vækststadiet noteres (se 2.1 Vurdering af vækststadie)
- 3) Grav planten op med en (lille) spade, ved at lave et stik 10-15 cm fra basis.
- 4) Toppen klippes evt. af, hvis det gør rodklumpen lettere at arbejde med.
- 5) Alt efter jordtype og fugtighed vil behovet for at vaske rødderne være forskelligt. Det er absolut lettest, hvis jorden ikke er alt for fugtig, så prøv at undgå at indsamle lige efter vanding/regn. For at kunne se gallerne, er det vigtigt at rødderne er rene. Det meste jord rystes forsigtigt fra rødderne, hvorefter de skylles ved at lægge hele rodklumpen i en spand/balje med 5-10 cm vand. Her kan man skylle det meste jord af uden at rødderne knækker, ved at trykke på rodklumpen, som vendes et par gange under proceduren. Der kan være behov for at skifte vandet undervejs.

1.3 Vurdering af rodgalledannelse

- 1) Rødderne bredes så godt ud som muligt, og lægges på et ensfarvet underlag.
- 2) Det tælles hvor mange rodgaller der er på hhv. primærrødder (der er forbundet direkte til den overjordiske del) og på sekundær/tertiær rødder (siderødder) (se 2.3 Placering af rodgaller). Tallene noteres i excelarket. Det kan være en fordel at have en pincet til at skille rødder, man har talt rodgaller på, fra dem man ikke har talt. Gallerne er normalt synlige med det blotte øje, men det kan måske være rart at have en lup til hjælp.
- 3) Tag et billede af rodsystemet og send det til mig sammen med excel-arket
- 4) Hvis der er galler på rødderne, lægges de på køl i en plasticpose, der mærkes med art, dato og prøvenummer, indtil de sendes til min vejleder Mette Vestergaard (adressen står på side 1)

2 Planter

2.1 Vurdering af vækststadie

Jo senere i udviklingen plantepróven tages, jo bedre, men det er ikke et krav, at de er nået til blomstring. For at kunne bruge plantepróven, skal den som minimum have 5 udfoldede blade/bladsæt (Alm. hejrenæb/Hanekro)

Markér vækststadiet af próven i excelarket efter følgende skala:

1. Inden strækningsvækst. Kun blade, blomsteranlæg ikke synlige
2. Planten er begyndt strækningsvækst og/eller blomsteranlæg er synlige (men ingen åbne blomster)
3. Blomster åbne, endnu ingen blomster afblomstret
4. Første blomster afblomstret, frømodning

2.2 Placering af rodgaller



Billedet er af en mini romaine 8 uger efter inokulering med *M. hapla*. De gule cirkler markerer eksempler på, hvor der er galler på primærroden, mens de blå markerer eksempler på hvor der er galler på sekundærrødder. Det er ikke alle galler der er markeret.

2.3 Identifikation

2.3.1. Hejrenæb



Blade ovale/ægformede, 2(-3) gange fjersnitdelte. 10-30 cm høj ved modning.
Skærmfornende blomsterstande med 2-7 blomster i hver. Kronblade 4-6 mm lange,
normalt lyserøde, sjældent hvide. 5-delelig spaltefrugt med tilbagebøjede frugstilke.

2.3.2 Hanekro

Der er fire almindeligt forekomne arter, tre med rødlig (sjældent hvide) blomster (Almindelig hanekro, Skov-hanekro og Sand-hanekro), og en art med gule blomster med violet (plet på) underlæben (Hamp-hanekro) som kun vanskeligt kan skilles ad morfologisk på andet end blomsterne. Det er OK at inkludere alle 4 arter, og I behøver ikke skelne mellem arterne!

Stængel firkantet, håret. Bladene er ægformede, spidse og savtakkede, sidder parvist. Blomsterstande i tætte kranse med store støtteblade. Kronen 13-35 mm med hvælvet overlæbe, 3-fliget underlæbe med hule, oprette tænder mellem midterfligen og de butte sideflige.

