



AKADEMIN FÖR TEKNIK OCH MILJÖ  
Avdelningen för elektronik, matematik och naturvetenskap

---

# Riskbedömning av skandinaviska isolat av *Sclerotinia homoeocarpa* vid olika klimat.

Anita Ejderdun

2015

Examensarbete, Grundnivå (kandidatexamen), 15 hp  
Biologi  
Trädgårdsmästarprogrammet med inriktning mot hälsa och design  
Trädgårdskunskap C

Handledare: Sandra A. I. Wright  
Examinator: Nils Ryrholm

---



## Abstract

Dollar spot is a fungal disease that affects grass, and is caused by the fungus *Sclerotinia homoeocarpa*. It was discovered for the first time in Scandinavia in 2013. Dollar spot is a very serious disease of grass in the United States and a lot of money is spent to control the fungus. In the present study, dollar spot development in potted turfgrass, caused by four geographically distinct, Scandinavian isolates of *S. homoeocarpa*, was investigated at three different temperatures; 6 °C, 15 °C and 21 °C. The objective was to identify the lowest temperature of development of disease, and to establish possible differences among the isolates with regard to disease development. The isolates used originated from Denmark, Norway and Sweden. The grass samples that were inoculated with *S. homoeocarpa* came from two golf courses in Sweden, located in Uppsala and in Gävle, respectively. Turf grass was dug out and placed in pots, and subsequently inoculated with fungal hyphae from cultures of *S. homoeocarpa*. These pots were individually covered with plastic bags and placed in different climate chambers at set temperatures. At three time points (day 7, 14 and 21), the ratio of area infected grass to total grass-covered area was estimated. After all the results had been analysed, it was concluded that dollar spot had the most severe disease development at 6 °C. Differences in disease development of dollar spot were also observed among the four isolates at different temperatures. There was a link between geographical origin of an isolate and its optimum temperature for disease development, which may suggest that the isolates can have adapted to the environment in which they have established themselves. *S. homoeocarpa* is apparently able to proliferate at low temperatures. The present study demonstrates it should be able to infect grass and establish in turf grass even in a colder climate, and thus it is very likely that dollar spot has gained a foothold in Scandinavia, and that it is here to stay. With climate change taking place, i.e. increasing temperatures and precipitation, which in turn results in elevated humidity, the disease will be able to establish and spread yet more, because the fungus thrives in humid conditions. If the climate zones will continue to move northward in the Nordic countries, it will increase the potential for continued establishment and spread of dollar spot.

Keywords: Dollar spot, *Sclerotinia homoeocarpa*, disease, temperature, cold climate

## Sammanfattning

Dollar spot är en svampsjukdom som drabbar gräs och som orsakas av svampen *Sclerotinia homoeocarpa*. Under 2013 upptäcktes dollar spot för första gången i Norden. Dollar spot är en mycket allvarlig grässjukdom i USA och man spenderar massor med pengar för att bekämpa svampen. I denna uppsats har sjukdomsutvecklingen av dollar spot, från fyra geografiskt skilda isolat, undersökts vid olika temperaturer; 6 °C, 15 °C och 21 °C. Detta för att hitta den lägsta tillväxttemperaturen hos svampen som orsakar sjukdomen och även för att upptäcka eventuell skillnad mellan de olika isolatens sjukdomsutveckling i gräs. Isolaten som använts i experimenten kom ifrån Danmark, Norge och Sverige. Gräsproverna som svampen *S. homoeocarpa* odlades på kom ifrån två golfbanor, från Uppsala respektive Gävle. Krukor med gräs inokulerades med *S. homoeocarpa* och dessa krukor placerades i klimatskåp som höll olika temperatur. Vid tre tidpunkter (dag 7, 14 och 21) lästes den infekterade gräsarean av. Efter att alla resultat hade sammanställts visade det sig att dollar spot hade den snabbaste och mest aggressiva sjukdomsutvecklingen vid 6 °C. Det fanns även skillnader i sjukdomsutveckling av dollar spot mellan de fyra isolaten vid olika temperaturer. Det fanns en viss koppling mellan geografisk härkomst och optimumtemperatur för sjukdomsutveckling hos isolaten, vilket kan tyda på att de kan ha anpassat sig till den omgivning som de etablerat sig i. Med de låga tillväxttemperaturer som svampen *S. homoeocarpa* klarar för infektion och etablering i grönytor är det mycket troligt att sjukdomen dollar spot fått fäste i Norden, och kommit för att stanna. Med de klimatförändringar som sker, dvs. ökade temperaturer och ökad nederbörd, som i sin tur medför förhöjd luftfuktighet, kommer sjukdomen att kunna breda ut sig ännu mer, eftersom svampen trivs vid hög luftfuktighet. Flyttas klimatzonerna högre upp i Norden kommer det att bidra till att utbredningen av dollar spot ökar.

Nyckelord: Dollar spot, *Sclerotinia homoeocarpa*, sjukdom, kallt klimat, temperatur

## Innehållsförteckning

Bakgrund .....	1
Gräsarter och deras användning i hårt klippta områden .....	1
Rödven ( <i>Agrostis capillaris</i> ) .....	1
Krypven ( <i>Agrostis stolonifera</i> ) .....	2
Rödsvingel ( <i>Festuca rubra</i> L) .....	2
Gröe ( <i>Poa</i> sp) .....	3
Grässjukdomar i Norden.....	3
Snö mögel ( <i>Microdochium nivale</i> ) .....	3
Trådklubba vit ( <i>Typhula ishikariensis</i> ) och röd ( <i>Typhula incarnata</i> ) .....	4
Gräsröta ( <i>Sclerotinia borealis</i> ) .....	4
<i>Fusarium</i> sp. ....	4
<i>Pythium iwayamai</i> .....	5
Dollar spot ( <i>Sclerotinia homoeocarpa</i> ) .....	5
Klimat .....	7
En ny svampsjukdom i Norden .....	8
Syfte.....	9
Frågeställningar .....	9
Material och metoder.....	10
Gräs.....	10
Petriskålar med odlingsmedium .....	12
Isolat .....	12
Klimatskåp.....	13
Beredning av inokulum .....	14
Inokulering .....	15
Skötsel av krukorna under experimentets gång.....	17
Luftning .....	17
Vattning och klippning .....	17
Testkruka .....	17
Avläsning.....	18
Okulärt.....	18
Kameradokumentering och avläsning i Geo 2013 .....	18
Isolaternas olika växtsätt i pettriskål .....	19
Dataanalys .....	20
Resultat .....	21
Undersökning av vid vilken temperatur som <i>S. homoeocarpa</i> kan växa och föröka sig .....	23
Sjukdomsutveckling över tid för olika isolat och de olika experimenten. ....	24
Skillnad mellan temperatur och odlingsomgång. ....	25
Morfologiska karaktärer och temperaturoptima för de olika isolaten. ....	28
Diskussion .....	33
Tack!.....	38
Referenser.....	39
Bilagor .....	41
Bilaga 1: Ordlista.....	41
Bilaga 2: Temperatur i växthuset och skötsel av gräset. ....	42
Bilaga 3: Temperatur i odlingsrummet och skötsel av krukorna med gräs. ....	43
Bilaga 4: Temperaturloggning i klimatskåp 6 °C.....	44

Bilaga 5: Temperaturloggning i klimatskåp 15 °C.....	45
Bilaga 7: Koordinater till GEO 2013.....	47

# Bakgrund

Gräs är något som vi omger oss med. Vi har det i våra trädgårdar, och i de offentliga parkerna finns det ofta stora gräsbeklädda ytor, där vi kan utföra olika aktiviteter. Det finns även många olika typer av idrottsanläggningar som har stora gräsytor och några av dem är till exempel fotbollsplaner, basebollplaner samt golfbanor.

Beroende på vad gräsytan ska användas till finns det flera olika sorter och arter som har olika användningsområden. Innan de olika grässorterna hamnar i våra gräsytor har växtodlare korsat olika plantor med varandra och därför kan det finnas skillnader hos sorterna inom samma art (Kvalbein & Aamlid, 2012)

## Gräsarter och deras användning i hårt klippta områden

De sorter som tas upp används ute på golfbanorna och flera av dessa sorter kan användas på flera olika ställen såsom på tee, fairway, greener samt i ruffen. Många av sorterna finns i olika fröblandningar för att öka gräsytans hållbarhet. Men flera av dessa sorter kan vi även hitta i parker, trädgårdar och som friväxande ute i vår natur.

### Rödven (*Agrostis capillaris*)

Rödven klarar av att klippas ner till ca 3 mm och kan användas ute på golfbanornas greener, fairways samt i den klippta och höga ruffen (Kvalbein & Aamlid, 2012).

Friväxande gräs kan bli runt ca 60 cm högt (Naturhistoriska riksmuseet, 2008).

Rödvenen har ett upprätt växtsätt (Kvalbein & Aamlid, 2012) och gräsbladens bredd är ca 2 till 4 mm (Mossberg & Stenberg, 2010). Gräset kan skapa kompakta gräsytor (Kvalbein & Aamlid, 2012) och gräset har en kort jordstam (Naturhistoriska riksmuseet, 2008; Kvalbein & Aamlid, 2012), men den skickar även ut utlöpare ovanför jorden (Kvalbein & Aamlid, 2012). Övervintringsförmågan hos gräset skiftar mellan olika sorter av rödven och det är känsligt mot svampinfektioner (Kvalbein & Aamlid, 2012). Det kan därför vara lämpligt att använda rödven i olika gräsblandningar som t.ex. med rödsvingel (Kvalbein & Aamlid, 2012).

### Krypven (*Agrostis stolonifera*)

Krypven är ett tåligt gräs som klarar att klippas ner till runt ca 3 mm och används ofta ute på golfbanors greener, tee och fairway (Kvalbein & Aamlid, 2012). *A. stolonifera* har ett krypande växtsätt genom att den skickar ut stoloner (Kvalbein & Aamlid, 2012) och vid noderna rotar sig sedan gräset om det finns gott med utrymme att växa på utan någon större rivalitet från andra växter (Naturhistoriska riksmuseet, 2000). Gräsets bladfärg kan skifta mellan grå och blågrön och bladens bredd kan variera mellan 2 till 8 mm (Mossberg & Stenberg, 2010). Krypven är frosttålig och klarar att vara under ett istäcke en längre tid (Kvalbein & Aamlid, 2012).

### Rödsvingel (*Festuca rubra* L)

Rödsvingel är inget snabbväxande gräs men klarar av att växa på platser som inte har så mycket näring. Det har flera olika användningsområden som t.ex. i parker och trädgårdar och kan även användas som grästak (Kvalbein & Aamlid, 2012). Ute på golfbanor kan rödsvingel användas på greener, fairway samt i ruffen (Kvalbein & Aamlid, 2012). Rödsvingel klarar av att klippas ner till 5 mm (Kvalbein & Aamlid, 2012), men får gräset växa vilt kan det bli mellan 25 till 80 cm högt (Mossberg & Stenberg, 2010). Bladen hos rödsvingel är smala och de kan vara ihoprullade men det vanligaste är att de är platta (Naturhistoriska riksmuseet, 2010).

Rödsvingel (*F. rubra* ssp *commutata*) saknar utlöpare och har en bra motståndskraft mot sjukdomar och klarar vintrarna bra. Denna art passar bra till greener men även till gräsmattor eftersom den bildar en tät gräsmatta (Kvalbein & Aamlid, 2012).

Rödsvingel (*F. rubra* ssp *litoralis*) som har korta utlöpare klarar inte vintrarna lika bra som rödsvingeln som saknar utlöparna. Rödsvingel med de korta utlöparna har däremot en bättre förmåga att läka ihop de skador som har uppstått i gräsmattan (Kvalbein & Aamlid, 2012).

Rödsvingel (*F. rubra* ssp *rubra*) har långa utlöpare vilket gör att det blir glest mellan stråna. Tillsammans med de två andra underarterna av rödsvingel passar *F. rubra* ssp *rubra* bra på fairway i olika fröblandningar och detta beror på att *F. rubra* ssp *rubra* håller sig fin under de perioder som är torra (Kvalbein & Aamlid, 2012).

## Gröe (*Poa* sp)

Vitgröe (*P. annua*) klarar av den hårda klippning som krävs på en green (Kvalbein & Aamlid, 2012) men som friväxande gräs kan den bli mellan 5 till 25 cm (Mossberg & Stenberg, 2010). Gräsbladens bredd kan variera mellan 2 till 5 mm (Mossberg & Stenberg, 2010). Den har ett ytligt rotsystem och sprider sig med rhizomer och frön. Det kan vara dyrt att underhålla vitgröebanor eftersom de är skötselkrävande och det går åt massor med vatten och gödsel samt att de behöver växtskyddsmedel. Vitgröe är dessutom känsligt för svampinfektioner (Kvalbein & Aamlid, 2012).

Ängsgröe (*P. partensis*) kan klippas ner till 10 mm om det är kallt klimat, bra ljus och jämn gödsling. Fröna från ängsgröe gror långsamt och inte lika snabbt som vitgröens frön. Ängsgröe klarar vintrarna bra och har en bra motståndskraft mot snömögel men det kan skifta mellan de olika sorterna. Användningsområden för ängsgröe kan vara idrottsanläggningar, parker och trädgårdar (Kvalbein & Aamlid, 2012).

Vid val av gräs är det mycket viktigt att välja rätt gräs för rätt ändamål (Smiley, et al., 2005). Några saker som man bör ta hänsyn till kan vara; gräsen olika klipphöjd, övervintringsförmågan samt sjukdomsresistens (Kvalbein & Aamlid, 2012). Trots att de grössorter som används ofta är anpassade till det Nordiska klimatet (Tronsmo, 2012) är det flera grössorter som är känsliga för olika svampar (Kvalbein & Aamlid, 2012).

## Grässjukdomar i Norden

Det finns svampar i olika storlekar och vissa har samma storlek som en bakterie medan andra blir stora svampar (Smiley, et al., 2005) som man kan plocka i skogen. De livnär sig på levande eller döda växter för att få i sig växternas klorofyll och i gräsmattan kan symptomen vara fläckar som kan skifta i olika färger beroende på vilken svamp som har angripit gräset (Smiley, et al., 2005).

### Snömögel (*Microdochium nivale*)

Snömögel kan ses efter att snötäcket försvunnit (Tronsmo, 2012) eller om vädret har varit kallt och fuktigt under en tid (Smiley, et al., 2005; Tronsmo, 2012). Snömögel utvecklas i temperaturerna mellan -1 °C och +3 °C (Tronsmo, 2012) men svampen trivs bra upp till 16°C (Smiley, et al., 2005). I gräset syns ett gråvitt och luftigt mycel som

bildar runda fläckar i gräset (Tronsmo, 2012). Dessa fläckar kan bli mellan 5 (Tronsmo, 2012) till 20 cm i diametern (Tronsmo, 2012; Smiley, et al., 2005).

### Trådklubba vit (*Typhula ishkariensis*) och röd (*Typhula incarnata*)

Trådklubba trivs i fuktigt och kallt klimat i snötäckta områden där snön kan ligga i flera månader. När snön smälter undan efter 3 till 6 månader (Tronsmo, 2012) framträder de infekterade områdena som gråbruna fläckar med ett gråvitt tunt mycel (Tronsmo, 2012; Smiley, et al., 2005). Dessa fläckar kan bli mellan 3 till 100 cm stora (Smiley, et al., 2005) och svampen sprids med mycel eller med sporer (Tronsmo, 2012). Gräset får en silvergrå till ljusbrun färg och bladen blir mycket sköra (Tronsmo, 2012).

### Gräsröta (*Sclerotinia borealis*)

Gräsröta är en svamp som trivs när det är väldigt kallt och kan växa ända ner till -5 °C (Smiley, et al., 2005) men den bästa tillväxten har svampen mellan 3 °C till 6 °C (Tronsmo, 2012). Svampen trivs på de ställen där snötäcket täcker marken (Smiley, et al., 2005) mer än 6 månader och på våren när snösmälter undan syns det ljusa fläckar (Tronsmo, 2012) med vattensjukt (Smiley, et al., 2005) eller dött gräs (Tronsmo, 2012) som är täckt med ett grått mycel (Smiley, et al., 2005). På sommaren när det blir för varmt och ogynnsamt för svampen bildar den sklerotier. Under hösten när det är fuktigt och kallt börjar sklerotierna utvecklas till fruktkroppar som innehåller sporsäckar och de kan även bilda mycel (Tronsmo, 2012).

### *Fusarium* sp.

Svamparna av släktet *Fusarium* trivs när det är varmt och fuktigt men även när det är varmt och torrt (Smiley, et al., 2005). På sommaren kan det synas ljusgröna till rödgula områden i gräset som är mellan 2 till 30 cm stora och innan gräset dör ändrar det färg till ljusgult (Pettersson & Åkesson, 2011) Svampen kan angripa etablerat gräs som är stressat och även unga plantor kan drabbas (Smiley, et al., 2005) Under de fuktiga och varma perioderna bildas det ett vitrosa mycel i gräset (Smiley, et al., 2005). Svampen kan sprida sig med hjälp av mycelet och med de bananformade korniderna (Smiley, et al., 2005). När vinter kommer kan svampen övervintra i plantor som blivit infekterade under sommaren och i vissa fall som klamydiospor i växter eller i jorden (Smiley, et al., 2005).

## *Pythium iwayamai*

*Pythium iwayamai* är en algsvamp som trivs när marken under snön är blöt eller om det har regnat under en längre tid och marken inte har torkat upp (Tronsmo, 2012). Vid 0,5 °C utvecklas algsvampen snabbt (Smiley, et al., 2005; Tronsmo, 2012) och har en förmåga att bilda zoosporer (Smiley, et al., 2005) som förflyttar sig med hjälp av vatten. När gräset drabbats av *Pythium* bildas det gula fläckar i gräsmattan (Tronsmo, 2012).

## Dollar spot (*Sclerotinia homoeocarpa*)

Dollar spot, eller *Sclerotinia homoeocarpa* som svampen heter på latin, finns runt om i världen (Smiley, et al., 2005) och i norra delen av USA anses svampen vara en mycket allvarlig grässjukdom på golfbanor (Allen, et al., 2005; Rioux, et al., 2014). Varje år spenderas massor med pengar för att bekämpa *S. homoeocarpa* (Allen, et al., 2005; Rioux, et al., 2014). Under 2013 togs det några prover på en golfbana i Norge som visade sig innehålla *S. homoeocarpa* (Espevig, et al., 2014) och nu har svampen även hittats i Sverige och Danmark. Det finns flera olika möjligheter om hur *S. homoeocarpa* kommit till Norden; Rioux, m.fl. (2014) har i en undersökning kommit fram till att svampen kan spridas med gräsfröna som säljs på marknaden (Rioux, et al., 2014) och Smiley m.fl. (2005) tar upp att svampen kan sprida sig med infekterade gräsblad som förflyttat sig med hjälp av vatten, vind, djur, människor eller med golfutrustningar eller annan utrustning (Smiley, et al., 2005).

Namnet dollar spot har sjukdomen fått efter ett mynt, silver dollar, och det är på grund av de ljusa halmfärgade fläckarnas storlek i gräset som uppkommit efter en infektion av *S. homoeocarpa* (Allen, et al., 2005). Dessa runda infektionsskador som uppstår i gräset är ca 5 cm i diameter (Smiley, et al., 2005) och när de olika cirklarna växer ihop bildas det oregelbundna fläckar i gräset (Bennett, 1937; Smiley, et al., 2005). På kortklippta gräsmattor som infekterats av *S. homoeocarpa* bildas det gropar i gräset, eftersom det angripna gräset torkar ut, och då försvinner



Figur 1: Grässtrå som infekterats av *S. homoeocarpa* och en midja har bildats. Bild: Anita Ejderdun

även mycelet som fanns i gräsmattan (Smiley, et al., 2005). I högt gräs som drabbats av *S. homoeocarpa*; smalnar strået av på mitten där infektionen uppstod och grässtrået får som en midja 3 (Figur 1) (Smiley, et al., 2005; Allen, et al., 2005). När grässtrået blir angripet av *S. homoeocarpa* bildas det en såryta som får ett rödbrunt (Smiley, et al., 2005) till brunt (Allen, et al., 2005) band runt den skadade ytan. Den skadade ytan kan gå tvärs över hela grässtrået men ibland kan det finnas flera små infektioner som kan vara ovala eller runda (Smiley, et al., 2005). Är det flera skador på ett grässtrå kan det hända att de växer ihop med varandra (Allen, et al., 2005). De nekroser som uppstår i gräset beror på att *S. homoeocarpa* utsöndrar enzymer och gifter (Allen, et al., 2005) som bryter ner gräsets celler. Det är inte bara grässtrået som påverkas av svampens giftiga ämne utan även gräsrötterna förstörs genom att rötterna blir tjocka och slutar upp att växa på längden samt att rothåren försvinner (Allen, et al., 2005).

När gräset dör eller om miljön blir ogynnsam för svampen vilar mycelet i det infekterade gräset (Smiley, et al., 2005). Svampen kan även bilda stroma (Allen, et al., 2005; Rioux, et al., 2014; Smiley, et al., 2005) och de är uppbyggda av svampens hyfer som växer samman (Allen, et al., 2005). För *S. homoeocarpa* är detta ett sätt att överleva vintrarna på (Rioux, et al., 2014) och genom att *S. homoeocarpa* kan bilda stroma medför det att svampen kan klara sig under lång tid i gräs eller i jorden (Allen, et al., 2005). Men *S. homoeocarpa* anses inte vara någon jordburen patogen eftersom svampen har svårt att klara sig utan några växter (Rioux, et al., 2014). Det kan finnas geografiska skillnader mellan olika isolat (Smiley, et al., 2005). Rioux, et al. (2014) nämner i sin rapport att man i Storbritannien tidigare har funnit *S. homoeocarpa* som kan bilda konidier eller fertila apotecier, svampen hittades på Rödsvingel (*Festuca* sp.) (Rioux, et al., 2014). Medan man i Nordamerika inte har hittat någon *S. homoeocarpa* som bildar sporer (Smiley, et al., 2005). Det finns även fler skillnader och det är färgskillnader mellan olika isolat (Bennett, 1937). Trots vissa skillnader mellan olika isolat växer *S. homoeocarpa* ofta i kvävefattiga miljöer och det beror på att kvävefattigt gräs har en lägre motståndskraft (Allen, et al., 2005). *S. homoeocarpa* utvecklas mycket bra när det är torrt i marken (Smiley, et al., 2005; Allen, et al., 2005) och när luftfuktigheten är väldigt hög (Smiley, et al., 2005).

Svampen trivs som bäst när det är varmt och fuktigt på dagarna och nätterna är svala eftersom det då bildas dagg (Smiley, et al., 2005). När luftfuktigheten är hög bildar svampen ett luftmycel som sträcker sig mot ett annat grässtrå (Smiley, et al., 2005).

Svampens hyfer angriper gräset genom att ta sig in via olika sårskador som uppkommit i gräset och genom gräsets klyvöppningar samt att hyferna även kan penetrera rakt igenom gräsets bladvägg (Allen, et al., 2005; Smiley, et al., 2005).

Mellan grässtråna bildas det ett vitt mycel som påminner om bomull eller ett spindelnät (Smiley, et al., 2005; Figur 2).

För att mycelet ska börja utvecklas behövs det rätt

temperaturer och för de flesta isolaten av *S. homoeocarpa* ligger den bästa tillväxttemperaturen mellan 15 °C till 32 °C (Allen, et al., 2005) men det finns isolat som klarar av att växa i lägre temperaturer, mellan 0 °C till 5 °C (Bennett, 1937).

Svampen är aktiv under hela vegetationsperioden men under våren och hösten är svampens tillväxt som störst i samband med den högre luftfuktigheten (Bennett, 1937; Allen, et al., 2005).



Figur 2: *S. homoeocarpa* sträcker sig mellan de fuktiga grässtråna och väver in dem. Den vita vadden som syns på bilden är mycel och en daggdropp som finns i gräset. Foto: Anita Ejderdun

## Klimat

Det svenska klimatet har påverkats av klimatförändringar och det märks genom ökad nederbörd samt högre temperaturer (Kjellström, et al., 2014). Eftersom temperaturen stiger kommer säsongen med snö att bli kortare (Kjellström, et al., 2014) och det innebär att vegetationsperiodens längd för växtligheten förlängs (Svensson, et al., 2007). Under de senaste fyra decennierna har perioden förlängts med två veckor i norra delen av Sverige (SMHI, 2014). Vegetationsperiod innebär att dygnsmedeltemperaturen ligger över en viss temperatur och hos SMHI utgår man från 5°C vid sina mätningar (SMHI, 2014). Men hos en växt kan vegetationsperioden börja någonstans vid 3 till 5

°C (SMHI, 2014). Med allt högre temperaturer kommer klimatzonerna hela tiden förflyttas längre norrut (Kjellström, et al., 2014) och det medför att även odlingsgränsen för växter flyttas längre norrut (Svensson, et al., 2007)

## En ny svampsjukdom i Norden

På Losby Golf i Norge hade man uppmärksammat att det fanns runda ringar i gräsmattan. Prover togs som sedan visade sig vara dollar spot. Man hade inte förväntat sig att det var dollar spot man hade hittat på grund av det klimat som man har i Norge (Espevig, et al., 2014). Efter upptäckten av *S. homoeocarpa* under 2013 på Losby Golf i Norge visade det sig även att några andra golfbanor i Norden också hade drabbats av dollar spot. Mälarö Golfklubb Skytteholm i Sverige samt Fredensborgs Golfklubb och Helsingör Golfklubb i Danmark. Ett samarbete påbörjades mellan de Nordiska länderna. Denna C-uppsats är en del av samarbetet och Bioforsk i Norge har bidragit med isolat av svampen *S. homoeocarpa* från alla fyra golfbanor. I Norge har man nu gett dollar spot namnet myntfleck (Espevig, et al., 2014).

# Syfte

I detta examensarbete har undersökts hur tillväxten av *S. homoeocarpa* påverkas av det nordiska klimatet. Undersökningen går ut på att testa svampens tillväxt vid olika temperaturer som 6 °C, 15 °C och 24 °C, samt att se om de fyra isolat från de olika Nordiska länderna skiljer sig åt med avseende på tillväxt, aggressivitet och sjukdomsutveckling vid dessa temperaturer.

## Frågeställningar

- Vid vilken temperatur kan *S. homoeocarpa* växa och föröka sig?
- Finns det någon skillnad i angrepp av gräs mellan de isolat som kommer från Norge, Danmark och Sverige vid olika temperaturer?
  - Hur utvecklade sig de olika isolaten över tid vid olika temperaturer?
  - Vilka temperaturoptima för sjukdomsutveckling har de olika isolaten?
  - Finns det någon morfologisk skillnad som kan kopplas till geografisk skillnad mellan isolaten?

# Material och metoder

## Gräs

Till projektet hämtades gräs från Söderby golfklubb i Uppsala. Greenen som gräsproverna hämtades ifrån bestod av 3 olika sorters krypven (eng. creeping bentgrass) för att göra det mer hållbart. Gräset innehöll mest av grässorterna Penn A-4 och Penncross och minst av sorten Memorial. Gräsproverna hämtades 39 dagar före inokuleringen på grund av att gräset annars skulle ha besprutats med bekämpningsmedel mot svamp inför vintern. Gräsproverna togs ut med hjälp av en hålborr (Figur 3) som trycktes ner i jorden och proverna som sedan plockades upp från greenen var ca 10 cm i diametern och djupet var 10 cm (Figur 4). Gräsproverna placerades därefter direkt i plastkrukor (Figur 5).



Figur 3: Hålborr för gräsprover. Foto: Anita Ejderdun



Figur 4: Hål i greenen efter gräsprovet tagits upp med hjälp av en hålborr. Foto: Anita Ejderdun



Figur 5: Gräsprover som plockats upp från greenen placerades i plastkrukor. Foto: Anita Ejderdun

Efter att proverna hämtats från golfbanan fick de stå utomhus mot en husvägg i fyra dygn i sydvästlig riktning och därefter flyttades alla 40 krukor in i ett kallväxthus. I samband med flytten av krukorna fylldes det på med enbart planteringsjord i krukorna. Jorden var inhandlad på Plantagen och var deras eget märke. Plastkrukorna som användes hade varierande storlek och därför var det en varierande jordmängd i varje kruka. Dessutom hämtades ytterligare 40 nya krukor med gräs till projektet från en reservgreen på Gävle golfklubb. Detta gräs hade besprutats ca en månad tidigare. Gräsproverna placerades i plastkrukor som alla hade samma storlek. Gräset bestod av en

sorts krypven, sk; Penncross. Krukorna fylldes upp med en jord- och sandblandning som bestod av sand från gräsproverna och planteringsjord (från Plantagen). Sandjord användes till Gävlegräset. Sandjorden är mer porös och släpper igenom vatten lättare än planteringsjorden som har en större vattenhållande förmåga. Planteringsjord användes till Uppsalagräset. Krukorna placerades i kallväxthus bredvid de andra 40 krukorna från Söderby golfbana i Uppsala. Temperaturen i växthuset pendlade mellan 4 °C och 24,1 °C under den tid som temperaturmätningen pågick (se Bilaga 2).

Alla gräsprover, både från Uppsala och från Gävle, flyttades sedan till ett odlingsrum inne på högskolan för att de skulle luras tro det var sommar och växa till sig innan inokuleringen skedde (se Bilaga 3). Till en början var dagsljuset det enda ljus som de hade tillgång till, men sex dagar efter inflyttningen placerades växtarmatur över gräset. Tiden ställdes in för hur länge lamporna skulle lysa, 16 timmar dag och 8 timmar natt. Växtarmaturen som användes var en 15 W lågenergilampa för växtbelysning, Megama® Plant lamp (NRO 4914172).

Gräsproverna klipptes vid behov för att vara ca 5 mm långt och därmed efterlikna greengräset. Vid varje klippning användes en vanlig sax och eftersom klippningen gjordes för hand var det svårt att få en exakt jämn längd på gräset. Den första omgången (Uppsala) med gräs fick mer vatten än den andra omgången (Gävle). Gräset från Uppsala fick näring vid två tillfällen medan gräset från Gävle fick näring tre gånger. Näringen som användes köptes in på Blomsterlandet och tillverkas av Hasselfors Garden. Näringen bestod av brustabletter som sedan löstes upp i vatten. Tablettorna innehöll vattenlöslig oorganiskt gödsel som enligt varudeklarationen bestod av (vikt procent): kväve/nitrogen (N) 4,8 %, ammoniumkväve (NH<sub>4</sub>-N) 4,8 %, fosfor (P) 5,1 % samt kalium (K) 4,8 %. Doseringen av näringen var 1 brustablett per 2 liter vatten. Burken innehöll 20 tabletter och nettovikten var 80 g. Totalt användes 12 tabletter på totalt 240 krukor som vattnades med näring vid tre tillfällen.

## Petriskålar med odlingsmedium

Odlingsmediet är tillverkat av Merck KGaA (Darmstadt, Tyskland) innehåller (g/liter): Potatis infusion 2,0 (infusion från 100 g potatis); D (+) glukos 10,0; Pepton från kött 2,25; Köttextrakt 1,35 och Agar 12,9. Petriskålarna fylldes med ett medium som är gjort på 50 % PDA (Potato Dextrose Agar) och 45 % NA (Nutrient Agar). Mediet gjordes lite fastare för det skulle vara lättare att skrapa av mycelet från PDA utan att få med något medium vid inokuleringen av gräset.

## Isolat

Från Bioforsk Öst Landvik i Norge skickades fyra olika isolat. Två isolat kom ursprungligen från Danmark, ett isolat från Norge och ett från Sverige (Tabell 1). Samtliga isolat inkom till Bioforsk Öst Lanvik under golfsäsongen 2014.

Tabell 1: Isolaternas ursprungliga härkomst; från vilket land, golfklubb och i vilket gräs som svampen växte på samt när smittan upptäcktes.

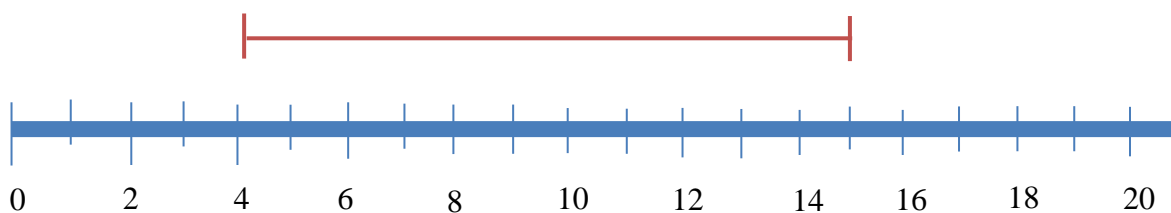
Isolat	Namn på isolat	Land	Golfklubb	Gräs	Smittan upptäcktes
14.11.1	Danmark 1	Danmark	Fredensborg Golfklubb	Krypven Rödsvingel Rödven Vitgröe	2014
14.12.4	Norge	Norge	Losby Golfklubb	Krypven Rödsvingel Rödven	2011
14.13.1	Danmark 2	Danmark	Helsingör Golfklubb	Krypven Rödsvingel Vitgröe	2014
14.18.1	Sverige	Sverige	Mälärö Golfklubb Skytteholm	Krypven	2014

## Klimatskåp

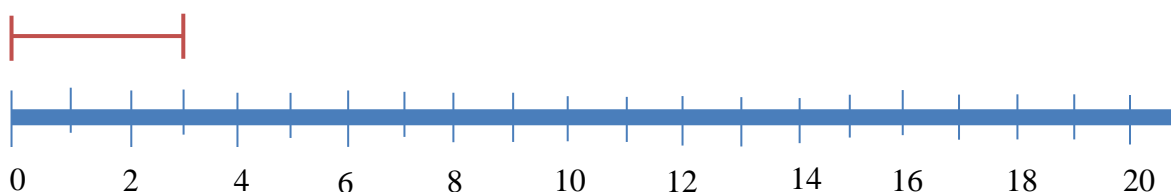
Klimatskåpen var ombyggda restaurangkylskåp. Eftersom det är före detta kylskåp som inte är gjorda för att hålla den exakta temperaturen hade de en differens på ett par grader. Skåpen ställdes in på olika temperaturer: 6 °C, 15 °C samt 24 °C. I skåpen installerades ledbelysning som skulle skapa dag och natt och timern som fanns i varje klimatskåp ställdes in på 16 timmar dag och 8 timmar natt.

Under den första odlingsomgången var det problem med klimatskåpen. Vid flera tillfällen lästes temperaturen av med en logger, som placerades i skåpen av kunnig person som jobbar med kylskåp. Företaget Niwentec AB gjorde avläsningen på loggarna och skickade sedan över loggdata (Bilaga 4a-b, 5a-b samt 6).

- ❖ Temperaturen i klimatskåp 6 °C pendlade i första omgången från ca 5 °C upp till nästan 11°C. Temperaturen steg ca 3 gånger per dygn. Temperaturmätningen pågick mellan dag 4 och dag 15 (Figur 6) Se Bilaga 4a. Under andra omgången fluktuerade temperaturen mellan 5,9 °C + upp till ca 6,5 °C. Temperaturmätningen pågick mellan dag 0 till dag 3 (Figur 7, samt Bilaga 4b).
- ❖ Temperaturen i klimatskåp 15 °C pendlade under första odlingsomgången mellan 14 °C och nästan upp 25 °C. Temperaturmätningen pågick mellan dag 4 och dag 15 (Figur 6). Se bilaga 5a för första odlingsomgången i klimatskåp 15 °C. Under andra omgången pendlade temperaturen i skåpet mellan ca 13,5°C upp till ca 15 °C. Temperaturmätningen pågick mellan dag 0 till dag 3 (Figur 7, samt Bilaga 5a och 5b).
- ❖ Temperaturstyrningen i klimatskåp 24 °C var under första omgången ur funktion och skåpet användes därför inte. Under andra omgången pendlade temperaturen mellan 23 °C upp till 25 °C (Bilaga 6).



Figur 6: Tidsintervallet då temperaturen avlästes med en logger i klimatskåpen som var inställda på 6 °C respektive 15 °C. I den första odlingsomgången pendlade temperaturen i klimatskåpen och temperaturmätningen skedde med en logger mellan dag 4 och dag 15. Temperaturen pendlade i klimatskåpen (se Bilaga 4a och 5a). Den röda linjen anger under hur lång tid som temperaturmätningen gjordes och den blåa linjen anger hur många dagar odlingsförsöket pågick.



Figur 7: Tidsintervallet då temperaturen avlästes med en logger i klimatskåpen som var inställda på 6 °C respektive 15 °C. I den andra odlingsomgången skedde temperaturmätningen mellan dag 0 och dag 3. Under denna mätperiod höll klimatskåpen en jämn temperatur (se Bilaga 4b och 5b). Den röda linjen anger under hur lång tid som temperaturmätningen gjordes och den blåa linjen anger hur många dagar odlingsförsöket pågick.

## Beredning av inokulum

Dessa fyra isolat med *S. homoeocarpa* ympades över på 40 olika petriskålar. Från varje isolat skars det ut 10 små bitar som ympades i en ny skål med PDA+NA. Tio skålar per isolat gjordes i ordning och staplades ovanpå varandra med locket uppåt med en plastpåse runt för att skapa en fuktig miljö för svampen. Skålarna med *S. homoeocarpa* placerades i ett skåp med glasdörrar och kunde på så sätt få dagsljus och konstant värme för att kunna växa. Efter ett dygn vändes petriskålarna upp och ned eftersom ympen vuxit fast i skålen. Genom att vända på skålen undveks kondens som skulle kunnat bildas och droppa ner i odlingsmediet. På detta sätt minskades risken för att bakterier skulle kontaminera svampkulturen.

Vid första stora inokuleringen med gräs från Uppsala var isolaten av *S. homoeocarpa* 14 dagar gamla och vid den andra inokuleringen med gräs från Gävle var isolaten 7 dagar gamla.

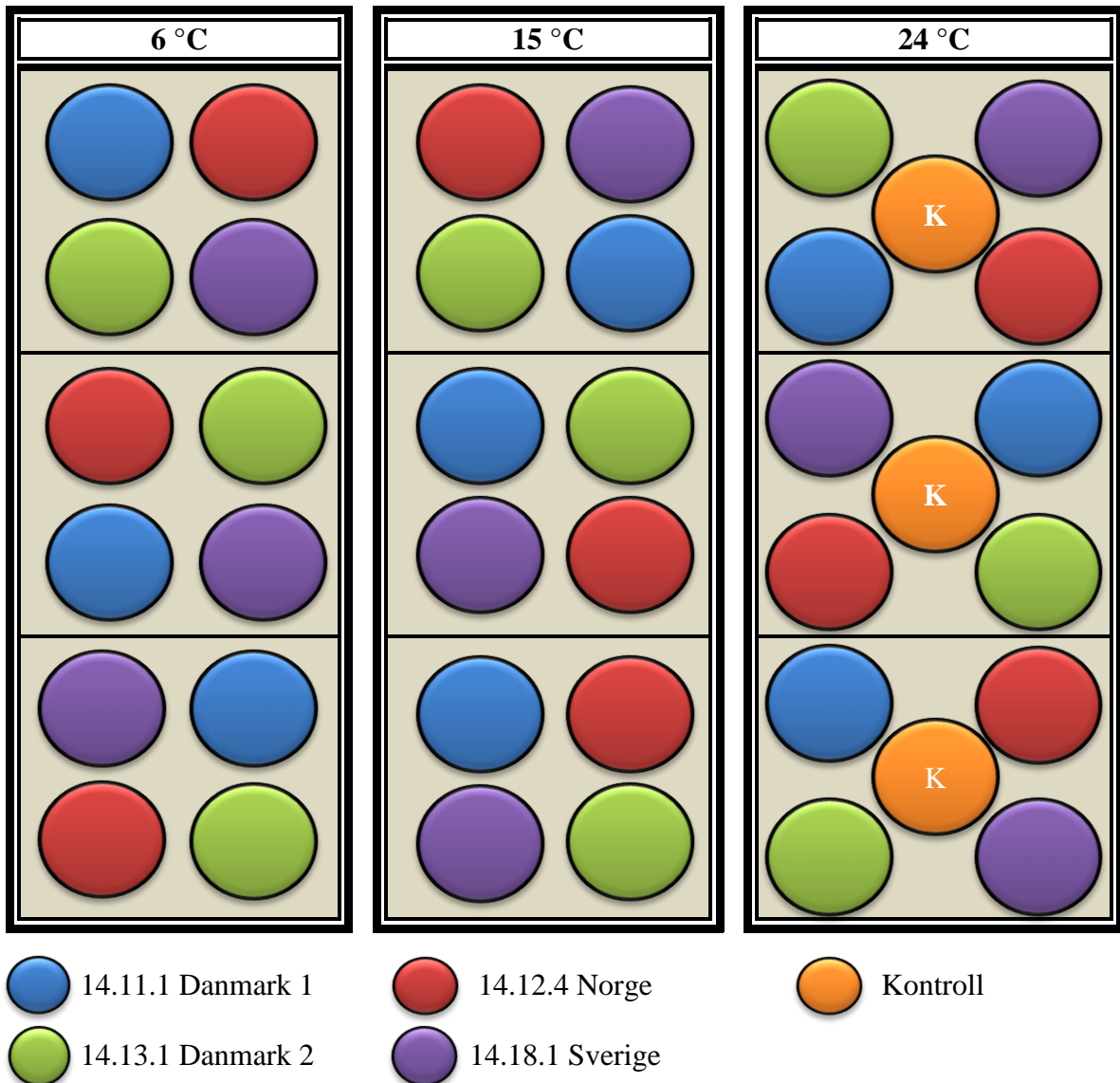
## Inokulering

Inokuleringen på den första omgången med gräs från Uppsala gjordes den 20 oktober 2014 och den andra omgången med gräs från Gävle gjordes den 14 november 2014. Inokuleringarna gjorde enligt den metod som användes i Norge (Espevig, et al., 2014).

Tre timmar efter att gräset klipptes startade inokuleringen av gräset. De 39 krukorna med gräs placerades i plastpåsar, som efter inokuleringen knöts ihop för att skapa en fuktig miljö för *S. homoeocarpa* samt för att undvika spridning av mycel mellan krukorna. Till varje kruka användes allt mycel från en petriskål med *S. homoeocarpa* samt 50 ml sterilt vatten. Mycelet skrapades försiktigt av från plattan för att undvika att få med odlingsmediet som svampen växte på. Detta skulle kunna ha givit näring åt svampen efter inokuleringen av gräset. Mycelet lades i en steril skål med några droppar sterilt vatten och med hjälp av två skalpeller finfördelades mycelet. I skålen med mycelet fylldes det på med lite mer vatten och sedan hälldes lösningen över i en annan skål med pip för att lättare kunna hälla suspensionen över gräset. Vätskan var i ständig rörelse genom att skålen som vickades lite för att undvika att stora klumpar av mycel ansamlades på ett ställe. Mycelet skulle fördelas jämnt över hela krukans yta och för att få med allt mycel sköljdes skålen med steriliserat vattnet. Plastpåsen som krukorna var placerad i knöts ihop efter inokuleringen.

Varje kruka märktes upp med datum då inokuleringen ägde rum, namn på det isolat som det innehöll, inkubationstemperatur samt ett löpnummer. Nio krukor smittades med ett isolat. Sammanlagt var det 36 dvs. 9x4 krukor som inokulerades. Dessa krukor ställdes sedan i olika klimatskåp. Tre krukor med varje isolat inkuberades vid 6 °C, 15 °C resp. 24 °C (Figur 8). Det fanns en kontrollgrupp med tre krukor som omgavs med var sin plastpåse runt sig och dessa krukor placerades i 24 °C (Figur 8).

## Klimatskåpen Experimentell design



Figur 8: Den experimentella designen visar hur krukorna placerades i klimatskåpen. I varje klimatskåp ställdes det in tre krukor från varje isolat. Sammanlagt placerades det 12 infekterade krukor i varje klimatskåp plus 3 kontrollkrukor, som ej blivit infekterade med *S. homoeocarpa*, i klimatskåp 24 °C. Krukorna hade ingen fast plats utan ställdes slumpvis in i rätt klimatskåp. Innan krukorna placerades i klimatskåpen märktes de upp med vilket isolat de blivit infekterat med samt i vilken temperatur de skulle behandlas.

Första omgången krukor som skulle placeras i 24 °C, de med gräs från Uppsala, kunde inte placeras i klimatskåpet då det växlade väldigt i temperatur. De fick därför stå i ett rum som höll 20 °C till 22 °C. Dagen efter inokuleringen placerades växtarmatur ovanför krukorna. Den ställdes med hjälp av en timer in på 16 timmar dag och 8 timmar

natt. Dessa krukor fick sedan stå kvar i rummet under hela experimentet som pågick under tre veckor.

## Skötsel av krukorna under experimentets gång

### Luftning

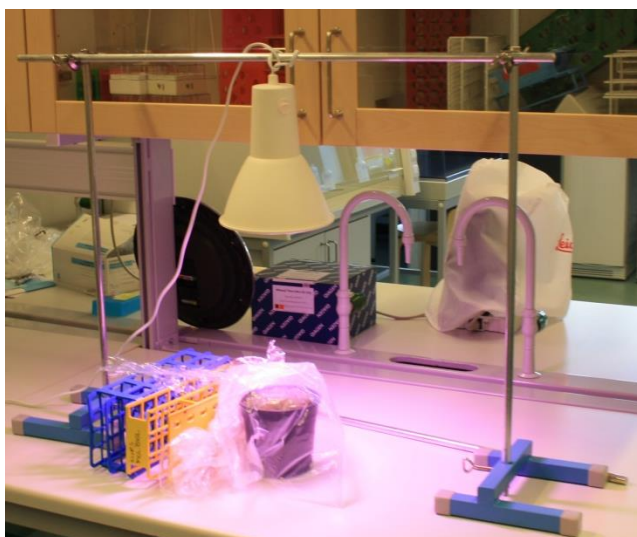
Efter inokuleringen placerades krukorna i plastpåsar som knöts ihop för att skapa en fuktig miljö. För att gräset och svampen skulle få nytt syre luftades första omgången med krukor två gånger i veckan med tre till fyra dagars mellanrum: måndag och fredag. I andra omgången luftades krukorna tre gånger i veckan: måndag, onsdag och fredag. Varje luftningstillfälle varade mellan ca en till en och en halv timme per isolat och klimat.

### Vattning och klippning

Under hela perioden som krukorna med gräs fick stå i klimatskåpen tillfördes inget vatten eller näring till krukorna. Gräset klipptes inte under pågående test utan fick växa fritt. Detta medförde att gräset i klimat 6 °C inte växte mycket men i klimat 15 °C och 24 °C växte gräset och blev långt.

### Testkruka

Inför det stora experimentet gjordes ett test på en kruka. Testkrukan användes för att testa grässets känslighet och se hur inokuleringen skulle gå tillväga. Med testkrukan blev det möjligt att testa hur svampen skulle skrapas av från odlingsmediet i petriskålen och hur svampen skulle finfördelas i små bitar innan den fördelas jämt över testkrukan. Efter att gräset i testkrukan inokulerats med *S. homoeocarpa* omslötts krukans med en plastpåse. Testkrukan placerades under en växtarmatur där temperaturen pendlade mellan 21 °C och 24 °C (Figur 9). Växtarmaturen hängde 27 cm ovanför



Figur 9: Testkruka med omslutande plastpåse som placerats under växtarmatur på lab. Foto: Anita Ejderdun

krukan. Genom testkrukan gick det att följa utvecklingen hos både *S. homoeocarpa* och vad som hände med gräset.

## Avläsning

I båda omgångarna har det gjorts avläsningar av gräskrukorna tre gånger efter inokuleringen: dag 7, dag 14 och dag 21. Genom avläsningarna gick det att följa isolatens utveckling i olika temperaturer. Avläsningen gjordes både okulärt och med hjälp av fotografier på gräskrukorna. Båda avläsningsmetoderna användes eftersom de kompletterade varandra.

### Okulärt

Med okulär avläsning menas att bedömningen gjordes med ögonen och bedömningen skedde direkt på plats. Gräset i varje kruka undersöktes genom att man tittade på det och därefter bedömdes hur många procent av gräset som var infekterat av *S. homoeocarpa*. Genom att det gjordes en okulär besiktning/avläsning av krukan gick det att avläsa hur mycket som blev infekterat, hur gräset mådde samt hur fuktigt det var i gräset/jorden.

### Kameradokumentering och avläsning i Geo 2013

Vid varje avläsning togs det bilder med hjälp av en kamera. Korten togs ovanifrån för att få med hela gräsytan samt jorden. Det togs flera bilder på samma kruka. Dessa bilder fördes sedan in i en dator. Korten på krukorna togs för att de skulle infogas i ett program som gjorde det möjligt att läsa av både gräsets och den infekterade ytans area. Programmet som användes vid avläsningen heter Geo 2013 och kommer ifrån Svensk Byggnadsgeodesi ([www.sbg.se](http://www.sbg.se)).

För varje avläsning av en kruka som var infekterad infogades en ny bild av denna i programmet Geo 2013 och dess koordinater skrevs samtidigt in (Bilaga 7). På den infogade bilden markerades gräsets omkrets med hjälp av ritverktyget polylinje i Geo 2013 (Figur 10). Det gick inte att rita en rund cirkel runt gräset utan man var tvungen att klicka runt hela gräsytan för att skapa markeringarna. Den infekterade ytan i gräset markerades upp på samma sätt som linjen runt gräset (Figur 10). När gräset samt de infekterade ställena var inringade hämtades information ifrån programmet vilken area som hela gräsytan hade samt alla infektionsytors area. Geo 2013 beräknade sedan arean på varje inringad yta i en sammanställning av arearapport. Arean på de infekterade ytorna räknades manuellt ihop och delades sedan med hela gräsytagens area för att få fram

hur många procent av hela gräsytan som var infekterad. I Geo 2013 lades inte de exakta måtten in på krukorna utan det användes relativa mått. Det som räknades fram var enbart hur många procent av gräset som var infekterat av isolaten.

Vid några tillfällen gick det inte se någon infektion på kortet trots det att det hade syntts en tillväxt av isolaten på den okulära avläsningen. Detta kunde bero på att kameran fokuserade olika när gräset blev längre, det var för fuktigt i gräset eller *S. homoeocarpa* gömde sig under gräset och gick inte att ses ovanifrån utan bara kunde ses från sidan. Vid dessa tillfällen när det inte gick att utläsa något från kortet togs den okulära bedömningens siffror in i resultatet.



Figur 10: Bild på kruka som infogats i GEO 2013. Den lodräta pilen pekar på den yttersta linjen som markerar gräsytan i krukorna och den vågräta pilen pekar på de inre linjerna som markerar den infekterade ytan. Dessa linjer markerades upp med GEO 2013 ritverktyget polylinje. Bildkälla: Bilden är hämtad från Geo 2013.

## Isolaternas olika växtsätt i petriskål

För att förstå de fyra isolaternas likheter och olikheter gjordes en liten undersökning om hur deras växtsätt var. Detta gjordes enbart med en skål av varje isolat. Det ympades in en liten bit *S. homoeocarpa* från varje isolat till en ny petriskål med odlingsmedium. En gång per dygn efter inympningen gjordes mätningen och det pågick i tre dygn. Mätningen skedde med hjälp av en vanlig linjal på undersidan av skålen. Mätningen utfördes från ympen och ut mot skålens kant. Det noterades sedan hur mycket svampen växte upp mot skålens lock.

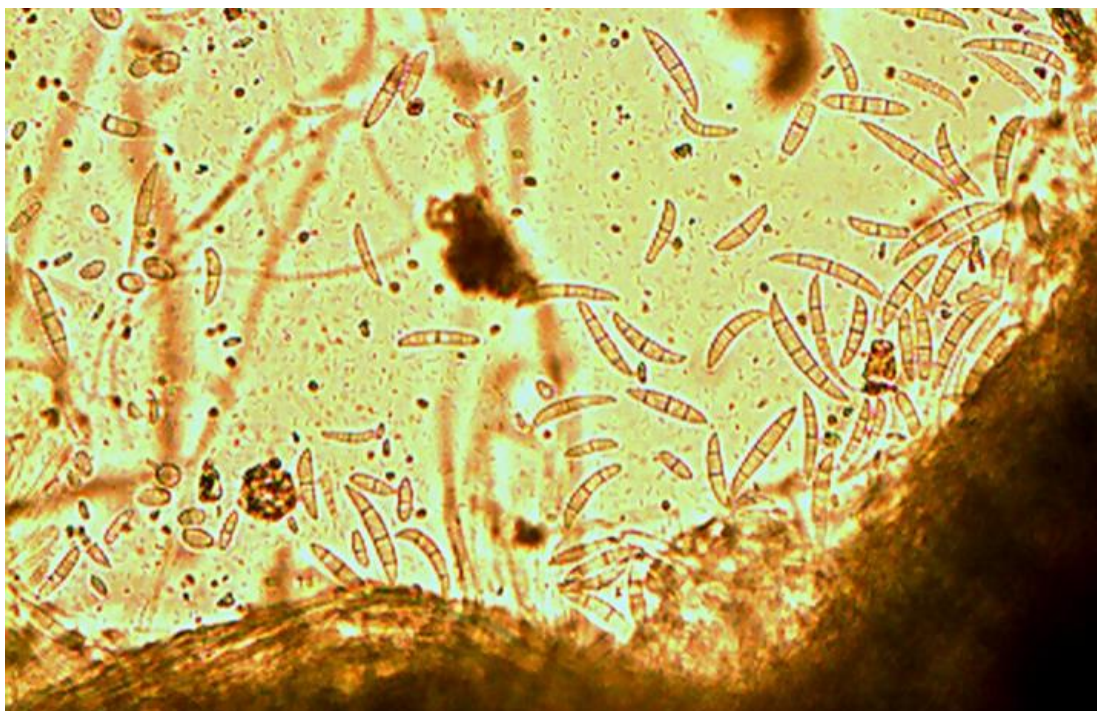
## Dataanalys

Data från avläsningarna fördes in i Excel för att räkna ut medeltalet och standardavvikelse för andel angripet gräs för varje isolat och temperatur. Det skapades två olika diagram av medeltalen. I det ena stapeldiagramet med standardavvikelser jämfördes isolaten som placerats i samma temperaturer; 6 °C, 15 °C samt 24 °C. Dvs. de fyra isolat som placerats i ett klimatskåp. Det andra stapeldiagramet med standardavvikelser jämfördes ett isolats utveckling i de olika temperaturerna.

Data som framkom efter avläsningen transformerades med Arcsin och därefter gjordes en analys om signifikans mellan olika variabelseffekt sjukdomsgrad av dollar spotvärden. De variabler som användes var isolat, temperatur, avläsningsdag samt odlingsomgång. En tvåvägs-anova gjordes på alla data efter Arcsin transformering. En envägs anova gjordes per isolat med avseende på temperatur för att undersöka optimal tillväxttemperatur för varje isolat. Variabler som användes var: isolat och temperatur. Programvaran som användes var Statistica, StatSoft, Inc (OK, U.S.A).

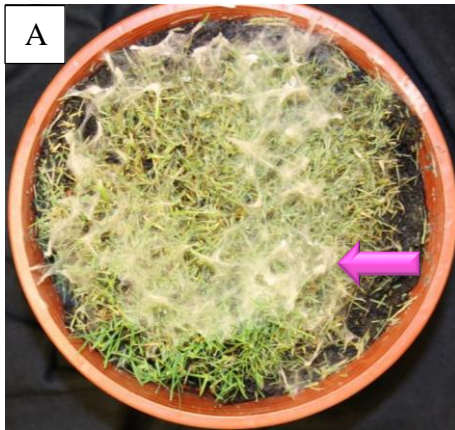
# Resultat

Under den första odlingsomgången med Uppsalagräs var det stora temperaturskillnader i klimatskåpen för ”6” °C respektive ”15” °C och det medförde en ojämn temperatur (Figur 12 A och 12 C, samt Bilaga 4a och 5a). Krukor som skulle ha placerats i klimatskåpet i 24 °C fick stå i rumstemperatur 20 °C – 22 °C och det innebar att de fick en annan ljuskälla än de övriga krukorna (Figur 12 E). De krukor som placerats i klimatskåp ”15” °C samt i labb med rumstemperatur 20 °C – 22 °C blev gräset blev sjukt och dog (Figur 12 C samt E). I en kontrollkruka i första odlingsomgången som stod placerad i rumstemperatur 20 °C – 22 °C upptäcktes konider från svampen *Fusarium* spp (Figur 11). Den andra odlingsomgången med Gävlegräs hölls temperaturen i klimatskåpen på en jämn nivå (Figur 12 B, D och F, samt Bilaga 4b, 5b respektive 6). Jorden i krukorna hade en högre fuktighet i Uppsalaomgången (Figur 12 A, C och E) än i Gävleomgången där jorden var torrare (Figur 12 B, D och F).

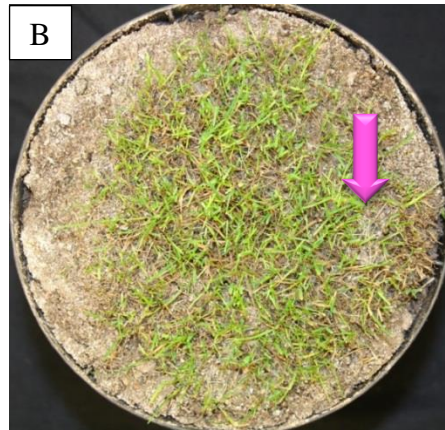


Figur 11: I en kontrollkruka från den första odlingsomgången med Uppsalagräs som stod placerad i rumstemperatur vid 20 °C – 22 °C upptäcktes det konider från svampen *Fusarium* sp. i gräset. Foto: Anita Ejderdun

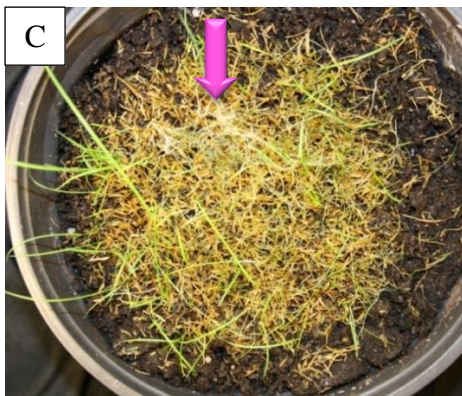
Första odlingsomgången, Uppsalagräs  
6 °C



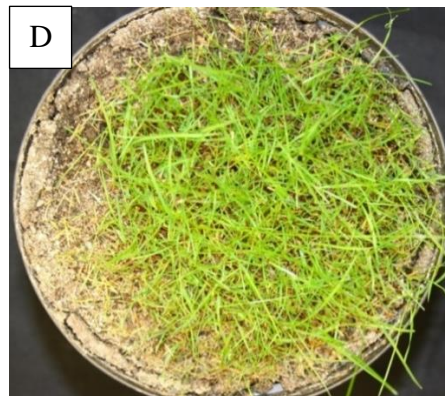
Andra odlingsomgången, Gävlegräs  
6 °C



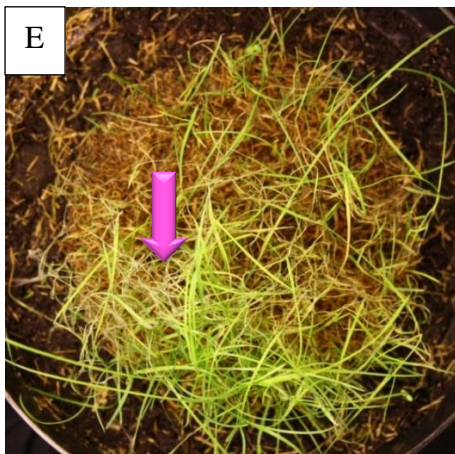
15 °C



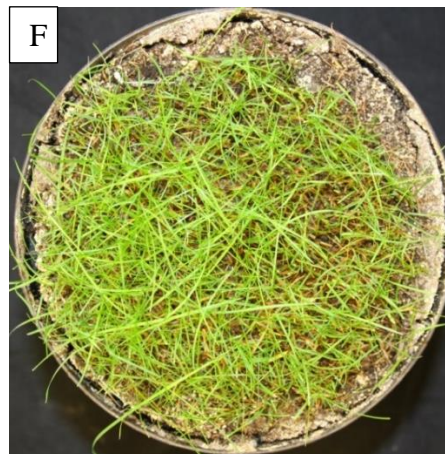
15 °C



20 °C – 22 °C



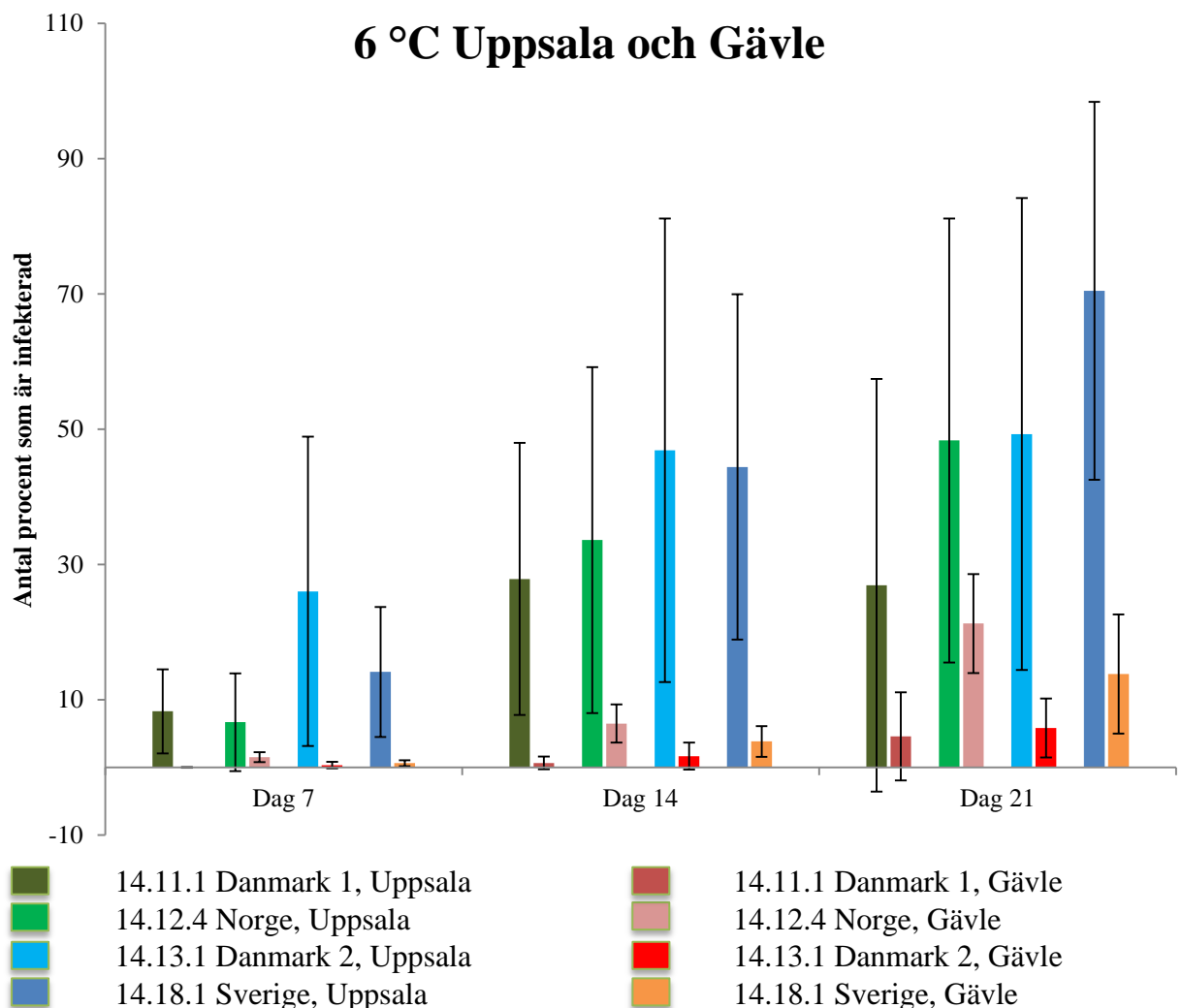
24 °C



Figur 12: Krukor med smittat gräs som blivit infekterat med *S. homoeocarpa* 14.18.1 Sverige (namnet på isolatet) på samtliga kort. Korten är tagna 21 dagar efter inokuleringen vilket var den sista avläsningsdagen för båda odlingsomgångarna. Pilarna markerar var smittan finns i gräset. Bild D och F har blivit infekterat men det syns inget symptom i gräset. På bild C och E syns det tydligt att gräset inte mår bra om man jämför med D och F. Foto: Anita Ejderdun

## Undersökning av vid vilken temperatur som *S. homoeocarpa* kan växa och föröka sig.

Jämför man de båda odlingsomgångarna vid 6 °C från Uppsala och Gävle med varandra för varje isolat syns det stora skillnader (Figur 13). Under de veckor som försöket pågick utvecklades dollar spot snabbare under den första odlingsomgången (Uppsalagräs) än i den andra (Gävlegräs). Den första odlingsomgången hade en snabbare sjukdomsutveckling i början av försöket. Från dag 0 till dag 7 gick utvecklingen långsamt i den andra odlingsomgångens (se staplar för Uppsala resp. Gävle under dag 7 i Figur 13).



Figur 13: Infektionens utbredning över tid för de båda odlingsomgångarna med gräs från både Uppsala (grön/blå staplar) och Gävle (röda staplar) var placerade i klimatskåp 6°C. Samma isolat från båda odlingsomgångarna har placerats bredvid varandra i diagrammet för att de ska kunna jämföras

## Sjukdomsutveckling över tid för olika isolat och de olika experimenten.

En övergripande analys visade ingen skillnad i aggressivitet mellan de olika isolaten (Tabell 2). Angreppsgraden av sjukdomen dollar spot varierade över olika temperaturer och sjukdomen utvecklades med tiden. Dollar spot uppförde sig olika mellan de båda odlingsomgångarna, dvs. för Uppsalagräs respektive Gävlegräs. De tre faktorerna, temperatur, tid och odlingsomgång samspelade.

Tabell 2: Tvåvägs Anova med Arcsin-transformerade värden på proportion av infektion av dollar spot och dess relation mellan olika variabler. Sjukdomsgraden jämfördes mellan olika isolat, temperatur, avläsningsdag, samt vilken odlingsomgång (Uppsalagräs eller Gävlegräs) som gräset kom ifrån. Jämförelser som är signifikant avvikande är markerade med fet stil.

Övergripande analys med infektion av dollar spot och relation mellan olika variabler

	SS <sup>1</sup>	D.f. <sup>2</sup>	MS <sup>3</sup>	F <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
Intercept	1,880241	1	1,880241	75,16394	0,000000
Isolat	0,030154	3	0,010051	0,40181	0,751860
<b>Temp</b>	<b>1,022765</b>	<b>2</b>	<b>0,511383</b>	<b>20,44288</b>	<b>0,000000</b>
<b>Avldag</b>	<b>1,096760</b>	<b>3</b>	<b>0,365587</b>	<b>14,61459</b>	<b>0,000000</b>
<b>Odlingsomg.</b>	<b>0,540964</b>	<b>1</b>	<b>0,540964</b>	<b>21,62540</b>	<b>0,000006</b>
Isolat*Temp	0,250370	6	0,041728	1,66812	0,130787
Isolat*Avldag	0,094422	9	0,010491	0,41940	0,923730
<b>Temp*Avldag</b>	<b>0,859706</b>	<b>6</b>	<b>0,143284</b>	<b>5,72789</b>	<b>0,000017</b>
Isolat*Odlingsomg.	0,131886	3	0,043962	1,75741	0,156738
<b>Temp*Odlingsomg.</b>	<b>0,971316</b>	<b>2</b>	<b>0,485658</b>	<b>19,41452</b>	<b>0,000000</b>
<b>Avldag*Odlingsomg.</b>	<b>0,237501</b>	<b>3</b>	<b>0,079167</b>	<b>3,16476</b>	<b>0,025662</b>
Isolat*Temp*Avldag	0,267279	18	0,014849	0,59359	0,901609
Isolat*Temp*Odlingsomg.	0,076048	6	0,012675	0,50668	0,802860
Isolat*Avldag*Odlingsomg.	0,109239	9	0,012138	0,48521	0,883458
<b>Temp*Avldag*Odlingsomg.</b>	<b>0,743862</b>	<b>6</b>	<b>0,123977</b>	<b>4,95607</b>	<b>0,000097</b>
Isolat*Temp*Avldag*Odlingsomg.	0,090172	18	0,005010	0,20026	0,999861
Error	4,802917	192	0,025015		

<sup>1</sup>SS; Sum of Squares

<sup>3</sup>MS; Mean square

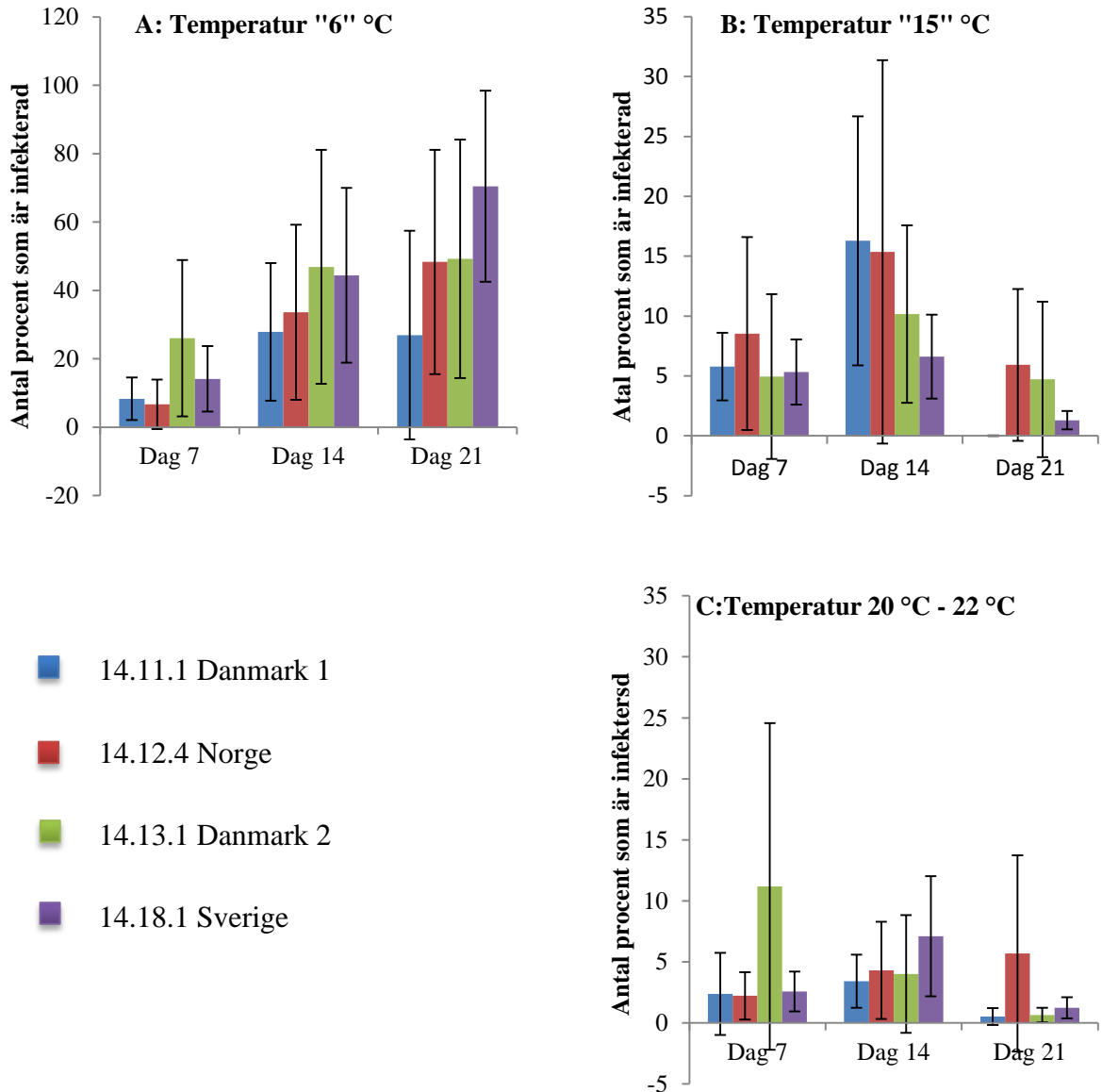
<sup>5</sup>P; P value

<sup>2</sup>D.f; Degrees of Freedom

<sup>4</sup>F; F ratio

## Skillnad mellan temperatur och odlingsomgång.

Första odlingsomgången (Uppsalagräs)

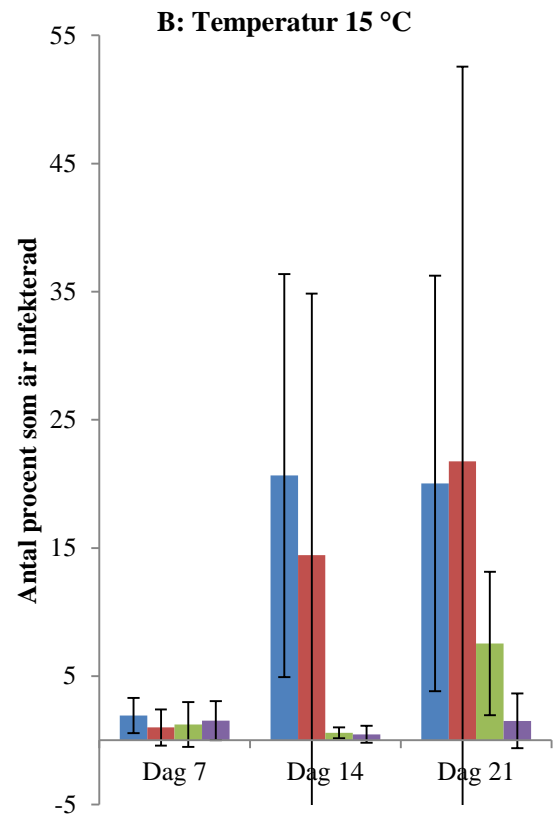
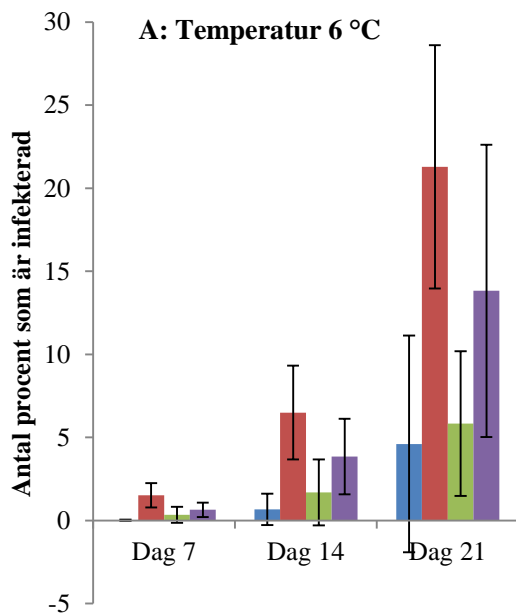


Figur 14: Överblick över det första experimentet, dvs. med krukor innehållande Uppsalagräs. Figuren visar genomsnittlig sjukdomsutbredning per kruka över tid, med alla fyra isolaten i samma diagram. De olika diagrammen visar olika inkubationstemperaturer: "6" °C, "15" °C och 20 – 22 °C. De två lägre temperaturerna är markerade med citationstecken, eftersom de fluktuerade; klimatkamrarnas temperaturer hade inte stabiliserats (se bilagor för detaljer). Y-axeln i varje diagram visar hur stor andel av gräsytan (i procent) i varje kruka som hade blivit infekterad med *S. homoeocarpa* och X-axeln anger avläsningstidpunkten i dagar. Avläsningarna skedde dag 7, dag 14 och dag 21. **Diagrammens Y-axlar har olika skalor.**

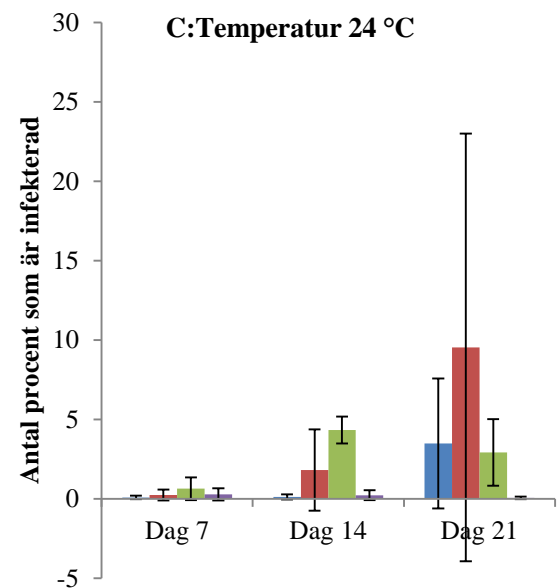
Den första odlingsomgången, innehållande Uppsalagräs: Vid varje enskild avläsningsdag, dvs. dag 7, dag 14 samt dag 21 var det ingen skillnad i sjukdomsutveckling mellan isolaten i klimatskåp ”6” °C (Figur 14 A; där temperaturen fluktuerade mellan 5 °C och 11 °C). Men hos isolat 14.12.4. Norge och 14.18.1 Sverige fanns det ett angrepp som bredde ut sig signifikant mellan dag 7 och dag 21 (Figur 14 A). Om alla tre diagrammen jämförs (Figur 14 A, B samt C) har ”6” °C mest symtom av dollar spot under hela odlingsperioden. Under experimentets gång blev gräset snabbt sämre vid ”15” °C (Figur 12 C) samt vid 20 °C – 22 °C (Figur 12 E) mellan dag 14 (Figur 14 B) och dag 21 (Figur 14 C).

Under den andra odlingsomgången, innehållande Gävlegräs: I 6 °C ökade angreppen av dollar spot successivt över hela perioden för isolat 14.11.1 Danmark 1 och 14.12.4 Norge, dvs. från dag 7 till dag 14, och dag 14 till dag 21, medan för isolaten 14.13.1 Danmark 2 samt 14.18.1 Sverige fanns en signifikant ökning av dollar spot i intervallet dag 7 till dag 21 (Figur 15 A). Vid 15 °C ökade sjukdomen i samma takt mellan dag 7 och dag 21 för alla isolat, men det var tre isolat; 14.11.1 Danmark 1, 14.12.4 Norge samt 14.13.1 Danmark 2 som ökade mest markant (Figur 15 B). Dollar spot utbredde sig inte lika mycket och var överlag mindre allvarlig vid 24 °C (Figur 15 C) som den gjorde vid 6 °C (Figur 15 A) och 15 °C (Figur 15 C).

Andra odlingsomgången (Gävlegräs)



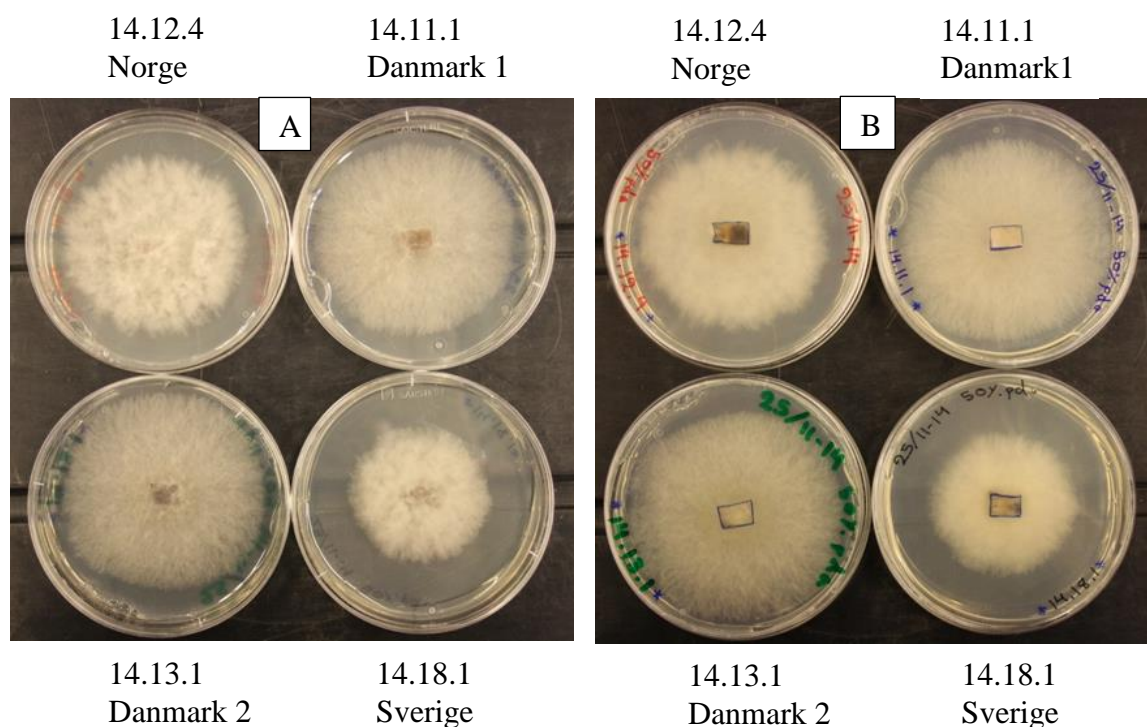
- 14.11.1 Danmark 1
- 14.12.4 Norge
- 14.13.1 Danmark 2
- 14.18.1 Sverige



Figur 15: Överblick över det andra experimentet, dvs. med krukor innehållande Gävlegräs. Figurerna visar genomsnittlig sjukdomsutbredning per kruka över tid, med alla fyra isolaten i samma diagram. De olika diagrammen visar olika inkubationstemperatur: 6 °C, 15 °C och 24 °C. Y-axeln i varje diagram visar hur stor andel av gräsytan (i procent) i varje kruka som hade blivit infekterad med *S. homoeocarpa* och X-axeln anger avläsningstidpunkten i dagar. Avläsningarna skedde dag 7, dag 14 och dag 21. **Diagrammens Y-axlar har olika skalor.**

## Morfologiska karaktärer och temperaturoptima för de olika isolaten.

De olika isolaten hade olika växtsätt, samt olika tillväxthastighet på odlingsmediet PDA i rumstemperatur (Figur 16). Isolaten 14.11.1 Danmark 1 och 14.13.1 Danmark 2 hade ett ganska likartat växtsätt. Isolat 14.11.1 Danmark 1 hade lite mer mycel som växte uppåt mot locket. 14.13.1 Danmark 2 upplevdes ha en lite gråare färg på mycelet. Isolaten 14.12.4 Norge och 14.18.1 Sverige hade ett ganska likartat växtsätt. Men skillnaden mellan dessa isolat är att 14.12.4 Norge hade snabbare tillväxt ut mot skålens kant och upp mot locket. Av dessa två isolat var det 14.18.1 Sverige som hade det mest kompakta växtsättet, och den långsammaste tillväxten. Isolaten från 14.12.4 Norge och 14.18.1 Sverige hade båda ett mjukt, fluffigt mycel om man jämförde dem med isolaten från 14.11.1 Danmark 1 och 14.13.1 Danmark 2, som hade raka trådar som formade en tunn, snabbväxande mycelmatta (Figur 16 A och B).

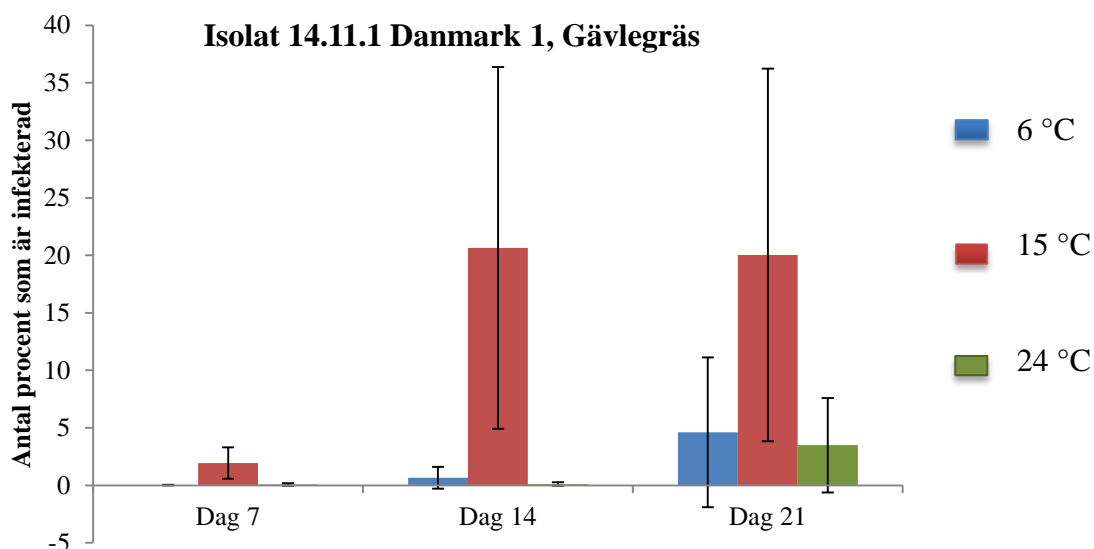


Figur 16: De fyra isolatens olika morfologi efter tre dygns tillväxt vid 20 – 22 °C på odlingsmediet PDA i petriskålar. På bild A syns hur isolaten ser ut ovanifrån och på bild B hur isolaten ser ut underifrån. Foto: Anita Ejderdun

Tabell 3: ANOVA över sjukdomsutveckling vid olika temperaturer av isolat 14.11.1 Danmark 1 i Gävlegräset.

Isolat 14.11.1 Danmark 1					
	SS <sup>1</sup>	D.f. <sup>2</sup>	MS <sup>3</sup>	F <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
<b>Intercept</b>	2542266	1	2542266	7,773471	0,008849
<b>Temp</b>	3011806	2	1505903	4,604590	<b>0,017478</b>
<b>Error</b>	10465404	32	327044		

<sup>1</sup>SS; Sum of Squares      <sup>4</sup>F; F ratio  
<sup>2</sup>D.f; Degrees of Freedom    <sup>5</sup>P; P value  
<sup>3</sup>MS; Mean Square



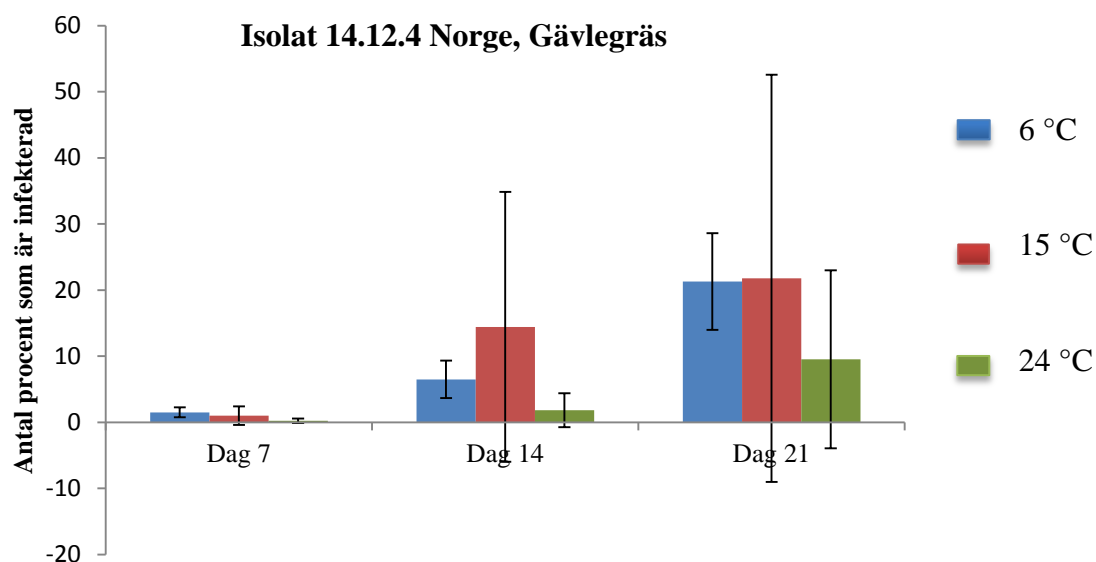
Figur 17: Överblick över sjukdomsutvecklingen för isolat 14.11.1 Danmark 1 vid olika temperaturer för andra odlingsomgången (dvs. Gävlegräs). Y-axeln anger den procentuella ytan smittat gräs utav total gräsyta i varje kruka och X-axeln anger tidpunkten då gräsyterna avlästes.

Det fanns en skillnad mellan olika temperaturer (Tabell 3) och sjukdomsutvecklingen var störst vid 15 °C (Figur 17).

Tabell 4: ANOVA över sjukdomsutveckling vid olika temperaturer av isolat 14.12.4 Norge i Gävlegräset.

Isolat 14.12.4 Norge					
	SS <sup>1</sup>	D.f. <sup>2</sup>	MS <sup>3</sup>	F <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
<b>Intercept</b>	5026593	1	5026593	7,378866	0,010556
<b>Temp</b>	963265	2	481633	0,707020	<b>0,500652</b>
<b>Error</b>	21798873	32	681215		

<sup>1</sup>SS; Sum of Squares      <sup>4</sup>F; F ratio  
<sup>2</sup>D.f; Degrees of Freedom    <sup>5</sup>P; P value  
<sup>3</sup>MS; Mean Square



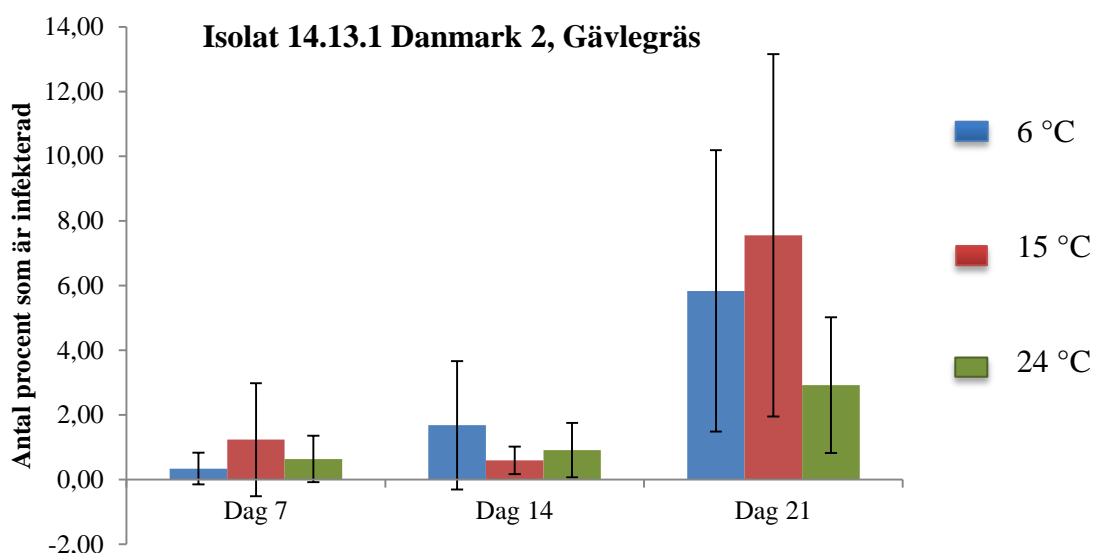
Figur 18: Överblick över sjukdomsutvecklingen för isolat 14.12.4 Norge vid olika temperaturer för andra odlingsomgången (dvs. Gävlegräs). Y-axeln anger den procentuella ytan smittat gräs utav total gräsyta i varje kruka och X-axeln anger tidpunkten då gräsytorna avlästes.

Det var ingen skillnad i tillväxt mellan temperaturerna (Tabell 4) Isolatet har även en bra och jämn tillväxt vid alla temperaturer (Figur 18).

Tabell 5: ANOVA över sjukdomsutveckling vid olika temperaturer av isolat 14.13.1 Danmark 2 i Gävlegräset.

Isolat 14.13.1 Danmark 2					
	SS <sup>1</sup>	D.f <sup>2</sup>	MS <sup>3</sup>	F <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
<b>Intercept</b>	453878	1	453878,4	10,39662	0,002844
<b>Temp</b>	39073	2	19536,7	0,44751	<b>0,643039</b>
<b>Error</b>	1440659	33	43656,3		

<sup>1</sup>SS; Sum of Squares      <sup>4</sup>F; F ratio  
<sup>2</sup>D.f; Degrees of Freedom    <sup>5</sup>P; P value  
<sup>3</sup>MS; Mean Square



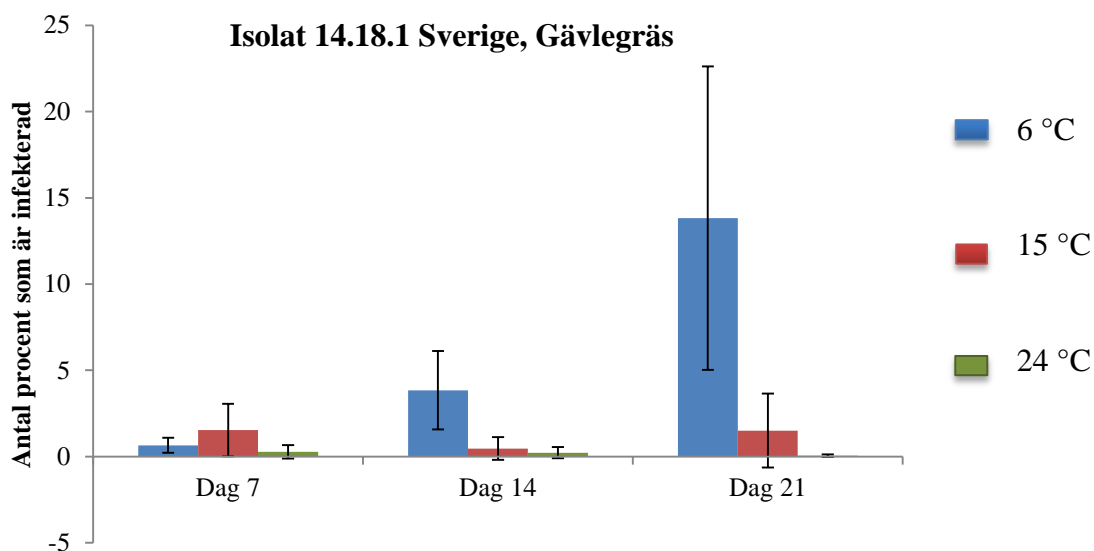
Figur 19: Överblick över sjukdomsutvecklingen för isolat 14.13.1 Danmark 2 vid olika temperaturer för andra odlingsomgången (Gävlegräs). Y-axeln anger den procentuella ytan smittat gräs utav total gräsyta i varje kruka och X-axeln anger tidpunkten då gräsyterna avlästes.

Hos isolat 14.13.1 Danmark 2 fanns det ingen skillnad i tillväxt av dollar spot mellan de olika temperaturerna (Tabell 5) men det finns en tillväxt i alla temperaturer (Figur 19).

Tabell 6: ANOVA över sjukdomsutveckling vid olika temperaturer av isolat 14.18.1 Sverige i Gävlegräset.

Isolat 14.18.1 Sverige					
	SS <sup>1</sup>	D.f. <sup>2</sup>	MS <sup>3</sup>	F <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
<b>Intercept</b>	459571	1	459571,0	6,505119	0,015581
<b>Temp</b>	464526	2	232263,2	3,287631	<b>0,049887</b>
<b>Error</b>	2331371	33	70647,6		

<sup>1</sup>SS; Sum of Squares      <sup>4</sup>F; F ratio  
<sup>2</sup>D.f; Degrees of Freedom    <sup>5</sup>P; P value  
<sup>3</sup>MS; Mean Square



Figur 20: Överblick över sjukdomsutvecklingen för isolat 14.18.1 Sverige vid olika temperaturer under andra odlingsomgången (Gävlegräs). Y-axeln anger den procentuella ytan smittat gräs utav total gräsyta i varje kruka och X-axeln anger tidpunkten då gräsyterna avlästes.

Det fanns en signifikant skillnad i sjukdomsutveckling över olika temperaturer (Tabell 6), och som syns i Figur 20 är sjukdomsangreppet är störst vid 6 °C.

Kontrollkrukorna som placerats i klimatskåpet 24°C under andra omgången hade friskt och fint gräs. De hade inte drabbats av någon sjukdom

# Diskussion

Enligt Smiley m.fl. (2005) samt Allen m.fl. (2005) har dollar spot sin optimala sjukdomsutveckling från 15 °C upp till 30 °C. Därför placerades kontrollkrukorna i 24 °C, där sjukdomsutvecklingen antogs vara störst. Gräs som inokulerats med *S. homoeocarpa* och som sedan placerats i temperaturerna 6 °C, 15 °C respektive 24 °C blev inte smittat enligt förväntningarna. Inför experimentet utgicks det ifrån att 6 °C skulle vara en för låg temperatur och att 24 °C skulle vara en optimal temperatur för sjukdomens utveckling. Dollar spot hade mest utbredning vid 6 °C överlag, och det var mest påtagligt för den första odlingsomgången, dvs den som innehöll gräs från en golfbana i Uppsala. Efter att experimentet avslutats, och med facit i hand, skulle kontrollkrukorna placeras i klimatskåp vid 6 °C, eftersom det var vid denna temperatur som dollar spot angreppen blev värst.

Utvecklingen av dollar spot blev lite olika för de två odlingsomgångarna, dvs. de med Uppsalagräs respektive Gävlegräs. Angreppsgraden av dollar spot varierade över olika temperaturer och ändrades även över tid. Det fanns vissa skillnader mellan experimenten som kan ha påverkat utfallet för de båda odlingsomgångarna. Eftersom det var så stora och okontrollerbara temperaturväxlingar under den första odlingsomgången (dvs. den med Uppsalagräs), så blev inte resultatet helt tillförlitligt.

Under den andra odlingsomgången (dvs. det med Gävlegräs) var klimatkamrarnas temperaturer helt stabila och tillförlitliga, och resultaten från denna omgång analyserades mer noggrant. De pekade på att de olika dollar spot-isolaten uppförde sig lite olika. Det norska isolatet, 14.12.4 Norge, var det isolat som var det mest aggressiva, dvs. det gav den största utbredningen av dollar spot vid samtliga temperaturer, jämfört med de andra isolaten. Isolatet trivdes bra vid alla temperaturer. För det svenska isolatet, 14.18.1 Sverige var sjukdomsutvecklingen och angreppsgraden i gräset kraftigast vid 6 °C, medan det vid de två övriga temperaturerna - 15 °C samt 24 °C - var minimalt. Hos det ena danska isolatet, 14.11.1 Danmark 1 hade dollar spot sin största utbredning vid 15 °C. Vid 6 °C och 24 °C var utbredningen inte lika stor. Det andra danska isolatet, 14.13.1 Danmark 2 verkade trivas i alla temperaturer, eftersom det inte var någon skillnad i sjukdomsutvecklingen vid olika temperaturer.

Hur sjukdomsutvecklingen skedde vid olika temperaturer skulle kunna ha ett samband med den geografiska skillnaden hos de olika isolatens ursprungliga platser. Enligt Smiley m.fl. (2005) finns det geografiska skillnader mellan de olika svamparna beroende på var svamparna hittades. I ett arbete med *S. homoeocarpa* upptäckte Bennett (1937) i en jämförelse mellan isolat från tre länder att de hade olika tillväxttemperaturer. De brittiska isolaten hade en kraftigare tillväxt vid lägre temperaturer, mellan 0 °C och 1°C, än de australienska och amerikanska isolaten (Bennett, 1937). Trots en god sjukdomsutveckling vid den låga temperaturen (i klimatskåpet), ligger det brittiska isolatets optimala temperatur vid 20 °C till 25 °C och det amerikanska isolatet vid 30 °C (Bennett, 1937). Det verkar också i mitt försök som om isolaten kan ha olika temperaturoptima för tillväxt. Det norska och det svenska isolatet hade en kraftig sjukdomsutveckling vid 6 °C, medan ett av de danska isolaten sin kraftigaste sjukdomsutveckling vid 15 °C. Växtsättet som de båda danska isolaten hade när de odlades i PDA vid 20 °C – 22 °C var väldigt snarlika, de hade ganska glest växtsätt i odlingsmediet samt ganska glest med luftmycel (Figur 16). De danska isolaten kom ifrån golfklubbarna Fredensborg och Helsingör, som ligger geografiskt nära varandra. Mellan dessa båda är avståndet ca 20 km. Eftersom de danska golfbanorna låg så pass nära varandra skulle de två danska isolaten kunna vara släkt med varandra. Mellan Losby Golf som ligger i Norge och Mälärö Golfklubb Skytteholm som ligger i Sverige är det mer än 500 km. Trots att det är så långt mellan dem ligger de ungefär på samma breddgrad. Det skulle kunna vara möjligt att de är släkt med varandra eftersom de påminner om varandras växtsätt. Båda isolaten hade ett kompakt växtsätt i odlingsmediet när de odlades i PDA vid 20 °C – 22 °C, samt att de hade ett kraftigt fluffigt luftmycel som såg ut att vilja klumpa ihop sig (Figur 16). När det var rikligt med mycel i gräset vid 6 °C i första odlingsomgången verkade det som om mycelet började klumpa ihop sig på olika ställen i mycelmattan som täckte gräset. Tendensen var lika för alla isolat. Det svenska isolatet hade den svagaste tillväxten av alla fyra isolat i PDA (Figur 16). Inget av isolaten uppträdde på exakt samma sätt, och det skulle innebära att de kommit till Norden från separata introduktioner, eller om de var av samma ursprungsisolat/introduktion, så har de geografiska skillnaderna gjort att de utvecklats till att ha olika karaktärer över tid, beroende på den miljö som de hamnat i.

Med de klimatförändringar som skett som fått till följd att temperaturer och nederbörd har ökat (Kjellström, et al., 2014) kan detta ha bidragit till att förutsättningarna för

svampen att etablera sig i Norden har förbättrats. Med mer nederbörd, ökar luftfuktigheten, både Smiley m.fl. (2005) och Allen m.fl. (2005) anser att svampen *S. homoeocarpa* trivs när det är hög luftfuktighet. Enligt Smiley m.fl. (2005) finns det flera sätt för svampen att sprida sig mellan olika platser. Exempelvis golfutrusning eller maskiner som använts ute på golfbanorna. Ökade transporter mellan olika länder och platser av människor/golfare i kombination med icke rengjord golfutrustning som klubbor och golfskor samt maskiner som används på golfbanorna kan vara några bidragande orsaker till att dollar spot har kommit till Norden. I en undersökning som gjorts av Rioux m.fl. (2014) har man upptäckt att dollar spot även kan spridas med gräsfrön som säljs på marknaden, och detta skulle kunna vara ytterligare en viktig källa för spridningen av dollar spot. Ökade temperaturer i världen medför att växternas klimatzoner förflyttas norrut vilket indirekt kan bidra till en ökad geografisk etablering av dollar spot.

Temperaturen i klimatskåpet ”6” °C pendlade mellan 5 °C till 11 °C i den första odlingsomgången (Uppsalagräs) samt att de hade en hög luftfuktighet inuti påsen som troligtvis gjorde att sjukdomsangreppet fick en så stor utbredning och snabb utveckling i krukorna. Klimatet i första omgången blev mer verklighetstroget med de temperatursvängningar som klimatskåpet hade, än i andra omgången (Gävlegräs) eftersom klimatskåpet hade konstanta temperaturer genom hela försöket. Eftersom temperaturerna fluktuerade kraftigt i första omgången kan utvecklingen av dollar spot ha fått en skjuts. Det fanns flera andra skillnader mellan de två experimenten som kan ha påverkat resultatet. Det fanns t.ex. en geografisk skillnad mellan odlingsomgångarna eftersom gräset hämtades från två olika golfbanor som ligger i olika städer. Dels innehöll de olika odlingsomgångarna olika grässorter som kan ha haft olika resistens mot dollar spot. Gräset var behandlat på olika sätt. Uppsalagräset var inte besprutat men Gävlegräset hade blivit besprutat två månader före inokuleringen. På grund av sin geografiska skillnad kan det även finnas olika smittor i jorden som kan ha angripit gräset. Det kan ha funnits en smitta i jorden som kan ha bidragit till att Uppsalagräset blev sjukt och dog i 15 °C respektive 24 °C. Eftersom gräset inte hade besprutats tidigare under säsongen kan en kombination av hög värme och fuktig jord i krukorna ha triggat igång andra svampar som bidrog till att gräset blev sjukt och dog. I gräsprover som togs från det sjuka gräset i kontrollkrukorna från Uppsala som förvarade vid 20 °C – 22 °C hittades bananformade konidier som kommer ifrån svampen *Fusarium* sp. Just

den här kombinationen av temperatur och hög fuktighet i krukorna gjorde att latent smitta i jorden och/eller gräset kom till uttryck, vilket resulterade i att gräset blev dåligt och dog. Det kan eventuellt ha funnit en annan vilande smitta i jorden, som blommade ut vid hög temperatur och hög luftfuktighet. Dessa miljöförhållanden gjorde gräset mer mottagligt.

För att växter ska må bra behöver de tillgång till ljus, vatten, värme, koldioxid och syre. Dessa komponenter behövs för att kunna skapa nya celler i växten (Ericsson, 2009). Genom att öppna de tillslutna påsarna tillfördes ny luft och luftningen gjordes för att gräset och *S. homoeocarpa* skulle kunna växa (T. Espevig, personlig kommunikation). Ericsson (2009) menar att växter behöver tillgång till syre för att deras andning/respiration ska fungera. Höga och låga koncentrationer av koldioxid i luften påverkar växter. Växter förbrukar mindre vatten vid högre koncentration av koldioxid och vid lägre koncentrationer påverkas tillväxten (Ericsson, 2009). Luftning av krukorna skilde sig åt mellan odlingsomgångarna. Den första odlingsomgången öppnades och luftades två gånger i veckan (måndag och fredag) medan den andra odlingsomgången öppnades tre gånger per vecka (måndag, onsdag och fredag).

I den första odlingsomgången fylldes krukorna med vanlig planteringsjord, medan den andra odlingsomgångens krukor fylldes ut med sandjord. Sandjord är mer porös och släpper lättare igenom vatten än planteringsjord, medan planteringsjord har en bättre vattenhållande förmåga. Krukorna som användes i den första odlingsomgången hade olika storlekar, vilket medförde att olika mycket jord tillfördes i krukorna. I den andra odlingsomgången var däremot alla krukor av samma storlek. Tillförseln av vatten skilde sig även åt mellan den första och den andra odlingsomgången. Detta kan ha bidragit till att gräskrukorna i första odlingsomgången hade en hög fuktighet. Vid andra odlingsomgången tillfördes inte lika mycket vatten före inokuleringen och detta kan ha bidragit till den låga fuktigheten inuti plastpåsarerna.

Under det första odlingsförsöket pendlade alla klimatskåp väldigt mycket i temperatur, vilket ledde till stora skillnader i sjukdomsutveckling mellan de två odlingsförsöken. Med större svängningar mellan varmt och kallt bildades kondens inne i påsarna som omslöt krukorna. I skåpet för ”6” °C pendlade temperaturen mellan 5 °C och 11 °C. I

klimatskåpet för ”15” °C pendlade temperaturen mellan 14 °C och 25 °C. Klimatskåpet för 24 °C var ur funktion och därför placerades 12 krukor som blivit infekterade med *S. homoeocarpa* samt 3 kontrollkrukor på ett labb. Labbets temperatur var mellan 20 °C – 22 °C. Detta innebar att de krukor som placerades i ”15” °C under vissa perioder hade ungefär samma maxtemperatur som de krukor som stod på labb. Inför den andra odlingsomgången var klimatskåpen inställda på rätt temperatur och samtliga krukor kunde placeras i dessa. Det blev också en ljusskillnad mellan de olika odlingarna. De krukor som placerades i klimatskåpen hade endast tillgång till ledbelysning som lyste i 16 timmar, medan de krukor som var placerade på labbet hade andra ljuskällor. Över krukorna som stod på labb placerades det växtarmaturer, men gräset hade även tillgång till vanligt dagsljus från fönstren på labb, samt ljus från takarmaturen.

Sammanfattningsvis visade det sig att de nordiska isolaten av dollar spot var mest aggressiva vid 6 °C, men att det även vid 15 °C och 24 °C fanns viss sjukdomsutveckling. När alla isolaten jämfördes med varandra var det norska isolatet mest aggressivt vid alla temperaturer. Det fanns vissa skillnader mellan de fyra isolaten vid olika temperaturer samt att det även fanns geografiska skillnader mellan dem. I vissa fall verkade det som om de var geografiskt betingade. Morfologiskt påminde det norska och det svenska isolatet om varandra, och de två danska isolaten var också utseendemässigt lika. Detta skulle kunna tyda på att svampen har en förmåga att anpassa sig geografiskt till olika omgivningar. Med ökade långväga transporter av människor/golfare kan spridningen ske med golfutrustning och maskiner som inte har rengjorts. Spridningen skulle också kunna ske via gräsfrön. Det verkar som att det nordiska klimatet passar *S. homoeocarpa* och därför är det mycket troligt att dollar spot har fått ett permanent fäste i Norden. Klimatförändringarna gör samtidigt att klimatzonerna flyttas längre norrut vilket kan bidra till att gynnsamma förutsättningar skapas för ytterligare frammarsch av dollar spot i Norden.

## **Avslutande ord**

Förslag på patogenitetstest

I denna uppsats har *S. homoeocarpa* odlats på PDA i petriskålar innan svampen inokuleras på gräsprov som omsluts av plastpåse för att sedan placeras i ett klimatskåp. Liberti m.fl. (2012) gjorde en annan typ av patogenitetstest. De tog ett gräsblad som vecklades ut och lades på ett sterilt, fuktigt filterpapper i en tom petriskål. Sedan

placerades en liten bit agar som innehöll mycel från *S. homoeocarpa* ovanpå gräsbladet, och petriskålen förslöts med en Parafilm (Liberti, et al., 2012). Genom att försluta petriskålen med Parafilm bildas det en fuktig miljö inne i skålen som får svampen att infektera bättre och bladet att bli mer mottagligt.

Förslag på fortsatta studier inom detta område är fortsatta undersökningar om isolaten av *S. homoeocarpa* som isolerats från gräs angripet av dollar spot i Danmark, Norge samt Sverige klarar av att växa och föröka sig vid ännu lägre temperaturer än 6 °C.

Tack!

Det finns många jag vill tacka eftersom de har bidragit och hjälpt mig under arbetet med denna C-uppsats. Utan dem hade det inte varit möjligt att genomföra detta arbete.

Jag vill tacka min handledare Sandra Wright för hennes engagemang i min uppsats. Under hela resan har hon funnits med och guidat mig igenom mitt arbete med sin erfarenhet.

Tack till Tatsiana Espevig på Bioforsk i Norge som bidrog med sin kunskap och med isolaten som innehöll svampen *S. homoeocarpa*.

Ett stort tack till golfklubbarna Söderby Golf i Uppsala samt Gävle Golfklubb i Gävle som bidragit med gräsprover från greenerna.

Jag vill även tacka Tuyet Bui, Stig-Göran Mårtensson samt Lars Hillström på Högskolan i Gävle eftersom de har hjälpt mig vid olika tillfällen under arbetets gång.

Sist men inte minst vill jag tacka min familj samt mina vänner som har varit med och stöttat mig hela vägen ända fram till mål.

Tack alla!

## Referenser

- Allen, T. W., Martinez, A. & Burpee, L. L., 2005. Dollar spot of turfgrass. *APS - The American Phytopathological Society*.
- Bennett, F. T., 1937. *Dollarspot disease of turf and its causal organism, Sclerotinia homoeocarpa n.sp.*, s.l.: The Annals of applied biology.
- Ericsson, T., 2009. *Växtbiologi*. Hem Trädgården särtryck 2007-2008 ed. s.l.:Riskförbundet Svensk Trädgård.
- Espevig, T., Brurberg, M. B. & Kvalbein, A., 2014. First report of dollar spot, caused by *Sclerotinia homoeocarpa*, in creeping bentgrass in Norway. *The American Phytopathological Society*, 04 May, Volume 99, p. 287.
- Kjellström, E. et al., 2014. *Uppdatering av det klimatvetenskapliga kunskapsläget*, Norrköping: SMHI.
- Kvalbein, A. & Aamlid, T. S., 2012. *Gräs till gröna ytor i nordnorden*, Landvik: Sterf, Scandinavian Turfgrass and Environment Research foundation.
- Liberti, D., Rollins, J. A. & Harmon, P. F., 2012. Evidence for Morphological, Vegetative, Genetic, and Mating-Type Diversity in *Sclerotinia homoeocarpa*. *APS Journal - The American Phytopathological Society*, Januari, 102(5), pp. 506-518.
- Mossberg, B. & Stenberg, L., 2010. *Den nya nordiska Floran*. s.l.:Bonnier Fakta.
- Naturhistoriska riksmuseet, 2000. *Den virtuella floran*. [Online] Available at: <http://linnaeus.nrm.se/flora/welcome.html> [Accessed 4 November 2014].
- Naturhistoriska riksmuseet, 2008. *Den virtuella floran*. [Online] Available at: <http://linnaeus.nrm.se/flora/mono/poa/agros/agrocap.html> [Accessed 2 Mars 2015].
- Naturhistoriska riksmuseet, 2010. *Den virtuella floran*. [Online] Available at: <http://linnaeus.nrm.se/flora/mono/poa/festu/festrub.html> [Accessed 05 Mars 2015].
- Pettersson, M.-L. & Åkesson, I., 2011. Gräs och gräsytor. In: M. Pettersson, ed. *Trädgårdens växtskydd*. Stockholm: Natur & Kultur, pp. 331-336.
- Rioux, R. A. et al., 2014. *Sclerotinia homoeocarpa* Overwinters in Turfgrass and Is Present in Commercial Seed. s.l.:PLOS ONE.
- SMHI, 2014. <http://www.smhi.se/kunskapsbanken/klimat/vegetationsperiod-1.6270>. [Online] Available at: <http://www.smhi.se> [Accessed 16 Januari 2015].

Smiley, R. W., Dernoeden, P. H. & Clarke, B. B., 2005. Compendium of Turfgrass Diseases. In: Third edition 2005, second printing 2007 ed. St Paul(MN): The American Phytopathological Society, p. 167.

Svensson, H. et al., 2007. *En meter i timmen - klimatförändringars påverkan på jordbruket i Sverige*, Jönköping: Jordbruksverket.

Tronsmo, A., 2012. *Övervintringssjukdomar*. Boks(Ås): Scandinavian Turfgrass and Environment Research Foundation(STERF) och Jordbruksverket.

# Bilagor

## Bilaga 1: Ordlista

<b>Ordlista</b>	
Apotecium	Svampens fruktkropp, som normalt innehåller sporsäckar med sexuella sporer, s.k. askosporer
Hyf (-er)	Svampens trådar. Många hyfer i ett nätverk bildar ett mycel.
Klamydospor	Tjockväggig asexuell spor, som ofta sitter på en hyfände.
Konidie	En vegetativ spor.
Luftmycel	Hyfer (svamptrådar) som växer i luften, t.ex. mellan två grässtrån.
Mycel	Massor av svamptrådar (hyfer) bildar ett mycel.
Noder	Där växten förgrenar sig eller där bladen växer ut.
Rhizom (-er)	Jordstam, underjordiska utlöpare från t.ex. gräs. Vegetativförökning
Sklerotium	Hårt packat nystan eller klumpar av hyfer (svamptrådar).
Spor	En liten rund kropp, som ofta knoppas av från en hyf, med vilka svampen sprids och förökar sig. En spor är antingen asexuell/vegetativ (konidie) eller sexuell (askospor).
Stolon (-er)	Ovanjordiska utlöpare från t.ex. gräs. Vegetativförökning
Stroma	Ett hårt packat nystan av hyfer (svamptrådar).
Zoospor	Simmande vegetativa sporer, som kan förflytta sig på egen hand i vatten.

## Bilaga 2: Temperatur i växthuset och skötsel av gräset.

Krukorna med gräs som hade hämtats från Uppsala och Gävle förvarades i ett kallväxthus innan de flyttades till odlingsrummet på HiG.

### Temperatur i växthuset

Datum	Tid	Temp °C	Max temp	Min temp	Övrig information	Gräsets ursprung
2/10	21.00	10			Första mätningen.	Uppsala
3/10	18.00	12,3	23,5	9,0		Uppsala
4/10	17.00	16,9	24,1	4,5		Uppsala
5/10	17.15	14,8	18,9	10,5		Uppsala
6/10	18.37	7,9	14,9	4,0		Uppsala Gävle
7/10	18.37	8,6	9,4	5,5	Vattnat med växtnäring. Klippt gräset	Uppsala Gävle
8/10	16.45	12,0	20,4	8,4		Uppsala Gävle
9/10	21.30	9,2	12,4	6,0		Uppsala Gävle
10/10	17.44	12,9	19,9	6,0		Uppsala Gävle
11/10	13.56	18,3	19,4	7,0	Sista temperaturmätningen i växthuset. Gräset flyttades till Hig.	Uppsala Gävle

Bilaga 3: Temperatur i odlingsrummet och skötsel av krukorna med gräs.  
Krukorna flyttades in till ett odlingsrum på HiG ett tag innan experimentet för att få plantorna att tro det är sommar.

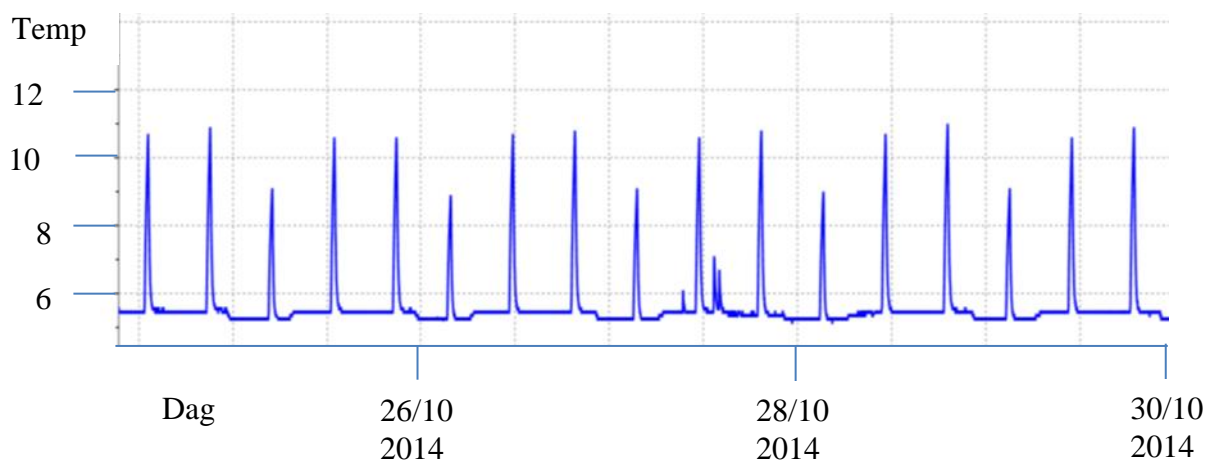
### Temperatur i odlingsrummet

Datum	Temp °C	Max	Min	Övrigt	Grässets ursprung
11/10	18,0			Första temperaturmätning inne i odlingsrummet på Hig. Klippt gräset och vattnat	Uppsala Gävle
13/10	17,0	18,4	13,5	Klippt gräset	Uppsala Gävle
16/10	18,9	18,9	16	Klippt gräset och vattnat med växtnäring.	Uppsala Gävle
21/10	19,7	20,9	17,0	Klippt gräset	Gävle
24/10	18,8			Klippt gräset	Gävle
31/10	19,6	20,9	17,5	Klippt gräset och vattnat med växtnäring.	Gävle
3/11	17,5	19,6	17,0	Klippt gräset	Gävle
7/11	19,3	19,6	17,0	Klippt gräset	Gävle
10/11	18,8			Klippt gräset	Gävle
12/11	19,0	20,1	17,5	Klippt gräset	Gävle
14/11	19,4			Klippt gräset	Gävle

## Bilaga 4: Temperaturloggning i klimatskåp 6 °C

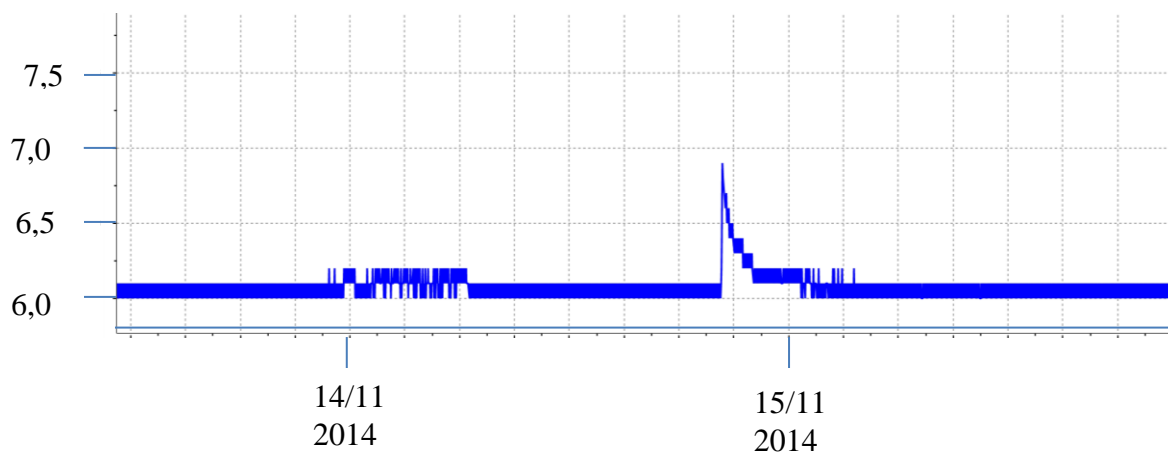
Klimatskåp: 6 °C

4a: Diagrammet visar hur temperaturen fluktuerade under den första odlingsomgången och visar endast några dagar från den tid som mätningen pågick. Temperaturmätningen skedde mellan odlingsdag 4 och odlingsdag 15 och mätningen varade mellan den 2014-10-24 och 2014-11-04.



4b: Diagrammet visar hur temperaturen såg under den andra odlingsomgången.

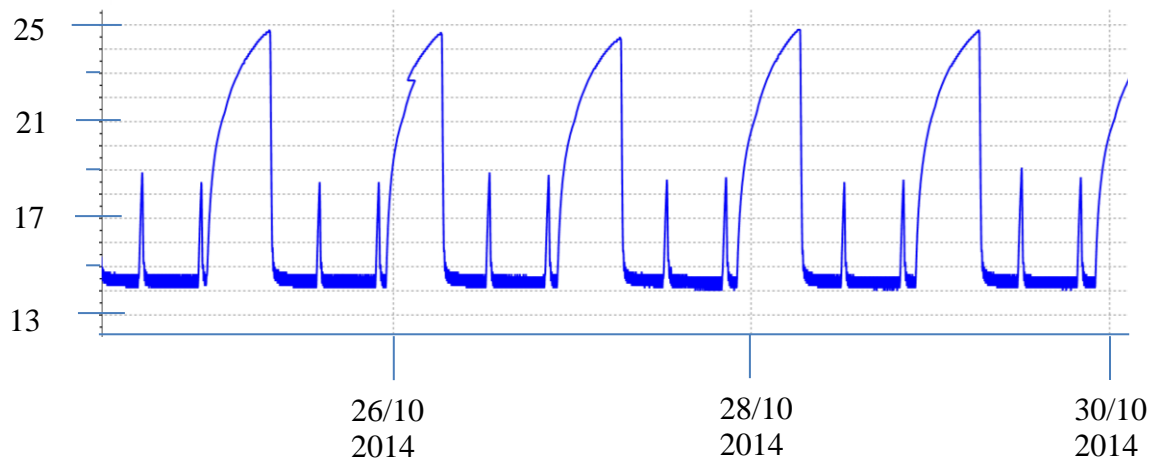
Temperaturmätningen skedde mellan dag 0 och dag 3 och mätningen varade mellan den 20



## Bilaga 5: Temperaturloggning i klimatskåp 15 °C

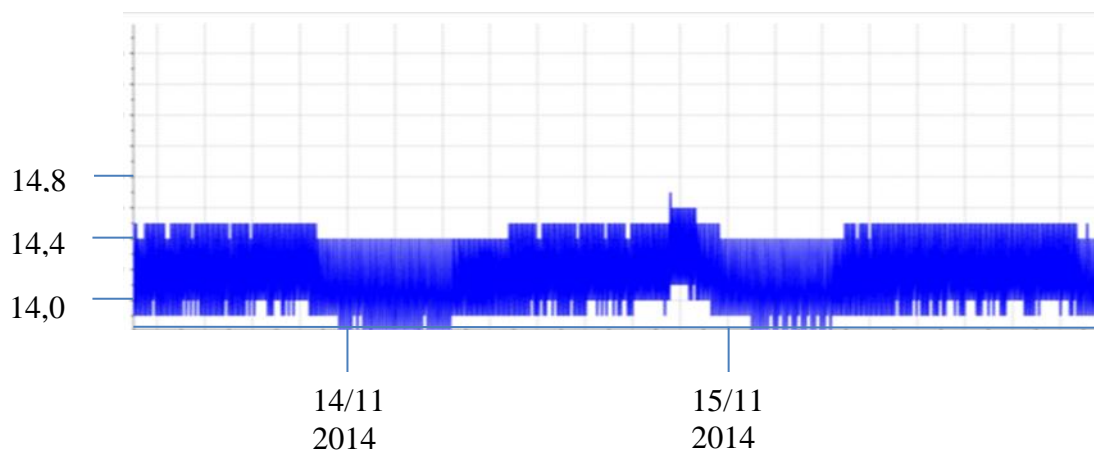
Klimatskåp: 15 °C

5a: Diagrammet visar hur temperaturen fluktuerade under den första odlingsomgången och visar endast några dagar under den tid som mätningen pågick. Temperaturmätningen skedde mellan odlingsdag 4 och odlingsdag 15 och mätningen varade mellan den 2014-10-24 och 2014-11-04.



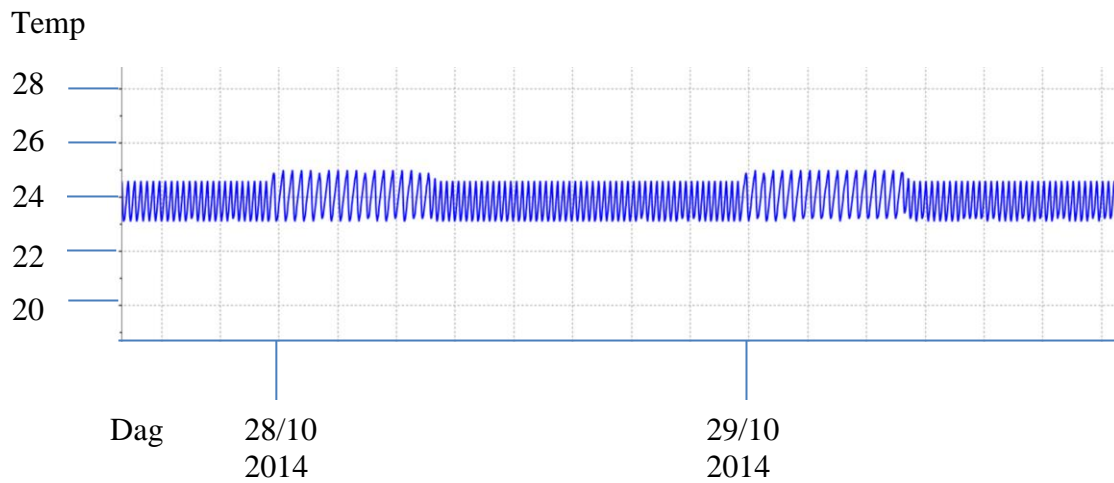
5b: Diagrammet visar hur temperaturen såg under den andra odlingsomgången.

Temperaturmätningen skedde mellan dag 0 och dag 3 och mätningen varade mellan den 2014-11-13 till 2014-11-17.



Bilaga 6: Temperaturloggning i klimatskåp 24 °C  
Klimatskåp 24 °C

Diagrammet visar hur klimatskåpets temperatur var under den andra odlingsomgången. Temperaturen fluktuerade mellan 23 °C och 25 °C. Temperaturmätningen skedde innan den andra odlingsomgången startade.



## Bilaga 7: Koordinater till GEO 2013

Koordinaterna användes till programvaran GEO 2013. Via programmet kunde arean tas fram på hur stor infektionen var i gräset.

### Koordinater GEO 2013

Punkt	X	Y
1	100	100
2	100	200
3	150	150
C	100	150

