

Udtagning af jordprøver til test for rodgallenematoder

Hvor mange stik skal man tage til en jordprøve og hvor sikker er den?

Konklusioner

- Undersøgelsen viser, at der for rodgallenematoder (*M. hapla*) og rodsårnematoderne (*Pratylenchus neglectus* og *P. penetrans*) er meget stor usikkerhed forbundet med udtagning af jordprøver. Selv 200 stik pr. prøver ikke er nok til at resultaterne bliver reproducerbare. Det skyldes formentlig, at der inden for selv få kvadratmeter kan være stor variation i antallet.
- Usikkerheden ligger i mindre grad i selve neddelingen af jordprøven. Det forudsætter dog, at jorden er tør og blandbar. Hvis jorden er våd og klistret, kan den være vanskelige at blande ensartet i en spand eller pose og endnu vanskeligere at neddele på laboratoriet.
- Undersøgelsen tyder på, at for nematode-grupperne af typerne (Para)Trichodoridae spp., Tylenchorhynchus spp. og Paratylenchus spp. er variationen ikke nær så store. Måske fordi disse nematoder er mere mobile, har flere værtplanter, er mere persistente eller simpelthen fordi der er tale om artsgrupper og ikke enkelt-arter talt under mikroskop.
- For nematodearterne *P. neglectus* og *P. penetrans* samt grupperne *Rotylenchus* spp., *Hemicycliophora* spp. og *Helicotylenchus* spp. er resultaterne præget af så stor variation, at resultaterne vanskelige at fortolke og bruge.

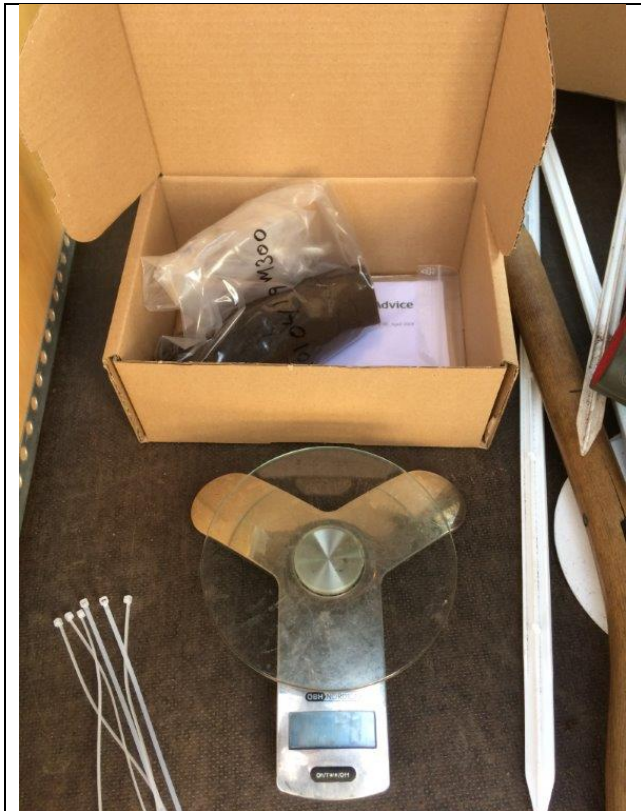
Plan

Testen er gennemført på mark nr. 300-0 ved Nørbæk, som er 4,02 ha.

På marken var der kløvergræs i 2019. Langs vejen er der en pæn bestand af kløver i græsset. I banen midt på marken er græsset tæt og kløveren lidt tynd. I den nederste bane er der ukrudt og næsten ingen græs. Der er altså en god variation i vegetation, som kan give anledning til variation i nematode-forekomsten.

Jordprøverne er udtaget som et W hen over marken – se kortet.

Jordprøverne er taget med et 25 cm jordspyd, som i gennemsnit udtager 40 g jord pr. stik. Jorden samles i en spand og fyldes i en pose. Posen rystes grundigt, hvorefter en delprøve på 600 g jord udtaget og pakkes til laboratoriet. Se foto.



W'et er først målt op og markeret med pinde. Derefter er jordprøver udtaget ved at følge W'et.

Der er udtaget 5 prøver:

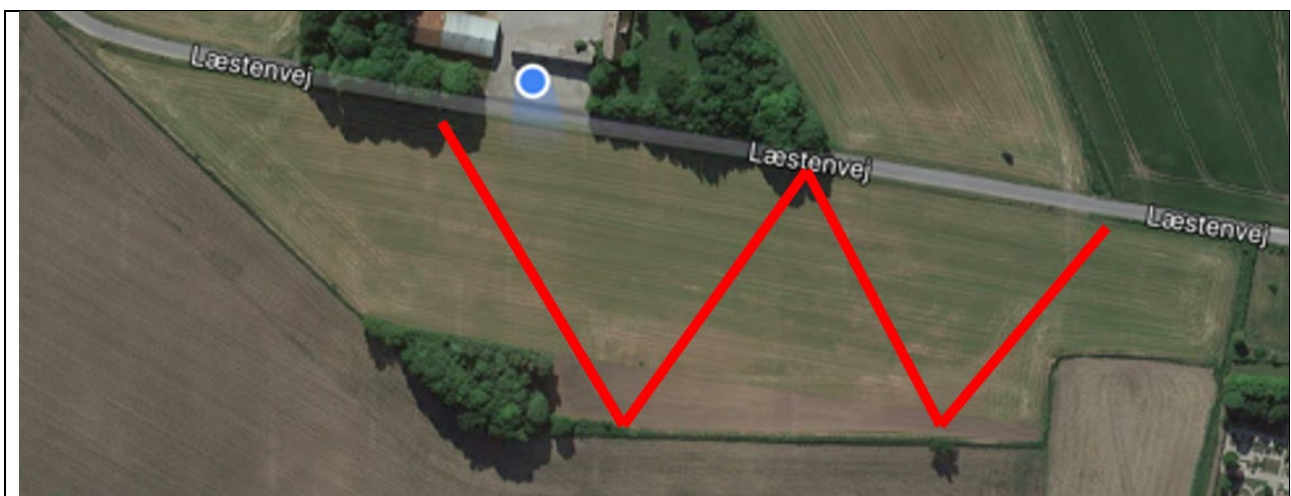
1 stik for hver 53 meter = i alt 10 stik

1 stik for hver 21,5 m = i alt 25 stik

1 stik for hver 10,7 m = i alt 50 stik

1 stik for hver 5,35 m = i alt 100 stik

1 stik for hver 2,7 m = i alt 200 stik (denne prøve er neddelt i to og sendt til samme laboratorium samme dag som de øvrige prøver)



Resultater

Resultaterne fremgår af tabellen og figurene. For nematodearterne *Pratylenchus crenatus*, (Para)Trichodoridae spp., *Tylenchorhynchus* spp. og *Paratylenchus* spp. er der ikke store forskel i resultaterne alt efter tætheden af stikkene eller i kontrollen, hvor samme prøve er sendt to gange til samme laboratorium.

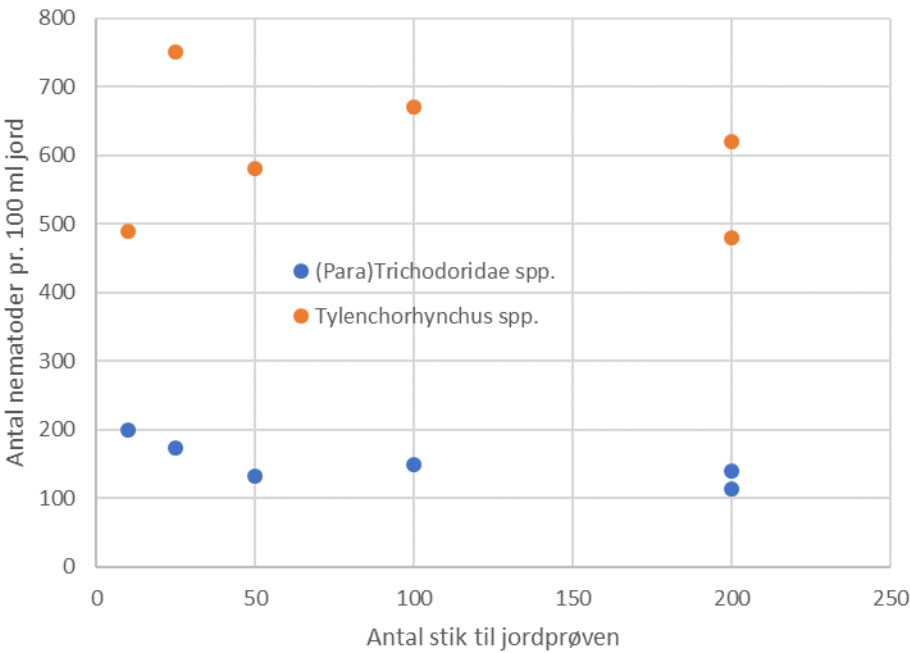
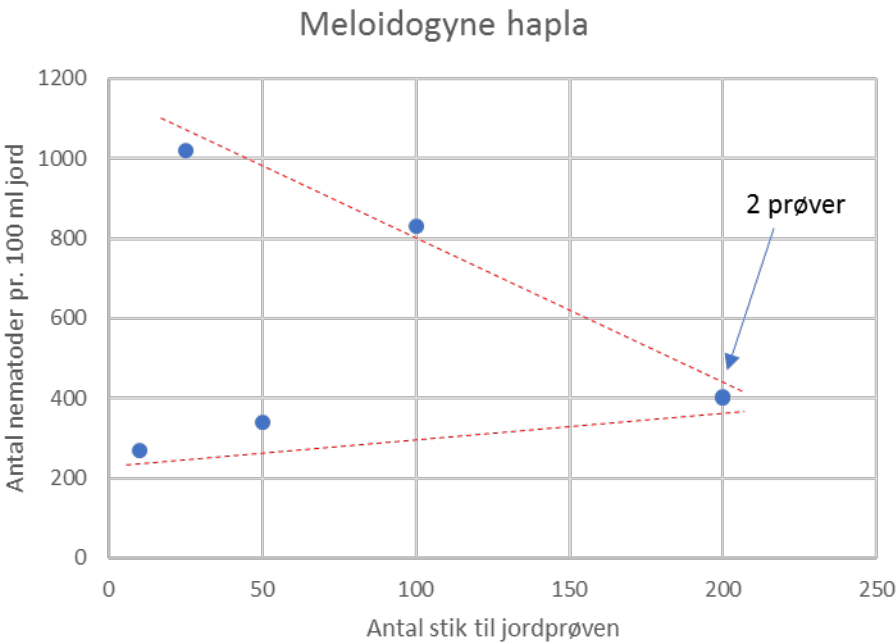
For rodgallenematoderne (*M. hapla*) derimod er der meget store variation, når prøverne er baseret på få antal stik. Først når prøven når 200 stik i samme W-bane over marken, stabiliseres resultatet omkring de 400 stk/100 ml jord. Se figuren. Hvis nu stikkene til jordprøverne havde været udtaget tilfældigt over hele marken og ikke fulgt sammen W, skulle antallet formentlig have været langt højere end 200 stk, før resultatet ville være reproducerbart. Man kan derfor konkludere, at antallet af stik på en mark af 4 ha, skal være mere end 200 før resultatet bliver reproducerbart.

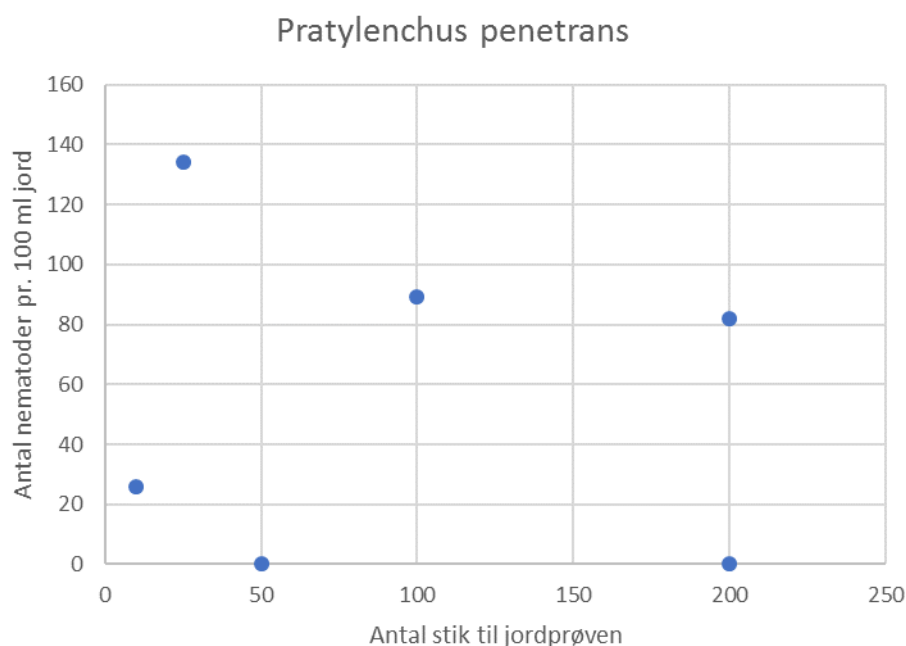
Jordprøven baseret på 200 stik som er neddelt i to og sendt til samme laboratorium giver næsten samme resultat for *M. hapla* på ca. 400 stk/100 ml jord. Det tyder på, at den store usikkerhed ikke ligger i selve neddelingen men derimod i antallet af stik som indgår i prøven og hvor på marken man vælger at stikke. For nematodearterne *P. neglectus*, *P. penetrans*, *Rotylenchus* spp., *Hemicylophora* spp. og *Helicotylenchus* spp. er variationen chokerende stor. Der er tilmed forskel mellem de to neddelte prøver af 200 stik.

Jordprøver udtaget i samme W over en mark på 4,02 ha						
<i>meter mellem hvert stik:</i>	53 m	21,5 m	10,7 m	5,35 m	2,7 m ¹⁾	
<i>antal stik til én prøver:</i>	10	25	50	100	200	200
<i>Pratylenchus crenatus</i>	243	536	614	492	520	656
<i>Pratylenchus neglectus</i>	20	0	136	49	0	82
<i>Pratylenchus penetrans</i>	26	134	0	89	0	82
Meloidogyne hapla	270	1020	340	830	400	403
(Para)Trichodoridae spp.	200	1 73	133	150	140	113
<i>Tylenchorhynchus</i> spp.	490	750	580	670	480	620
<i>Rotylenchus</i> spp.	0	0	460	0	0	0
<i>Hemicylophora</i> spp.	90	10	0	0	0	10
<i>Helicotylenchus</i> spp.	0	0	0	0	0	10
<i>Paratylenchus</i> spp	10	50	90	60	20	20
Cystenematoder	10	0	10	0	20	0
Ikke planteskadelige nematoder	5640	5530	4210	4280	5050	3880

¹⁾: samme jordprøve er neddelt i to og sendt til samme laboratorium.

Figurer





Hvor længe kan prøverne ligge inden de sendes til laboratoriet?

Konklusion: Jordprøver skal udtages på et tidspunkt hvor jorden let blandes / homogeniseres inden neddeling og forsendelse. Prøverne kan herefter ligge i køleskab i godt én uge inden afsendelse, under forudsætning af at de sendes direkte til laboratoriet.

En af jordprøverne fra ovenstående forsøg blev omhyggeligt blandet og neddelt i 5 dele og pakket klar til afsendelse til laboratoriet. Den første prøve blev sendt straks samme dag. De øvrige prøver blev placeret i køleskab og sendt til samme laboratorium med 14 dages mellemrum. Alle prøver er pakket i papæske med bobleplast og sendt med GLS. Resultaterne fremgår af tabellen. Én af prøverne ankom ikke til laboratoriet og er formentlig forsvundet under transporten eller i forbindelse med aflevering.

Jordprøver udtaget samme dag, neddelt og sendt på forskellige datoer

	Indsendt til laboratoriet			
	06-sep	20-sep	18-okt	01-nov
Pratylenchus crenatus	492	330	596	649
Pratylenchus neglectus	49	142	54	81
Pratylenchus penetrans	89	142	0	0
Meloidogyne hapla	830	480	620	50
Meloidogyne naasi				
(Para)Trichodoridae spp.	150	210	0	0
Trichodorus primitivus	0	0	60	80
Tylenchorhynchus spp.	670	530	390	570
Rotylenchus spp.	0	10	0	0
Hemicycliophora spp.	0	0	27	20

Helicotylenchus spp.	0	10	0	0
Paratylenchus spp	60	0	100	20
Cystenematoder	0	0	80	180
Ikke planteskadelige nematoder	4280	4820	3920	3480

100 stik eller stik for hver 5,35 meter den 6. september 2019.

Jordprøverne har været opbevaret i køleskab ved 5 gr.

Der er en uforklarlig variation i resultaterne som kan skyldes neddeling af prøverne på laboratoriet eller i marken. Det er derfor vigtigt, at jordprøver udtages på et tidspunkt hvor jorden ikke er for våd og hvor jorden straks efter udtagning i marken homogeniseres / blandes, så neddeling på laboratoriet ikke bliver en ekstra udfordring for analysens resultat.

Resultaterne tyder også på at de fleste nematodearter fint kan tåle opbevaring i en måned i køleskab emballeret i plasticpose klar til afsendelse. Trichodoridae og P. penetrans tåler måske i mindre grad længere tids opbevaring.

Ringanalyse

Konklusion: Der er nogen variation i resultater og angivelserne mellem forskellige nematode-laboratorier. Variationen kan skyldes transport, neddeling eller analysemetode. Denne variation skal man tage højde for når resultaterne fortolkes i forhold til en skadetærskel. Jordprøver bør sendes til samme laboratorium, hvis resultaterne skal sammenlignes.

Plan

Der blev udtaget en jordprøve fra mark 300-0 den 1. april 2019. Prøven blev blandet / homogeniseret omhyggeligt inden neddeling i 5 prøver, som herefter blev pakket på samme måde i papæske med bobleplast og følgebrev. Prøverne blev sendt 2. april med GLS til fire forskellige laboratorier og en kontrol til AAU, Flakkebjerg. AAU, Flakkebjerg er ikke certificeret til at lave nematodeanalyser, hvorfor der her alene blev talt M. hapla under mikroskop som kontrol. Ifølge laboratorierapporterne ankommer jordprøverne ca. 6-8 dage efter (de er formentlig ankommet om fredagen tre dage efter afsendelse men først registeret om mandagen).

Prisen for analyserne varierer fra 665 kr./prøve til godt 1400 kr./prøve.

Resultaterne fremgår af tabellen. De fire forskellige laboratorier er angivet som laboratorie 1, 2, 3 og 4. Ud fra efterfølgende besøg og samtaler med de forskellige laboratorier ser det ud til at der nogen forskel på hvordan analyserne udføres og hvordan resultaterne opgøres samt hvilke skadetærskler laboratorierne angiver. Et af laboratorierne udfører inkubation som standard. For de øvrige skal man angive ønske om inkubation. Inkubationsperioden kan være fra få dage til 14 dage. Nogle af nematoderne optælles under mikroskop og/eller i kombination med QPCR (dna-test) men ikke efter samme procedure ved laboratorierne og med forskellige primere. I analyserapporterne angives antallet af nematoder pr. 100 ml jord og med et nul hvor den pågældende art ikke findes. Andre gange angives arterne slet ikke i analyserapporten. Det kan for læseren af rapporter være vanskeligt at fortolke hvad forskellen er på 0 og ingen ting ! Og det kan være svært at sammenligne resultaterne fra forskellige laboratorier. Det kan derfor anbefales, at man som bruger vælger samme laboratorie for alle prøver, så resultaterne bliver sammenlignelige.

Der er også lidt forvirring vedr. optælling af arter inden for samme gruppe. Det sker f.eks. nogle gange at rapporterne kommer retur med et antal *Tylenchorhynchus* spp. samt antal under *T. similis*. Analyseresultaterne kan også springe meget i værdierne når man tester sammen jordprøve to gange. Det gælder f.eks. arter af *Pratylenchus*. Disse arter er vanskelige at tælle under mikroskop og hvis der er mange, fortyndes prøven for lettere at kunne artsbestemme dem, hvorefter antallet ganges op med fortyndingsgraden. Herved opstår ekstra usikkerhed om antallet og spring i værdierne. Der er således en del usikkerhed i resultaterne, som man skal tage højde for, når laboratorierne sammenlignes og resultaterne fortolkes. Afgivelser kan således også opstå pga transporttiden og temperaturen under transporten eller når prøverne neddeles i marken eller på laboratoriet. Når laboratorierne modtager jordprøverne, ankommer jorden i en sammenpresset klump. Den klump kan være svært at bryde og neddele ensartet. Laboratorierne har igen særligt teknik til at udføre denne neddeling og forudsætter at prøveudtageren i marken har blandet jordprøven grundigt inden forsendelse.

Ringanalyse af 600 g jord fra mark 300-0 opgjort i stk nematoder pr. 100 ml jord

Ringsanalyse af 600 g jord fra mark 300-0 opgjort i stk nematoder pr. 100 ml jord																											
	Cyst nematodes	Root lesion nematodes				Root knot nematodes				Stem nematodes	Free living root nematodes															Destructo r nematod es	Aphelen choides
		Pratylenchus penetrans	Pratylenchus crenatus	Pratylenchus neglectus	Pratylenchus sp.	Meloidogyne hapla	Meloidogyne chitwoodi	Meloidogyne fallax	Meloidogyne naasi	Ditylenchus dipsaci	Trichodoridae (overige)	Paratrichodorus pachydermus	Paratrichodorus sp.	Tylenchorhynchus dubius	Tylenchorhynchus spp.	Trichodoridae (T. similis)	Rotylenchus uniformis	Helicotylenchus	Hemicric nemoides	Hemicyclorhophora	Longidoridae	Saprofag	Ikke planteskadelige	Ditylenchus destructor	Aphelenchoides		
	Heteroderidae																										
Lab1 ¹⁾	36	0	18	0	0	14	0	0	0	0	10	-	0	-	-	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-		
Lab2 ¹⁾	-	-	-	-	20	4	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Lab3 ²⁾	150	0	745	165	-	30	-	-	-	-	10	-	10	-	540	-	-	-	-	-	-	-	3230	-	-		
Lab4 ²⁾	-	3	56	35	-	13	-	-	-	0	0	26	5	53	158	-	0	0	0	0	-	-	-	0	0		

AAU Flakkebjerg ³⁾

27

¹⁾: uden incubation

²⁾: med incubation

³⁾: til kontrol af M. hapla blev neddelt prøve også sendt til AAU, Flakkebjerg og M. hapla talt under mikroskop. De øvrige nematodearter er ikke opgjort.

0 = at laboratoriet har undersøgt og ikke fundet arten

- = at laboratoriet ikke oplyser noget om arten. Man skal i stedet læse det med småt i rapporten for at se om arten er på listen over de arter som de kigger efter.

Hvis man alene betragter optællingen af M. Hapla (rodgallenematoderne), varierer antallet fra 4 til 30 stk/100 ml jord alt efter laboratorie. Den variation skal man holde sig for øje, når analyseresultater fra laboratorierne fortolkes og skadetærsklen defineres.

Irm, 20.12.2019

Den Europæiske Landbrugsfond for Udvikling af Landdistrikterne: Danmark og Europa investerer i landdistrikterne



Miljø- og Fødevareministeriet
Landbrugsstyrelsen



Den Europæiske Landbrugsfond
for Udvikling af Landdistrikterne

LDP 2020



Projektet har i 2018 og 2019 fået tilskud fra Produktionsafgiftsfonden for frugt og gartneriprodukter og fra Miljø- og Fødevareministeriets Erhvervsudviklingsordningen 2016 – udviklingsprojekter: "Den Europæiske Landbrugsfond for Udvikling af Landdistrikterne: Danmark og Europa investerer i landdistrikterne"