



Forord.

Denne oppgåva vart skriva som ein del av mastergradstudiet ved Institutt for plantevitenskap (IPV) ved Norges miljø og biovitenskapelige universitet (NMBU) på Ås. Oppgåva vart gjort i samarbeid med Bioforsk og er ein del av forskingsprosjektet «FriskeTre». Forsøka vart gjort ved Bioforsk Plantehele på Ås og Bioforsk Ullensvang på Lofthus.

I arbeidet med å gjennomføre denne oppgåva har fleire hjelpt meg på vegen, og takksemd er difor på sin plass. Takk til Andrew Dobson som tok godt hand om og haldt liv i grunnstammene til forsøka på Ås. På laboratoriet ved Bioforsk Plantehele fekk eg god rettleiing i tillaging av sporesuspensjon av Gunn Mari Strømeng og hjelp til oppformeiring og inkubering av soppen på agarskåler av Trude L. Slørstad. Takk til fotograf og sekretær Astrid S. Nesse som medverka i registreringa av forsøka på Ås. Takk til alle ved Bioforsk Ullensvang for ein fin sommar og for å gjera arbeidet med forsøka på Lofthus til ein leik.

Takk også for god rettleiing, tips, og dytt i rett retning av mine rettleiarar Arne Stensvand, Venche Talgø og Jorunn Børve. Mange kokkar har ein tendens til å søla, men i ein travel kvardag har dei samarbeid godt og funne tid til å hjelpa meg med oppgåva. I tillegg til rettleiing hjalp Venche Talgø til med registrering og bilete etter inkuberinga frå forsøka på Ås. Ein ekstra stor takk til Jorunn Børve som gjorde delar av forsøka på Lofthus, tok bilete og gav meg artiklar om alt som er verdt å vita om frukttrekraft. Dessutan kan Jorunn svara snøggare på e-post, enn Lucky Luke kan trekkja revolvaren.

Takk til vener og familie som har diskutert både fagleg innhald og språklege vendingar og medverka til å halda motet oppe.

Samandrag

Sjukdommen frukttrekraft er årsaka av soppen *Neonectria ditissima*, som angrip epletre og kan gje store skadar både på frukta og trea. Det har lenge vore mistanke om at epletrea kan vera infiserte av sjukdomen allereie ved planting. Kor vidt grunnstammer kan verta infiserte har ikkje tidlegare vorte dokumentert. Dersom grunnstammene kan verta smitta, korleis skjer dette under oppalet og kva inngangsport vert hyppigast brukt for å danna infeksjonar? Denne problemstillinga vart undersøkt ved å testa ulike grunnstammer og ulike inokuleringsmetodar.

Dei ulike inokuleringsmetodane brukt i forsøka var inokulering med ved å stikka nåler med inokulum i grunnstamma, ved å dusja grunnstamma med sporesuspensjon og ved å dryppa sporesuspensjon i såret på nytoppa grunnstammer. Inokuleringa gjekk føre seg til ulike tider, og grunnstammene fekk ulik behandling i form av pinsering og topping.

Forsøka viste at alle grunnstammene kan verta infiserte, men det var skilnad i kor effektive dei ulike inokuleringsmetodane var. Grunnstammer som var inokulerte med å stikka infiserte nåler i planta, hadde stort sannsyn for å utvikla infeksjon og grunnstammene viste symptom etter fire veker. Inokulering med infiserte nåler førte til fleire infeksjonar på skota enn på stamma. Inokulering med å dusja grunnstammene med sporesuspensjon gav svært lite infeksjon, og det var ikkje symptom før etter elleve veker. Grunnstammene var mest mottakelege for *N. ditissima* om dei vart dusja med sporesuspensjon same dag som dei vart pinserte, medan grunnstammer som var pinserte ein eller tre dagar før dusjinga utvikla mindre infeksjon. Inokuleringsmetoden med å toppa grunnstammer og å dryppa sporesuspensjon direkte i såret, gav infeksjon av frukttrekraft i alle tilfella.

Alle grunnstammene som vart testa, M9, B9, M26 og MM106, kan utvikla infeksjon av frukttrekraft, og det var ikkje skilnad mellom kor mottakelege dei er. Når det vart laga eit sår i grunnstamma, enten ved å stikka inn ei nål eller ved å klyppe av toppskotet, var sjansen stor for utvikling av infeksjon i såra. Dersom såra i grunnstamma kom av at skota vert revne av ved pinsering, var stamma mindre utsett. Yngre plantevev er meir mottakeleg for infeksjon enn eldre plantevev.

Resultata viser at for å seinka risikoen for infeksjon av frukttrekraft, er det viktig å visa omsyn når ein handterer grunnstammer for å unngå skadar. Når grunnstammer vert toppa, pinserte og poda bør det setjast inn tiltak mot frukttrekraft, og ein bør unngå å ha smittekjelder i nærleiken.

Abstract

The apple canker disease (aka European canker), which is caused by the fungus *Neonectria distissima*, infects apple trees and can cause severe damage on both the fruit and the tree itself. For some time it has been assumed that apple trees may be infected as early as the planting stage. There is, however, no previous documentation on rootstock infection. If rootstocks can get infected, how does this happen and what is the entry point for the infection? This project has investigated the issue by means of testing different kinds of rootstocks and different methods of inoculation.

The different methods used were inoculation by pricking the rootstock with needles containing inoculum, spraying the rootstocks with a spore suspension and dripping spore suspension in the wound made after cutting off the top shoot of the rootstock. Inoculation occurred at different dates, and the rootstocks received different treatments of pinching and topping.

The experiments showed that all rootstocks may become infected by apple canker, although there was a difference in how effective the different methods of inoculation were. The rootstocks which were inoculated by needles containing inoculum had a high probability of developing infections and showed symptoms of infection after four weeks. Needles with inoculum inserted into the shoots provoked earlier symptoms than those inserted into the stem. Inoculation by spraying the rootstocks with a spore suspension developed very little infection, and did not show symptoms until eleven weeks after inoculation. Results also showed that, the rootstocks were most prone to develop infections if they were pinched the same day as they were sprayed with spore suspension. Rootstocks pinched one or three days before being sprayed with spore suspension developed fewer infections.

All rootstocks tested, M9, B9, M26 and MM106, developed infections of apple canker, and there was no difference in susceptibility. When wounds were made in the rootstock, either by pricking with a needle or by cutting the top off, the infection levels after inoculation were high. If the wounds were made by pinching off the shoots, however, the probability of infection was low. Wounds in younger tissue were more susceptible for infection than wounds in older tissue.

The results show that to reduce the risk of infection of apple canker, it is important to be considerate while handling rootstocks to avoid damages. When pinching, topping and grafting one should take precautions to avoid apple canker and be aware of potential sources of inoculum in the near vicinity.

Innhald

1	Innleiing	6
2	Litteratur og teori	7
2.1	Historie	7
2.2	Taksonomi	7
2.3	Symptom.....	8
2.4	Biologi	9
2.4.1	Livssyklus.....	9
2.4.2	Sporar og formeiring	10
2.5	Tilhøve for infeksjon	11
2.6	Smittevegar	12
2.7	Tiltak.....	12
2.8	Grunnstammer	13
2.8.1	Grunnstammer i Noreg.....	13
2.8.2	Oppal av grunnstammer i Noreg	14
3	Material og metodar	15
3.1	Stell av grunnstammene.....	15
3.2	Bruk av plantevernmiddel	18
3.3	Patogen	18
3.4	Ulike inokuleringsmetodar	19
3.4.1	Inokulering med nåler	21
3.4.2	Inokulering med dusjing av sporesuspensjon.....	22
3.4.3	Inokulering med sporesuspensjon på nytoppa plante.....	24
3.4.4	Spireevna til patogenet	24
3.5	Pinsering og topping.....	25
3.6	Registreringar	26
3.6.1	Inkubering	28
3.7	Statistikk	29
3.7.1	Gjennomsnitt, standardavvik og standardfeil.....	29
3.7.2	Statistisk skilnad.....	30
3.7.3	Arealet under kurva.....	31

4	Resultat	32
4.1	Resultat frå inokulering med nåler	32
4.1.1	Arealet under kurva for grunnstammer inokulert med nåler.....	36
4.2	Resultat frå inokulering med dusjing av sporesuspensjon.....	38
4.3	Resultat frå sporesuspensjon på nytoppa M9-grunnstamme	41
4.4	Smitteforsøk på grunnstammesortane M9, MM106 og M26.	41
5	Diskusjon	43
6	Litteraturliste.....	46

1 Innleiing

Frukttrekreft (*Neonectria ditissima*) er ein alvorleg skadegjerar på eple både i norsk og europeisk samanheng. I Nord-Europa er frukttrekraft, saman med epleskurv (*Venturia inaequalis*) dei sjukdommane som årsakar størst økonomisk tap på epletre (Weber, 2014). *N. ditissima* trengjer inn i veden gjennom naturlege sår, til dømes arr etter bladfall og sprekker i borken, og andre sår som kjem av pinsering og skjering av epletrea. Det vert danna infeksjonar som utartar seg anten som roteflekkar på epla, eller som kreftsår i veden med svulma vev rundt. Infeksjonar i veden svekkar veksekrafta og kan ta livet av greina den er på. Særleg på unge epletre og grunnstammer kan det verta store tap, sidan både stamma og hovudgreiner kan døyr ved infeksjon (Weber, 2014). På større tre er det som regel berre små greiner som døyr av infeksjon.

Det har lenge vore mistanke om at grunnstammer kan ha infeksjonar av *N. ditissima* som ligg latent i veden, og bryt ut ved planting. Fleire døme har vist at nyplanta epletre utviklar infeksjonar av frukttrekraft som etter alt å døma må ha kome frå oppalet (Weber & Hahn, 2013). Tidlegare undersøkingar har indikert at *N. ditissima* kan liggja latent i veden på unge tre og startar fyrst å danna infeksjon når treet vert planta ut (Kennel, 1963; Jansonius et al., 2004). Ei anna studie viser at infiserte epletre kan vera symptomfrie i minst 3 år før sjukdomen kjem til syne (McCracken et al., 2003).

I denne masteroppgåva har det vore jobba med problemstillinga om kor vidt grunnstammer kan verta smitta av frukttrekraft. Ved å utføra ulike inokuleringsforsøk vart det undersøkt om det finst skilnad i motstandskraft mellom ulike typar grunnstammer, ulike inokuleringsmetodar og ulike vekstforhold som pinsering og topping. Forsøk vart også gjort for å sjå om grunnstammer kan smittast til ulike tider etter pinsering av sideskota.

2 Litteratur og teori

2.1 Historie

Frukttrekreft har vore ein alvorleg skadegjerar for fruktdyrkarar i lang tid. Den tidlegaste beskrivinga av *N. ditissima* finn me truleg frå rundt 1880 i ei publisering om kreftsår på frukttre (Goethe, 1880). Hartig skildra ein liknande sjukdom på eit utval av lauvtre i ei studie publisert i 1882 (Hartig, 1882). I 1921 vart det skildra korleis soppen når inn til vevet gjennom små sprekkar i borken som oppstår etter bladfall eller knoppskyting (Wiltshire, 1921), same år som Cayley gav ut ei studie med livshistorien til *N. ditissima* med omsyn på bruk av fungicid (Cayley, 1921). Detaljar om sjukdommen frukttrekreft og anatomien til lesjonane vart publisert i 1926 (Zeller, 1926). Etter dette er det vorte gitt ut ei rad studiar om både frukttrekreft og skadegjeraren *N. ditissima*.

2.2 Taksonomi

Neonectria ditissima er det vitskapelege namnet på sekksporesoppen som årsakar frukttrekreft på epletre. Den anamorfe (ukjønna) fasen med konidiar vert kalla *Cylindrocarpon heteronema*. Basert på særprega i kjønna og ukjønna stadium, i tillegg til prov frå molekylære fylogenetiske studiar, syner det at soppen høyrer heime i ei godt definert taksonomisk gruppe (Castlebury et al. 2006; Chaverri et al. 2011).

Tabell 2-1. Vitskapeleg klassifisering av *Neonectria ditissima*

Vitskapeleg klassifisering	
Rike:	Fungi (soppriket)
Rekkje:	Ascomycota (sekksporesoppar)
Klasse:	Sordariomycetes
Underklasse:	Hypocreomycetidae
Orden:	Hypocreales
Familie:	Nectriaceae
Slekt:	<i>Neonectria</i>
Art:	<i>Neonectria ditissima</i>

Det vitskapelege namnet til frukttrekreftsoppen har endra seg mykje dei siste 150 åra. Basert på rekkevidda av vertplanter og mikroskopiske detaljar har namna *Nectria ditissima* Tul & C. Tul (på 1900-talet) og *Nectria galligena* Bres. (modifisert til *Neonectria galligena* Bres. i 1995) vore

brukt. Nyare studiar synar at *N. ditissima* og *N. galligena* høyrer saman i ein art, og namnet *N. ditissima* (Tul & C. Tul) Rossman & Samuels vert brukt no (Castlebury et al. 2006; Chaverri et al. 2011).

N. ditissima har eit stort spekter av vertplanter som inkluderar eple (*Malus*) og pære (*Pyrus*) i tillegg til andre artar av lauvtre som *Alnus*, *Betula*, *Crataegus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Ilex*, *Juglans*, *Populus*, *Quercus*, *Ribes*, *Salix*, *Tilia* og *Ulmus* (Flack & Swinburne, 1977; Farr et. al, 1989). Tidlegare studiar har vist at isolat av *N. ditissima* frå dei ulike artane, ikkje nødvendigvis kan infisera dei andre (Flack & Swinburne, 1977). Dette syner at det truleg er eigne vertspesifikke variantar av *N. ditissima* som høyrer heime i si ei eiga taksonomiske gruppe (*formae specialis*), avhengig av kva vertplanter soppen går på.

2.3 Symptom

Symptom på frukttrekraft kan oppstå i borken, veden, frukta og blada på epletrea. I veden artar nye infeksjonar seg oftast som små sirkulære og brunt misfarga områder som startar i arra etter bladfall, sår i veden, greinstubbar eller i greinbasis. Etter ei tid vil infeksjonssåret søkkja ned litt og får ei mørk misfarging, medan området rundt vil svulma opp. Eldre infeksjonar dannar med åra ringar rundt sår. Over tid vert det danna fleire ringar, og utsjånaden kan minne om årringane i eit tre (Swinburne, 1975).

Infeksjonar av frukttrekraft på frukta fins i form av begerrøte eller lagerrøte. Nokre eple utviklar begerrøte medan dei heng på trea. Begerrøten startar som regel som rotflekker rundt begeret på epla (Berrie, 1989). Om infeksjonen får utvikle seg, vert det til ein innsokken og blaut rote, som dannar lyse sporeputer. Det vanlegaste er at infeksjonar på eple utviklar seg som lagerrøte etter at dei har vorte lagra over tid. Symptom på lagerrøte liknar begerrøte. Røteflekkar vert utvikla ved begeret eller stilken på eple, avhengig av kor infeksjonen finn stad (Berrie, 1989).

Sjølv om blada ikkje vert særleg skadd av frukttrekraft, kan det oppstå symptom som kan indikere at *N. ditissima* er til stades. Misfarging på vedvev og daude blad nær infeksjonar i stamma (fig. 2-1), skuldast truleg danning av eit ukjent giftstoff soppen utviklar frå det infiserte området (Naqvi, 2004).



Fig. 2-1. Symptom på M9-grunnstammer frå inokuleringsforsøka på Ås. Grein med dautt lauv over infeksjonsstaden etter inokulering med nål med *Neonectria ditissima* i toppskot (A). Infeksjon med mørkebrun misfarging av frukttrekraft i toppskot på grunnstamme av M9 (B). Foto: Svein André Kolltveit

2.4 Biologi

2.4.1 Livssyklus

Nye infeksjonar av frukttrekraft vert danna av anten konidiar eller ascosporar av *N. ditissima*, oftast i sår på epletrea (fig. 2-2). Første året etter infeksjon vert det ukjønna stadiet av sporodocium danna i såret, og konidiar som kan spreia soppen vidare (Agrios, 2005). Konidiar spreier seg med regnsprut over ei kort rekkevidde, som regel i bladverket på treet eller kanskje også til nabotrea om dei står tett. Konidiane overvintrar som mycel i infeksjonane. Perithecium er sporehus med kjønna ascosporar, og vert sjeldan utvikla før to år etter infeksjon (Swinburne, 1975). Ascosporar er vindspreidde og kan difor spreia seg over lengre avstandar enn konidiar. Overvintring av ascosporar går føre seg i peritecier på infeksjonane. Som eit forsvar mot infeksjonar av frukttrekraft, vil planta danna callus-lag rundt infeksjonen og over fleire år vert det danna fleire lag med callus som gjev ein karakteristisk utsjånad (Agrios, 2005), som kan minne om åringane i eit tre.

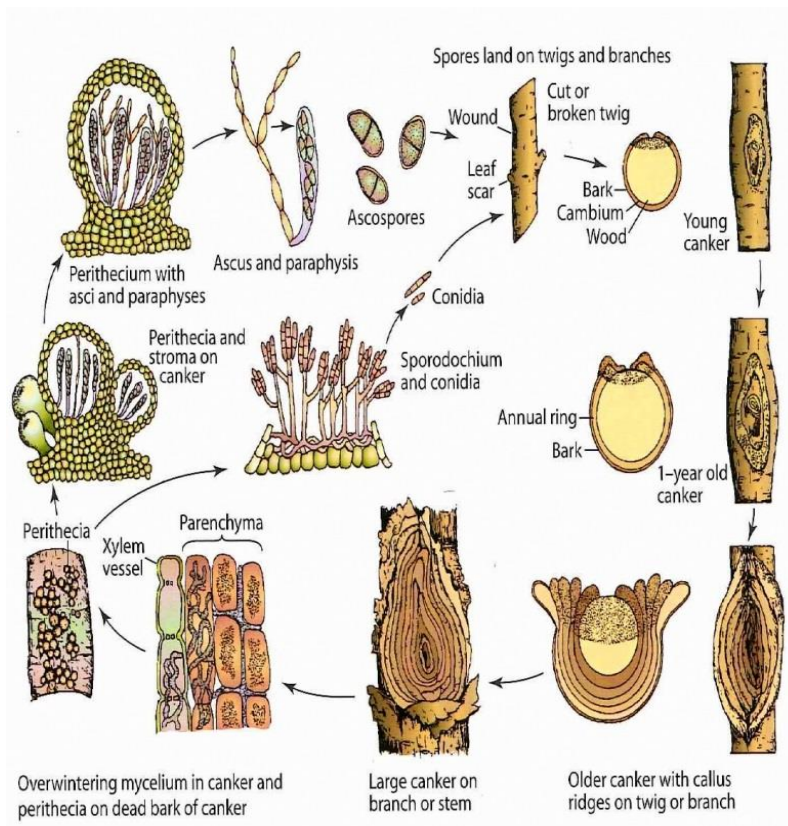


Fig. 2-2. Sjukdomssyklusen til frukttrekraft som vert forårsaka av *Neovectria ditissima* (Agrios, 2005).

2.4.2 Sporar og formeiring

Det vert produsert to typar konidiar av *C. heteronema*, makrokonidiar og mikrokonidiar (Booth, 1966). Makrokonidiar av *C. heteronema* er septerte og har som regel fem septa, men det kan variera frå ein til fem. Dei er avlange og som regel rette, men kan vera litt bøygde (fig. 2-3). Mikrokonidiane er mindre enn makrokonidiane og er forma som korte sylindrar, eller er ellipseforma. Dei er som regel aseptate, men kan ha eit septa. Det er vanskeleg å skilja mikrokonidiar frå korte eller uutvikla makrokonidiar. Makrokonidiar kan i stor grad utvikle infeksjonar, medan den epidemiologiske rolla til mikrokonidiane er meir usikker (Zeller, 1926; Saure, 1961a).

Ascosporar av *N. ditissima* er elliptiske i forma, har eit septa og ei svak innsnevring ved septum (Seemüller, 1988). Ascosporane ligg i ein sporesekk kalla ascus (asci i fleirtal), som igjen ligg verna i eit perithecium. Det er utifrå denne sporesekken at ascosporane vert skotne ut og kan spreia seg, anten med vind eller regnsprut (Saure, 1961b; Wessel 1979).

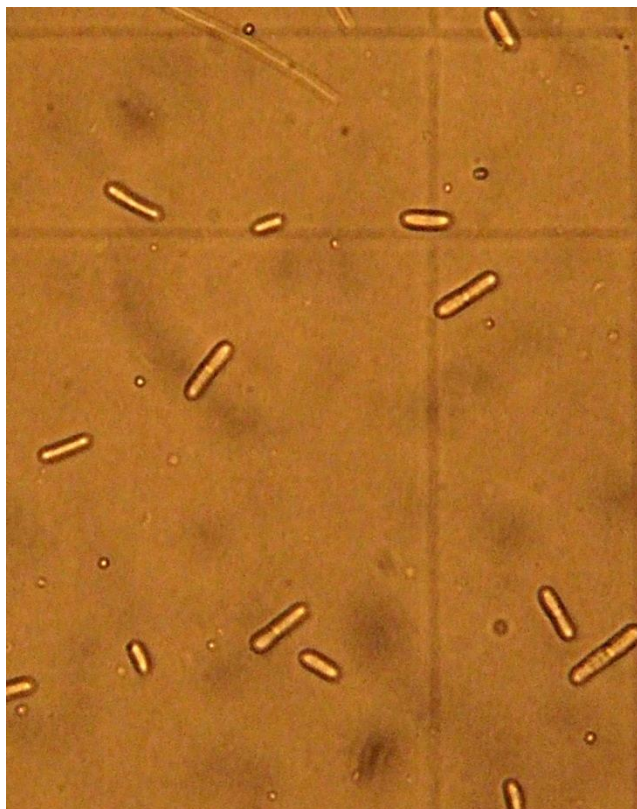


Fig. 2-3. Makrokonidiar av *Cylindrocarpon*-stadiet av *Neonectria ditissima*, som vart brukt som inokulum til inokuleringsforsøka på Ås og Lofthus. Foto: Svein André Kolltveit

Infeksjonar oppstår med opphav i begge sporetypane på både vedvev og frukt. Sporane kan infisere eit kva som helst sår i veden, som til dømes sprekker i borken, skadar etter skjering og sår etter bladfall (Saure, 1961a; Kennel, 1963; Swinburne 1971; Graf, 1976). Unge infeksjonar på veden dannar nye konidiar, men sjeldan perithecium før 2 år etter infeksjon (Swinburne, 1975).

2.5 Tilhøve for infeksjon

For at *N. ditissima* skal veksa og kunna danna infeksjonar, må visse tilhøve vera lagt til rette i miljøet rundt. Både passeleg temperatur og fuktig klima er nødvendig for at soppen skal kunna fullføra livssyklusen. Eit *in vitro*-studie viste at sporar av *N. ditissima* (isolat frå Chile) spirer ved temperaturar frå 5 til 32° (Latorre et al., 2002). Andre studium har stadfesta rekkevidda og vist at spiring kan skje heilt ned til 1°C, medan spiringa aukar kraftig frå 6°C og oppover til eit optimum på rundt 20-25°C og stoppar over 30°C (Munson, 1939; Saure, 1961a; Krämer, 1980; de Jong & van der Steeg, 2012).

I tillegg til temperatur er det også naudsynt med ei fuktig overflate på epletrea for at *N. ditissima* skal utvikla infeksjon. Feltforsøk med inokulering av sår etter bladfall har vist at ved 10°C tek det

24 timer med ei fuktig overflate for å utvikla infeksjon, medan ved 15°C tek det 10 timar og ved 20°C tek det kun 2 timar (Latorre et al., 2002). *N. ditissima* sporulerar, spreier sporar og dannar infeksjonar fortrinnsvis i regnvêr. Lengd og frekvens av regnvêr har vist seg å vera viktigare enn mengd regnvêr i høve til sporulering, spreining og utvikling av infeksjonar (Dubin & English, 1974 & 1975). Regnsprut spreiar sporane berre nokre centimeter per drope, men vedvarande regn spreiar sporane effektivt gjennom heile bladverket (Madden, 1997).

2.6 Smitteveggar

Alle bakteriar, viroid og dei fleste soppar som infiserer planter, er avhengige av ein opning for å trengja inn i vevet og starta infeksjonen (Agrios, 2005). Dette kan vera alt frå små naturlege opningar i planta, som spalteopningar (stomata), til djupe sår i vevet. *N. ditissima* infiserer sjeldan epletrea om det ikkje er opne sår i veden, slik at soppen kan gå inn i vevet. Sår etter bladfall er kjent som den viktigaste inngangsporten for *N. ditissima* (Saure, 1961a; van der Scheer, 1974; Swinburne, 1975; Graf, 1976). Infeksjonen startar i sprekkar i sjølve såret etter bladfall på hausten (Wiltshire, 1921). Såra som oppstår etter skjering er også kjent som ein viktig inngangsport for infeksjon (Dubin & English, 1974; Naqvi, 2004). I tillegg finst det mange andre sår i epletrea som kan gje infeksjonar av frukttrekraft, til dømes sår etter pinsering, hardt vêr og hausting av eple, eller sprekkar i borken som kjem av frost om vinteren eller kraftig vekst om sommaren (Saure, 1961a; Kennel, 1963; Swinburne 1971; Graf, 1976). Når *N. ditissima* har trengt inn i vevet, kan den starte å danne infeksjon.

Det er vist i tidlegare studiar at kapillærkreftene syg sporar inn i trea gjennom ferske sår, anten dei kjem frå bladarr eller etter skjering (Brooks & Moore, 1923; Crosse, 1951). For patogen som vert spreidde ved regnsprut, er truleg denne måten å trengja inn i planta på svært viktig. Når sporane har vorte sogne inn i vevet på epletrea, kan soppen utviklast i eit beskytta miljø, noko som aukar sjansane for infeksjon drastisk (Crowdy, 1952).

2.7 Tiltak

Det viktigaste middelet mot frukttrekraft er å skjera av ved med infeksjonar og fjerna det frå området. Det er usemje om kva tidspunkt som er best for å skjera trea for infeksjonar. Det er vanleg å skjera trea i vintertida (medan det er frost), sidan infeksjonane er godt synlege, og det er praktisk å nytte tida utanfor vekstsesongen (Palm, 1975). Samstundes er det vorte observert at skjering om vinteren dannar sår som er mottakelege for infeksjonar over ein lang periode, og dette kan få konsekvensar i frukthagen utover sesongen (Van der Scheer, 1974; de Jong & van der Steeg, 2012). På bakgrunn av dette kan det vera fordelar med å skjera medan treet er i vekst

og såra gror raskare; Skjeringa bør skje i periodar med fint vêr, sidan spreining av sporar hovudsakleg skjer i regnvêr (Saure, 1961a & 1974).

Funigicid kan brukast like etter skjeringa for å redusera risikoen for infeksjonar (Saure, 1974). Plantevernplanen for frukt og bær (2015) tilrår å sprøyta med preparatet Nordox 75 Wg (aktivt stoff: kopar(I)oksid) ved knoppsskyting og lauvfall for å motverka infeksjonar (Norsk landbruksrådgiving, 2015). Tilrådd dose bør delast opp i fleire sprøytingar på våren og hausten. Nokre sprøytemiddel som vert brukt mot epleskurv i den vegetative perioden, har vist seg å også ha ein effekt mot frukttrekraft. Døme på dette er captan (Palm, 2009), ditianon (Swinburne et al. 1975; Cooke, 1999) og dodine (Saure 1961b; Swinburne et al. 1975; Cooke et al. 1993). I Noreg er Delan (aktivt stoff: ditianon) anbefalt plantevernmiddel mot epleskurv.

2.8 Grunnstammer

Grunnstammer er delt opp i sortar og klassifiseringar. Dei vert utvikla anten frå vevskultur eller ved å ta stiklingar av røtene. Hovudfunksjonen til ei grunnstamme er å danna eit bra grunnlag for epleorten som skal podast på. Eit epletre som skal gje mykje avling og fine eple, er avhengige av ei god grunnstamme. Andre nyttige eigenskapar som vert forsøkt avla etter, er godt rotsystem, passeleg vekst, at stamma er vinterherdig og sjukdommar.

2.8.1 Grunnstammer i Noreg

I følgje Sagaplant (Anonym, 2015) finst det fleire ulike sortar og klassifiseringar av grunnstammer som vert nytta i Noreg. Den mest nytta grunnstamma, både i norsk og europeisk samanheng, har namnet M9. Denne grunnstamma er kjent for å vera godt egna til intensive plantesystem og gjev tre som kjem tidleg i bering, har høgt avlingsnivå og god fruktstorleik. Grunnstamma er tolerant både mot rothalsrøte (*Phytophthora cactorum*) og virus, og er middels vinterherdig. Ved planting av M9 er det naudsynt med støtte til trea, grunna eit svakt rotsystem som gjer dårleg forankring i jorda.

Ei anna grunnstamme som er mykje brukt i Noreg er B9. Denne grunnstamma gjer tre som normalt ikkje er like produktive som med M9, men eit kraftigare rotstystem gjer at den høver godt til sortar der M9 vert for svak. B9 er også svært vinterherdig og resistent mot rothalsrøte (Anonym, 2015).

M26-grunnstamma var mykje brukt i frukthagar på 1980- og 1990-talet og er framleis i produksjon, men er no mindre nytta. Grunnstamma gjev epletre som er produktive, gjer god fruktferge og fruktstorleik, men veks for kraftig for moderne plantesystem. Samtidig som at M26

er vinterherdig, er den også svært utsatt for pærebrann og moderat utsett for rothalsrote og virus (Anonym, 2015).

MM106 har tidlegare vore mykje nytta i norsk fruktdyrking, men er no på tilbakegong. Veksekrafta er generelt for stor, men den vert framleis nytta i økologisk fruktproduksjon og epledyrking for juiceproduksjon. Grunnstamma er produktiv til svaktveksande sortar, men fruktstorleiken er mindre og fruktfargen dårlegare enn på samanliknande grunnstammer. MM106 har eit kraftig rotsystem, men er utsatt for rothalsrøte og er kjenslevar for virus (Anonym, 2015).

2.8.2 Oppal av grunnstammer i Noreg

Utvikling av sjukdomsfritt materiale av grunnstammer i Noreg skjer hjå Sagaplant AS, og vert gjort anten ved stiklingar eller vevsformeiring. Alle dei mindre populære sortane og 30% av M9-grunnstammer vert vevsformert ved Sagaplant (M. Dalen, Sagaplant, pers. opp.).

Vevsformeiring går føre seg to gonger i løpet av eit år, november til mai og mars til september. Grunnstammer som vert laga med vevsformeiring mellom november og mai, vert planta ut mellom mai og juni same år. Dei vert prikla i perioden mars til april i Jiffy 7 (små brikettar av pressa torv omgitt av tøyning). Grunnstammer som vert vevsformeira i perioden mars til september vert kjølelagra og planta mai og juni året etter (M. Dalen, Sagaplant, pers. opp.).

M9-grunnstammer vert hovudsakleg formeirte ved å ta stiklingar frå røtene som vert prikla i Jiffy 7. Stiklingane vert knipne av røter frå grunnstammer som vert tekne opp på hausten. Stiklingsformeiringa skjer i to hold i periodane januar til april og april til august. Utplantinga skjer i perioden mai til juni, likt som for vevsformeiring (M. Dalen, Sagaplant, pers. opp.).

Alle grunnstammer vert pinserte to til tre gongar kvart år. Etter to vekstsesongar på friland er grunnstammene klare for sal. Grunnstammene vert sortert etter diameteren på stamma 10 cm over rothalsen. Salsvare er 6-8 mm og 8-10 mm. Majoriteten av grunnstammene er 8-10 mm etter to vekstsesongar (M. Dalen, Sagaplant, pers. opp.).

3 Material og metodar

Fleire inokuleringsforsøk vart utført ved å inokulera eplegrunnstammer med *N. ditissima*. Tre ulike inokuleringsmetodar vart nytta, inokulering med kartnåler, inokulering med dusjing av sporesuspensjon og drypping av sporesuspensjon. For å simulera ulike typar vekst, vart det gjort ulike behandlingar med pinsering og topping av grunnstammene. Til kvar behandling med inokulering vart det utført kontrollbehandling utan inokulum.

To forsøk vart gjort i veksthus ved NMBU på Ås i Akershus. Forsøka vart starta opp 7. april 2014 og vart avslutta 18. juni same år.

Ved Bioforsk Ullensvang vart det gjort ei rekkj forsøk i plasttunnel. Forsøka vart gjort sommaren 2014 i tidsrommet 20. mai, som første dato for inokulering, til siste sluttregistrering av grunnstammene 22. september.

3.1 Stell av grunnstammene

Grunnstammene vart produsert og levert av Sagaplant AS. Dei fleste grunnstammene var leveringsklare, to vekstsesongar gamle med ein diameter på 8-10 mm over rothalsen. Ved levering vart grunnstammene potta om i plastpotter på 1,5 liter og toppa på 15 cm. På Ås stod plantene saman på plastbrett (fig. 3-1.), medan på Lofthus stod dei i isoporkassar (fig. 3-2. A). Nokre grunnstammer kom prikla i brett tilnærma rett frå vevskultur og var for små til frilandsdrift. Grunnstammene vart planta i 1 liters potter og vart ikkje toppa eller pinsert før behandlinga (fig. 3.2. B).

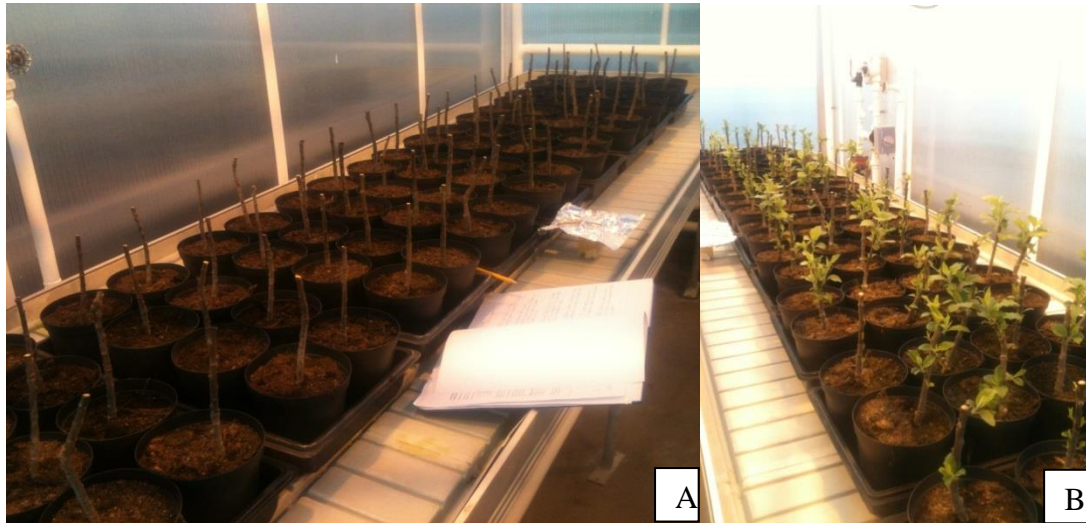


Fig. 3-1. Grunnstammer av M9 i veksthus på Ås 28. februar, som vart toppa til 15 cm høgde og potta i 1,5 liter pottes (A). Grunnstammer av M9 i veksthus på Ås 17. mars, som hadde skote (B). Foto: Svein André Kolltveit

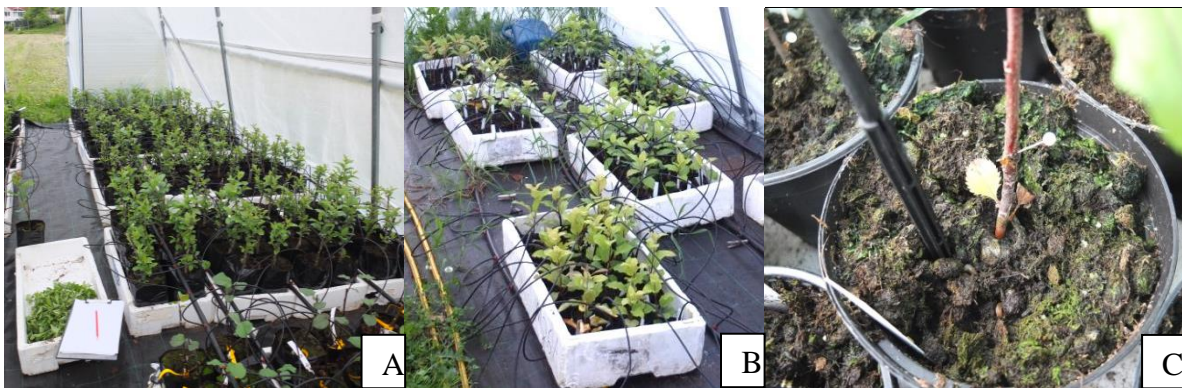


Fig. 3-2. Dryppvatning til leveringsklare grunnstammer av M9 og B9 i plasttunnel på Lofthus (A). Dryppvatning til unge grunnstammer av M9, MM106 og M26 i tunnel på Lofthus (B). Dryppslange ved sida av nålinokulert stamme (C). Foto: Jorunn Børve

Ved NMBU på Ås stod grunnstammene i eit eige rom i veksthus med kontrollert klima. Romtemperaturen var 20°C, luftfukt var 50%, og lyset stod på i 16 timar kvar dag. Det vart lett vatna med ein vasslange med gjødsla vatn.

Ved Bioforsk Ullensvang på Lofthus stod grunnstammene i isoporkassar i plasttunnel (fig. 3-2 A). Det vart brukt dryppvatning med eit drypp i kvar potte (fig. 3-2 C), og vatninga vart skrudd på manuelt når det var nødvendig. Gjødsling vart gjort for hand. Plasttunnelen hadde veggjar som kunne sveivast opp for lufting og ei dør i kvar ende. Bakken i tunnelen var dekkja av Mypex-duk for å hindra vekst av ugras. Lys og temperatur var ikkje kontrollert slik som i veksthuset på Ås. Middeltemperatur per døgn (fig. 3-3) og per time (fig. 3-4 A og B) vart loggført av klimastasjonen ved Bioforsk Ullensvang. Temperaturen i plasttunnelen må ha vore høgare enn

det som vart målt ved klimastasjonen, men figurane kan likevel gje ein peikepinn om veksttilhøva.

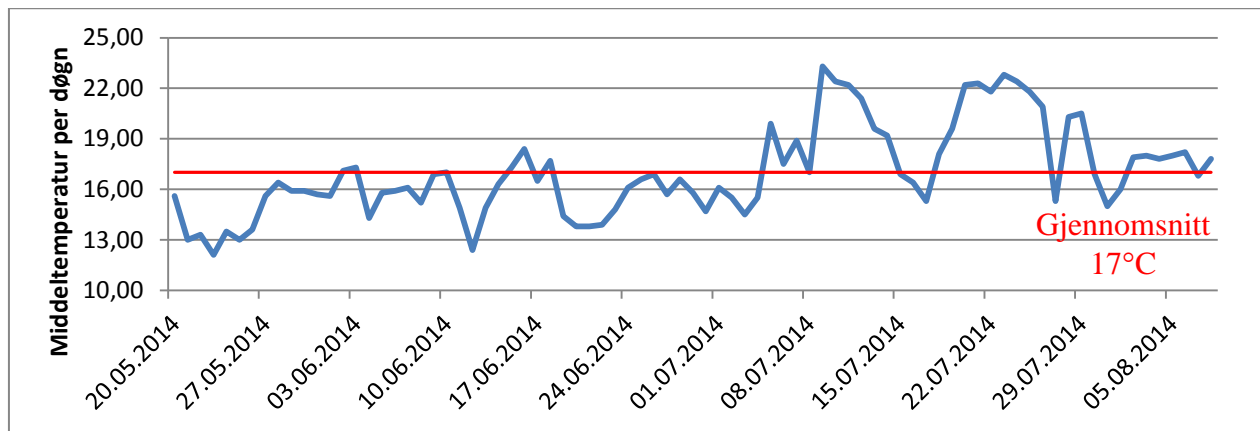


Fig. 3-3. Middeltemperatur per døgn målt av klimastasjonen ved Bioforsk Ullensvang på Lofthus. Gjennomsnittet over perioden forsøka gjekk føre seg var 17°C.

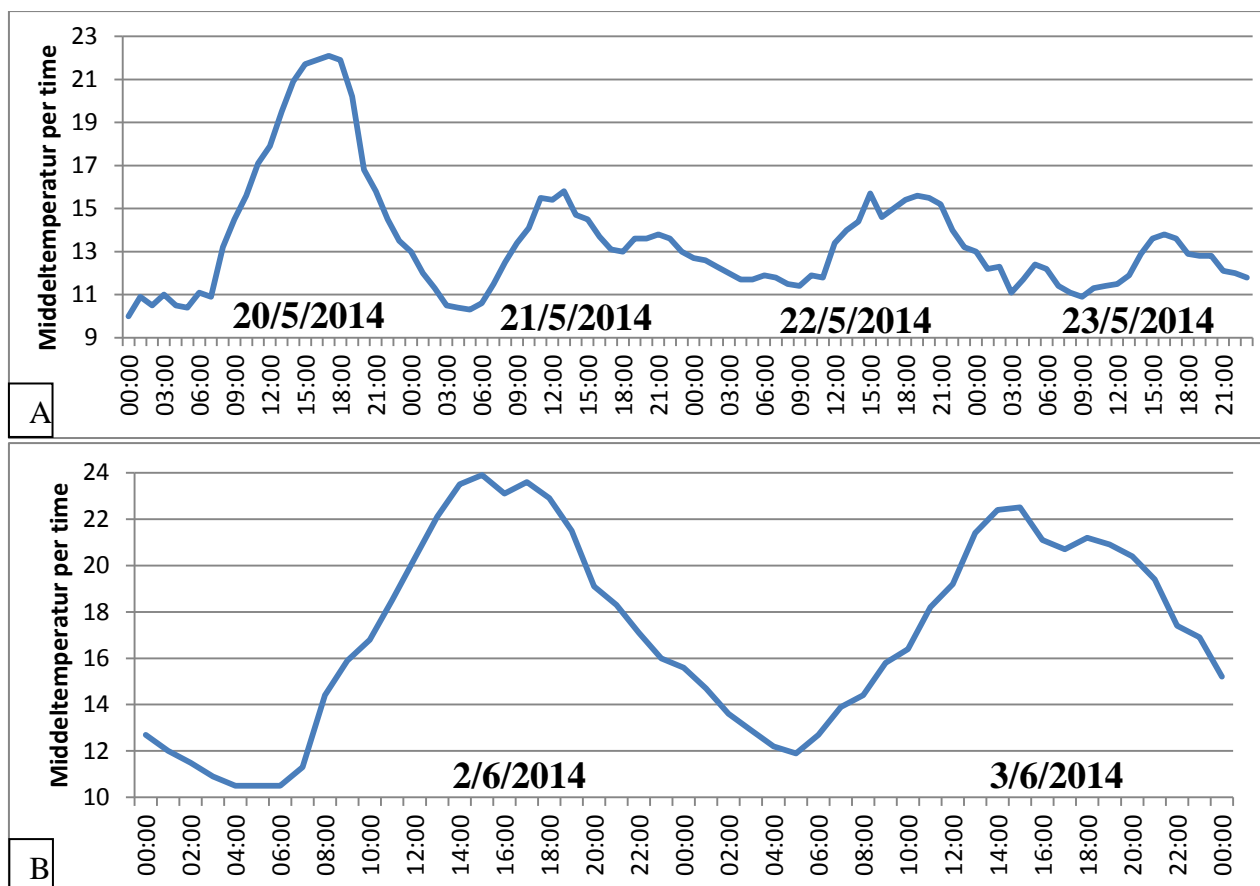


Fig. 3-4. Middeltemperatur per time for dagane inokuleringa av grunnstammene gjekk føre seg 20. – 23. mai (A) og 2. – 3. juni på Lofthus.

3.2 Bruk av plantevernmiddel

Det vart funne nokre få larver på grunnstammene på Ås som vart fjerna for hand 10/4 og 7/5. Dei vart ikkje artsbestemta, men var truleg larver av viklar eller møll. Det vart sprøyta med Confidor (aktivt stoff: imidakloprid) mot bladlus 22. mai. Ved sluttregistreringa 17. og 18. juli var det kvitfly på plantene, men det vart ikkje sprøyta, sidan forsøka skulle avsluttast.

I plasttunellen på Lofthus vart grunnstammene sprøyta med Movento (aktivt stoff: spirotetramat) mot eplebladgallmygg 4. juni og 29. juli. Det vart sprøyta med Topas (aktivt stoff: penkonazol) mot mjøldogg 30/6 og 29/7.

3.3 Patogen

Overføring av *N. ditissima* (isolatnr. 250237) vart gjort ved Bioforsk Plantehele på Ås 12/3. Agarskåler med potet dektrose agar (PDA) vart brukt som dyrkingsmedium. Arbeidet med overføringa vart gjort i sterilbenk og alt utstyr vart dyppa i 96% etanol og brent av etter kvart som det vart brukt. Agarskåler med *N. ditissima* var tidlegare isolert frå kvistar med frukttrekraft henta frå tre av sorten Discovery frå Hardanger (5/3/2014). Frå skålene med *N. ditissima* vart det vart skore ut agarpluggar (fig. 3-5 A). Agarpluggane vart sette oppned på ei ny agarskål, slik at soppen hadde kontakt med agaren (fig. 3-5 B). Skålene vart deretter forseгла med parafilm og merka med isolatnummeret til soppen og dato. Etter kvart som det var nødvendig med meir smittestoff til inokulering, vart det formeirt opp meir *N. ditissima* ved å overføra til nye agarskåler (fig. 3-5 C). Dette vart gjort fleire gonger på Lofthus.

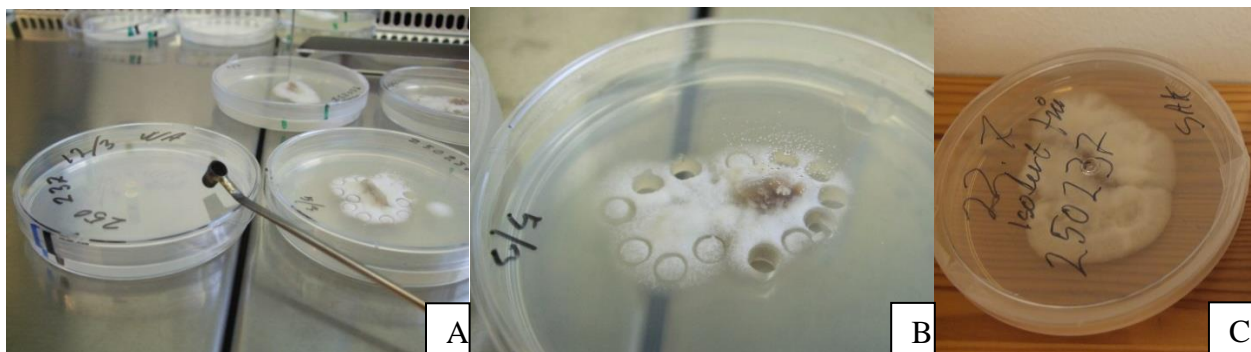


Fig. 3-5. Overføring av *Neonectria ditissima* i sterilbenk. Det vart laga agarpluggar frå agarskåler med soppen, som vart sett oppned på nye agarskåler (A). Agarpluggane vart laga i ytterkanten av der soppen vaks (B). Vekst av *N. ditissima* på agarskåler med PDA på Lofthus (C). Foto: Svein André Kolltveit (A og B) og Jorunn Børve (C).

3.4 Ulike inokuleringsmetodar

To forsøk med seks behandlingar vart gjort i veksthus ved NMBU på Ås. Disse forsøka vart starta 7. og 8. april, og var likt utført (tabell 3-1). Kvar av behandlingane inkluderte tre gjentak med fire grunnstammer av M9.

Ved Bioforsk Ullensvang på Lofthus vart det i tidsrommet 20. mai til 22. juli starta opp ei rekkje ulike inokuleringsforsøk. Alle forsøk starta mellom 20. mai og 27. juni vart gjort med leveringsklare grunnstammer av B9 og M9, og inkluderte fire gjentak med fem grunnstammer i kvart (tabell 3-2). Alle behandlingar var inkluderte i statistiske analysar, men nokre er utelatt i Resultat og Diskusjon. Eit utval av resultatata frå dei mest representative behandlingane vart gjort og er presentert i figurar.

Alle forsøk starta mellom 1. og 22. juli, vart gjort på unge grunnstammer tilnærma rett frå vevskultur. Grunnstammene i forsøka var M9, MM106 og M26 og inkluderte tre gjentak med fem grunnstammer i kvart (tabell 3-3).

Tabell 3-1. Oversikt over behandlingane som vart gjort i veksthus på NMBU på Ås. Det vart gjort to like forsøk, som starta høvesvis 7. og 8. april. Alle grunnstammene var utoppa. Kvar av behandlingane bestod av tre gjentak med fire grunnstammer i kvart.

Behandling	Pinsering
Kontroll utan nåler	Pinsert
Kontroll utan nåler	Upinsert
Dusja med suspensjon	Pinsert
Dusja med suspensjon	Upinsert
Nål i stamme og toppskot	Upinsert
Kontroll med nåler	Upinsert

Tabell 3-2. Oversikt over dei ulike behandlingane som vart utført på leveringsklare grunnstammer i veksthus på Lofthus. Forkortingane P, UP, T og UT står høvesvis for pinsert, upinsert, toppa og utoppa. Behandling med dusjing av sporesuspensjon står skrive som suspensjon. Behandlingane suspensjon 1D og 3D, vart dusja med sporesuspensjon ein og tre dagar etter pinsering.

Startdato	Grunnstamme	Behandling	Pinsering og topping	Grunnstammer per behandling
20. mai	B9	Kontroll	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	2 nåler i pinseringssår	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Suspensjon	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Suspensjon 1D	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Suspensjon 3D	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Kontroll	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer

20. mai	B9	Nål i toppskot og stamme	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Nålkontroll	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
20. mai	B9	Suspensjon	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	Nål i toppskot og stamme	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	Kontroll	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	2 nåler i pinseringssår	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	Suspensjon	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	Suspensjon	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
21. mai	M9	Suspensjon	UP+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Kontroll	P 21/5 + P+T 2/6	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	2 nåler i pinseringssår	P 21/5 + P+T 2/6	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Suspensjon	P 21/5 + P+T 2/6	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Suspensjon 1D	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Kontroll	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	2 nåler i pinseringssår	P+UT	14 grunnstammer
02. juni	M9	Nål i sår og toppskot	P+UT	5 grunnstammer
02. juni	M9	Suspensjon	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Suspensjon 1D	P+UT	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Nåler i skotbasis	UP+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
02. juni	M9	Suspensjon	UP+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
18. juni	M9	Suspensjon på nytoppa plante	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer
18. juni	M9	Kontroll	P+T	1 gjentak * 5 grunnstammer
27. juni	M9	2 Nåler i toppskot	P+T	4 gjentak * 5 grunnstammer

Tabell 3-3. Oversikt over behandlingar gjort på små grunnstammer på Lofthus. Alle grunnstammene var pinserte og utoppa. Kvar behandling bestod av tre gjentak med fem grunnstammer i kvart.

Startdato	Behandling
01.jul	Kontroll
01.jul	Suspensjon
08.jul	Kontroll
08.jul	Suspensjon
22.jul	Kontroll
22.jul	Suspensjon
22.jul	1 Nål i stamme
22.jul	Nålkontroll

3.4.1 Inokulering med nåler

Ved inokulering med kartnåler vart det overført *N. ditissima* til eplegrunnstammene ved hjelp av inokulum på nålene. I dei to forsøka starta i veksthus ved NMBU på Ås, var det to like behandlingar på M9-grunnstammer som var inokulerte med nåler (tabell 3-2). Det vart først laga eit lite hol ved å stikke nåla i planta. Den same nåla vart deretter brukt til å henta inokulum frå ei agarskål med *N. ditissima*, og vart så sett tilbake i holet (fig. 3-6 A, B og C). Nåla stod i planta gjennom heile forsøket. På denne måten vert det laga eit sår i planta og inokulum vert plassert rett i dette, utan at planta tok skade (Talgø & Stensvand, 2013).

Det vart sett ei nål i stamma og ei i toppskotet (fig. 3-6 A og B). Stamma var her den eldre veksten av grunnstamma, omtrent eit og eit halvt år gamal medan toppskotet, som har kome i løpet av forsøket, er ny vekst. Ved å setja nålene slik kunne det dokumenterast om var noko skilnad på kor mottakeleg den eldre veksten og den nye veksten var for frukttrekraft.

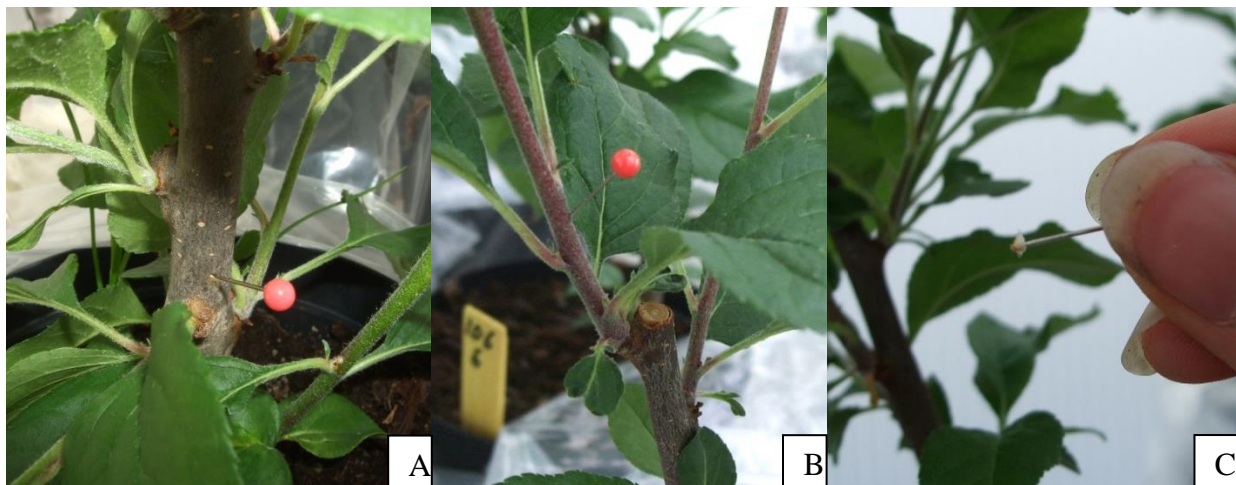


Fig. 3-6. Inokulering av *Neovectria ditissima* med nåler sett i stamma på M9-grunnstamme (A), og i toppskot på M9-grunnstamme (B). C Syner nål med inokulum. Bileta er frå forsøka på Ås starta 7. april. Foto: Svein André Kolltveit

Det vart gjort ei rekkje ulike forsøk med inokulering med nåler i plasttunell på Lofthus (tabell 3-2). Sjølve inokuleringsmetoden var utført annleis enn på Ås. I staden for å først stikka eit hol i planta og deretter henta inokulum med nåla, vart dette påført nåla og stukke direkte i planta i ein operasjon. Nålene vart sett i pinseringssår i stamma, i toppskot og i skotbasis (fig 3-7 A, B og C). Skotbasis er grensa mellom stamma og det nye skotet (fig. 3-7 B).

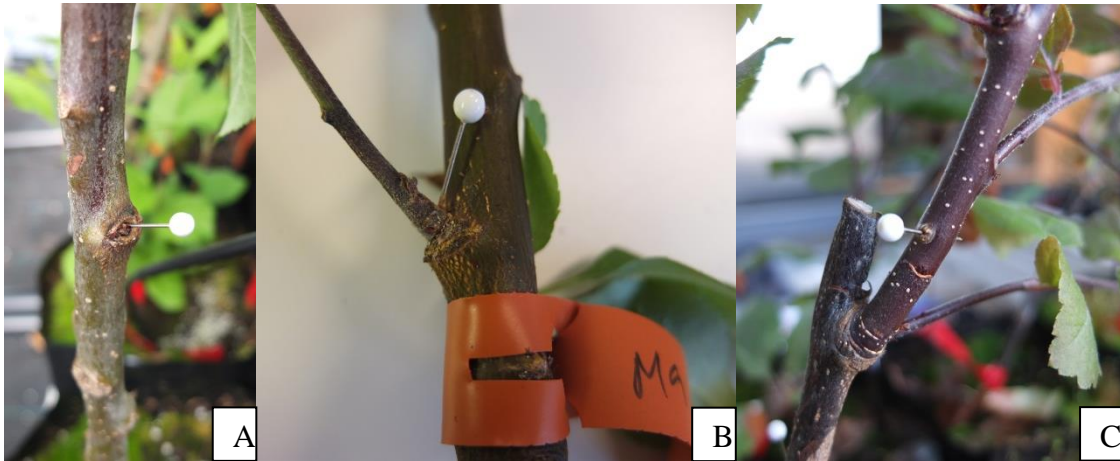


Fig. 3-7. Inokulering av *Neonectria ditissima* med nål i pinseringssår på M9-grunnstamme (A), med nål sett i skotbasis på M9-grunnstamme (B) og nål sett i toppskot på B9-grunnstamme (C). Bileta er frå forsøka på Lofthus, som vart starta 20. og 21. mai. Foto: Jorunn Børve.

3.4.2 Inokulering med dusjing av sporesuspensjon

Sporesuspensjonen vart laga på laboratoriet same dag som smitteforsøket skulle starte. Sporane vart henta frå agarskåler med *N. ditissima* som var klargjort i førevegen (12/3). Det vart dryppa destilert vatn frå pipette i agarskåla til vatnet dekkja overflata. Med eit objektglas vart soppen skrapa av agaren slik at den blanda seg med vatnet. Dette vatnet vart forsiktig hellt over i ein glaskolbe. Dersom det kom med litt av agaraen, vart vatnet grumsete, og det var nødvendig å filtrera det gjennom bomull. Suspensjonen vart tilsett 3-5 dl vatn, slik at det skulle verta rikeleg til å påføra alle plantene. Alle sporesuspensjonane inneheldt omtrent 10^5 sporer per mililiter (nøyaktige konsentrasjonar i tabell 3-4). Dersom suspensjonen vart for svak med ei agarskål med *N. ditissima*, vart det brukt ei til.

For å bestemma konsentrasjonen til sporesuspensjonen vart det brukt teljekammer. Fire dråpar av suspensjonen vart henta med pipette og lagt på teljekammeret. Det var talt kor mange sporar av *N. ditissima* det var per rute i eit vanleg lysmikroskop. Gjennomsnittet av sporar per rute vart ganga opp med ein konstant på 50 000, som gav konsentrasjonen av sporar per mililiter vatn.

I forsøket på Ås vart grunnstammene som skulle dusjast, tatt ut av rommet og vart behandla på utsida. Om grunnstammene skulle pinserast vart dette gjort kort tid før dusjinga. Alle grunnstammene stod i plastposar som kunne knytast att i toppen når behandlinga var ferdig. På denne måten stod grunnstammene i vassmetta luft. Kvar enkelt grunnstamme vart dusja godt med ei dusjeflaske med sporesuspensjon (fig. 3-8 A). For kontrollbehandlinga vart det dusja med destilert vatn utan inokulum. Når grunnstammene var våte av sporesuspensjon, eller destilert vatn, vart plastposen knytt att i toppen og sett saman med dei andre grunnstammene att (fig. 3-8

B). Etter eit døgn vart plastposane fjerna. For at det ikkje skulle bli for varmt for plantene, vart lyset skrudd av dei to dagane smittinga føregjekk.



Fig. 3-8. Inokulering av *Neonectria ditissima* med dusjing av sporesuspensjon på M9-grunnstamme på Ås 7/4 (A). Grunnstammer av M9 i plastposar etter behandling i veksthus på Ås (B). Foto: Astrid S. Nesse.

På Lofthus var mengda grunnstammer som skulle inokulerast med dusjing av sporesuspensjon mykje større, og behandlinga var difor annleis utført. Grunnstammene som skulle dusjast, stod ti og ti saman i isoporkassar (fig. 3-9 A og B). Om grunnstammene skulle pinsrast eller toppast, så vart dette gjort like før behandlinga. Grunnstammene vart dusja med sporesuspensjon i tunnelen og vart ikkje dekkja av plast. Kontrollbehandlingane vart ikkje dusja med destilert vatn, slik som det vart gjort på Ås.

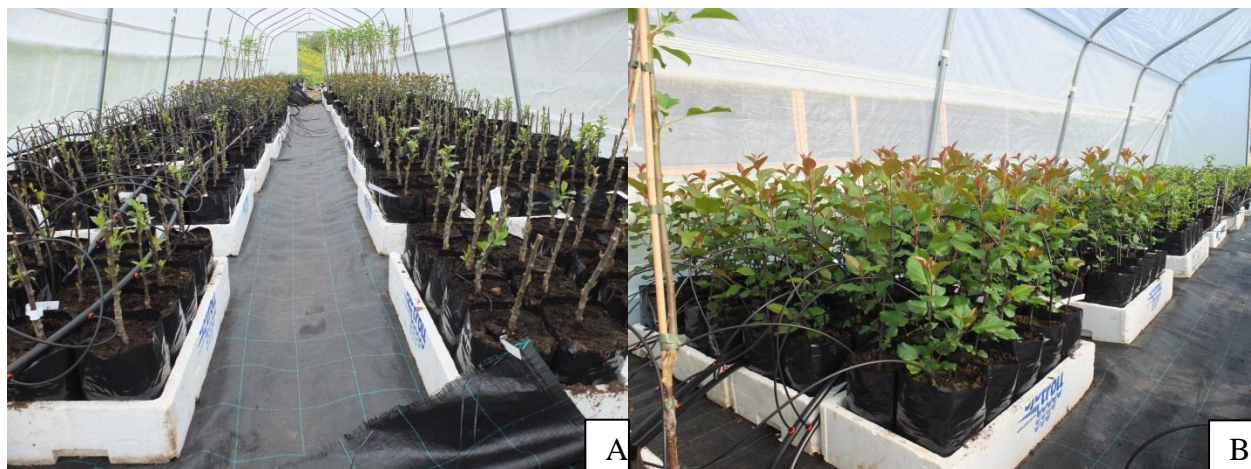


Fig. 3-9. Ti grunnstammer i kvar isoporkasse med dryppvatning i tunnelen på Lofthus (A). Grunnstammene av B9 (dei to næraste rekkjene) kom i gang mykje før grunnstammene av M9 (i bakgrunnen), og hadde generelt betre vekst (B). Foto: Jorunn Børve

Tabell 3-4. Oversikt over konsentrasjonen til sporesuspensjon brukt i dei ulike behandlingane.

Startdato	Grunnstamme	Behandling	Pinsering	Konsentrasjon til sporesuspensjon (sporer per milliliter)
07.apr	M9	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$5 \cdot 10^4$
07.apr	M9	Dusja med suspensjon	Upinsert og utoppa	$5 \cdot 10^4$
08.apr	M9	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$7,3 \cdot 10^4$
08.apr	M9	Dusja med suspensjon	Upinsert og utoppa	$7,3 \cdot 10^4$
20.mai	B9	Dusja med suspensjon	Pinsert og toppa	$1,1 \cdot 10^5$
20.mai	B9	Dusja med suspensjon 1D	Pinsert og toppa	$1,1 \cdot 10^5$
20.mai	B9	Dusja med suspensjon 3D	Pinsert og toppa	$1,2 \cdot 10^5$
20.mai	B9	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$1,1 \cdot 10^5$
21.mai	M9	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$1,1 \cdot 10^5$
21.mai	M9	Dusja med suspensjon	Upinsert og utoppa	$1,1 \cdot 10^5$
02.jun	M9	Dusja med suspensjon	Pinsert 21/5 og 2/6 toppa 2/6	$1 \cdot 10^5$
02.jun	M9	Dusja med suspensjon 1D	Pinsert og toppa	$2,7 \cdot 10^5$
02.jun	M9	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$1 \cdot 10^5$
02.jun	M9	Dusja med suspensjon 1D	Pinsert og utoppa	$2,7 \cdot 10^5$
02.jun	M9	Dusja med suspensjon	Upinsert og toppa	$1 \cdot 10^5$
18.jun	M9	Dryppe suspensjon på nytoppa plante	Pinsert og toppa	$5 \cdot 10^5$
01.jul	M26, M9, MM106	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$2,7 \cdot 10^5$
08.jul	M26, M9, MM106	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$3 \cdot 10^4$
22.jul	M26, M9, MM106	Dusja med suspensjon	Pinsert og utoppa	$1 \cdot 10^5$

3.4.3 Inokulering med sporesuspensjon på nytoppa plante

Det vart gjort ei behandling på Lofthus med å dryppe sporesuspensjon direkte i såret på toppa grunnstammer av M9. Toppskotet vart toppa med hagesaks omtrent 7 cm langt. Nokre dropar av sporesuspensjonen vart dryppa med pipette i såret like etter toppinga.

3.4.4 Spireevna til patogenet

For å stadfesta at sporane i sporesuspensjonane var levande og kunne utvikla seg, vart det gjort testar for å måla spireevna. Dropar av sporesuspensjonen vart lagt på objektglas og vart lagra fuktig og i romtemperatur i 24 timar. Etter lagringa vart det lagt dekkglas på droppane, og ved

hjelp av eit mikroskop vart det tald kor mange av 100 sporar som hadde vekst av hyfer. Spireprosenten vart rekna ut ved å ta talet på sporar med vekst og dela på mengd sporar.

3.5 Pinsering og topping

Alle dei leveringsklare grunnstammene av M9 og B9, vart toppa 15 cm høge etter at dei var potta (fig. 3-10 A). M9 på Ås vart toppa 28. februar, medan M9 og B9-grunnstammene på Lofthus vart toppa 9. april. Alle grunnstammene på Ås, og nokre av grunnstammene på Lofthus, vart ikkje toppa etter dette, og vart difor registrert som utoppa (fig. 3-10 B, C og D). Nokre av behandlingane på Lofthus vart toppskotet toppa i 7 cm høgde same dag som dei skulle behandlast, og vart registrert som toppa.

Pinserte grunnstammer fekk alle skot utanom toppskotet fjerna (fig. 3-10 B). Pinseringa vart gjort for hand ved at sideskota vart revne av. Dette skjedde same dag som dei skulle behandlast. Unntak frå dette var behandlingar på Lofthus der det vart pinsert ein eller tre dagar før inokulering med dusjing av sporesuspensjon.

Grunnstammene av B9 på Lofthus begynte å bryta 15. april, medan M9-grunnstammene begynte å bryta 19. april og kom i det heile noko seinare i gong (fig. 3-9 A og B). Ved sluttregistrering var det markant skilnad på lengda mellom toppa og utoppa grunnstammer (fig. 3-10 D).



Fig. 3-10. Grunnstamme av M9 toppa på 15 cm kort tid etter potting (A), pinsert og utoppa M9 like før behandling (B), upinsert og utoppa M9 like før behandling (C). Skilnad mellom utoppa og toppa grunnstammer ved sluttregistrering på Lofthus (D). Foto: Svein André Kolltveit (A-C) og Jorunn Børve (D).

3.6 Registreringar

Ulike registreringar vart gjort i løpet av heile perioden forsøka føregjekk. Noko vart registrert etter kvart i forsøka, medan noko vart registrert berre då forsøka vart avslutta. I tillegg til mengd infeksjonar, vart også veksten til grunnstamma registrert.

Ved registrering av synlege symptom av frukttrekraft vart det sett etter karakteristisk trekk. Grunnstammer som var stukke med nåler utan inokulum sprakk gjerne litt opp rundt nåla, men dette skuldast ikkje infeksjon (3-11 A). Mørk misfarging i borken rundt området der det var

inokulert, vart registrert som ein infeksjon (fig. 3-11 B). I tillegg til misfarging var området rundt infeksjonen ofte svulma.



Fig. 3-11. Kontrollbehandling med nål utan inokulum i M9-grunnstamme (A). Frukttrekreft på M9-grunnstamme inokulert med *Neonectria ditissima* med nål i toppskot (B). Frå forsøka på Ås april til juni 2014. Foto: Svein André Kolltveit

Grunnstammene vart kutta opp ved sluttregistrering for å sjå etter symptom inni planta. Infeksjonar av frukttrekraft gav ei brunsvart misfarging inni veden (fig. 3-12 A). Behandling med nåler utan inokulum gav ofte ei svart misfarging i veden rundt nåla (fig. 3-12 B). Ved å skilja på fargen på misfarginga i stamma, vart det bestemt om det var infeksjon eller ikkje. Dersom det var sporulering i infeksjonane, vart det undersøkt for sporar av *N. ditissima* i mikroskop. Nokre av grunnstammene vart inkuberte, anten i boksar eller på PDA, for å undersøka om det vart utvikla sporar av *N. ditissima* over tid.

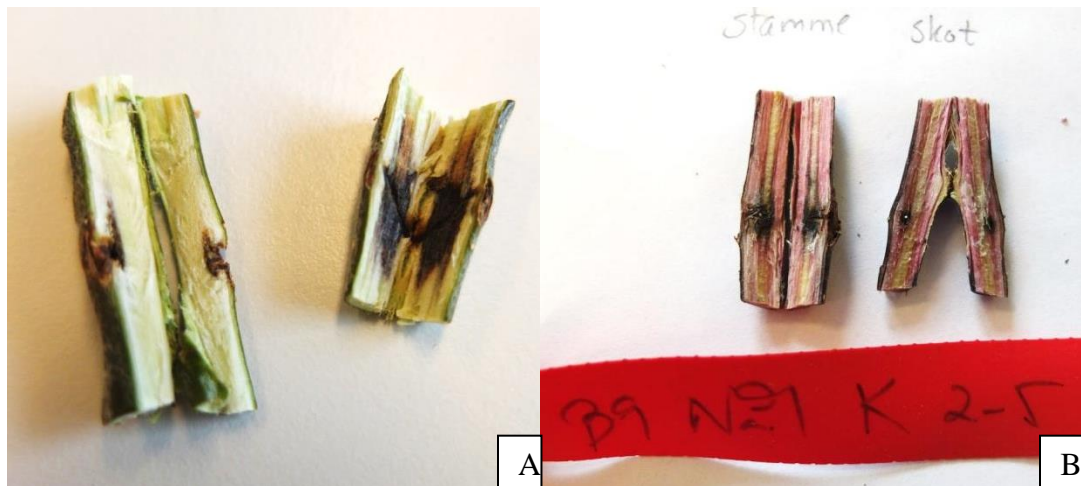


Fig. 3-12. Brunsvart misfarging av frukttrekraft i veden på B9-grunnstamme, som var nålinokulert med *Neonectria ditissima* (A). Svart misfarging av nål i veden på kontrollbehandling utan inokulum på grunnstamme av B9 (B). Foto av Jorunn Børve

På Ås vart det fleire gonger registrert mengd infeksjonar, tal skot som utvikla seg, lengde på toppskota og diameter på grunnstamma. Ved sluttregistreringa vart grunnstammene kutta opp for å sjå etter symptom av infeksjonar inni grunnstamma.

Ved forsøksstart vart det på Lofthus registrert mengd pinseringssår på grunnstammene, medan mengd infeksjonar vart registrert til ulike tider gjennom forsøket. Ved sluttregistrering vart det registrert lengd på lengste skot, mengd pinseringssår, mengd opne pinseringssår, mengd pinseringssår med vekst av nye skot, stammediameter, diameter og lengd på lesjonar, sporulering og farge på det infiserte området inni stamma. Alle opplysingane vert ikkje omtalt seinare i Resultat og Diskusjon.

3.6.1 Inkubering

Nokre av grunnstammene vart inkuberte i plastboksar, eller fliser vart lagt på agarskåler med PDA (fig. 3-13 A og B). Dersom sporar av *N.ditissima* vart utvikla, vart det registrert som infeksjon av frukttrekraft og sporulering.

For inkubering i plastboksar vart tørkepapir fukta med vatn lagt i botn. På papiret vart det sett gummiknottar som det vart lagt ein stålnetting oppå. Grunnstammene som skulle inkuberast vart lagt oppå nettingen (fig. 3-13 A). Etter dette vart lokket lagt på, og boksen vart lagra på hyller i eit eige rom med 20°C og kontinuerlig lys.

Det vart kutta fliser av grunnstammer og lagt på agarskåler med PDA. Flisene vart laga av området det var inokulert med sopp, eller frå pinseringssåra. Det vart jobba sterilt i avtrekksskap og alt utstyr vart dyppa i 96% etanol og brent av etter kvart som det vart brukt. Grunnstamma vart klyppa i passende bitar med ei hagesaks. Bitane vart deretter delt i to og dyppa 10 sekund i 70% etanol, og deretter 90 sekund i natriumhypokloritt (NaOCl). Etter dyppinga vart bitane lagt med innsida mot agaren i agarskåla. Skåla vart forseгла med parafilm og merka med dato, grunnstamme, behandling og nummer (fig. 3-13 B).

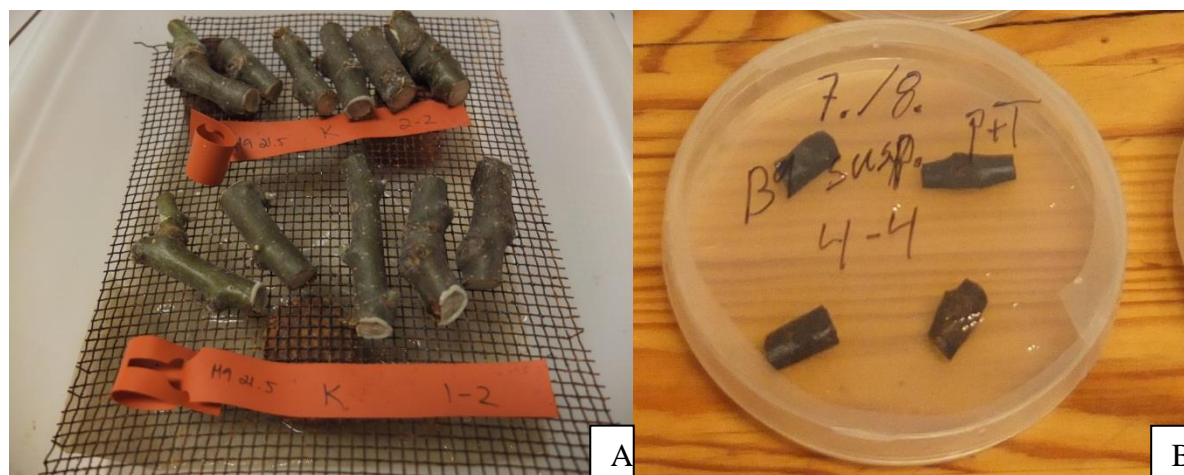


Fig. 3-13. Inkubering av grunnstammer i boks (A). Kløyvde seksjonar av grunnstammer på agarskål med PDA (B). Foto: Jorunn Børve

3.7 Statistikk

All data vart registrert i tabellar i Microsoft Excel 2010. Her vart det gjort enkel statistikk, som å rekna ut gjennomsnitt av gjentaka, standardavvik og standardfeil. Meir avansert statistikk, som t- og f-testar, Tukey's test og arealet under kurva, vart gjort med statistikkprogrammet Minitab 17.

3.7.1 Gjennomsnitt, standardavvik og standardfeil

Funksjonen «pivottabell» i Microsoft Excel vart brukt for å sortere rådata, og å rekne ut gjennomsnitt og standardavvik av gjentaka. Gjennomsnittet og standardavviket av gjentaka frå kvar behandling vart også rekna ut ved hjelp av Excel og satt i ein oversiktleg tabell. Gjennomsnittet og standardavviket av mengd infeksjonar vart rekna ut som infeksjonar per grunnstamme.

For å rekna om til eininga infeksjonar per nål, på grunnstammer som var inokulerte med nåler, vart gjennomsnittet og standardavviket av infeksjonar per grunnstamme delt på mengd nåler per grunnstamme.

For å rekna om til eininga infeksjonar per pinseringssår på grunnstammer som var inokulerte med dusjing av sporesuspensjon, vart infeksjonar per grunnstamme delt på mengd pinseringssår per grunnstamme.

Standardfeil vart rekna ut ved formelen $\sigma/(\sqrt{n})$, som er standardavviket delt på kvadratrot av storleiken på utvalet. I vårt tilfelle var storleiken på utvalet mengd gjentak. Søylediagramma som viser gjennomsnittet av infeksjonar, viser også standardfeilen til dei ulike søylene. Ved å velja «sett in feilfelt» i Excel kunne verdiane for standardfeilane markerast, også vart dei sett inn som svarte strekar over og under toppunktet på søylene.

3.7.2 Statistisk skilnad

For å finne ut om det var statistisk skilnad mellom to ulike behandlingar, vart det gjort ein upara t-test. T-testane vart gjort i Minitab 17, ved å ta inn rådata frå Excel-arka. To kolonnar med mengd infeksjonar for to ulike behandlingar, vart samanlikna ved å velje «two-sample t-test for mean» med 95% sannsynlegheits intervall. Minitab 17 rekna ut gjennomsnittet og standardavviket, og brukte dei verdiane til å finne t- og p-verdien. P-verdien seier noko om sannsynet for at verdiane skyldast tilfeldigheit. Om p-verdien var for høg (over 0,05), kan ein ikkje seie at det er statistisk skilnad. Om p-verdien var lav nok, kunne ein samanlikne t-verdien med eit visst konfidensintervall for mengda fridomsgrader. Det vart brukt 95% sannsynsintervall for samanlikning. Dersom t-verdien var lågare enn verdien for 95% sannsynsintervall, ved dei gitte fridomsgradene, kunne ein slå fast at det var statistisk skilnad.

Variansanalysar med Tukey's test vart brukt for å samanlikne ulike grupper med data. Rådata frå gruppene som skulle samanliknast, vart kopiert frå Excel og limt inn i Minitab 17. Kvar gruppe med data stod i ei eiga kolonne markert med overskrift, slik at data i dei ulike kolonnane kunne samanliknast ved hjelp av Minitab. Ved å velje «one-way analysis of variance» og huke av for «tukey's test», reknar Minitab 17 ut statistisk skilnad for eit 95% konfidensintervall mellom gruppene. Grupper med statistisk skilnad vart merka med ulike bokstavar, medan like grupper fekk same bokstav.

3.7.3 Arealet under kurva

Arealet under kurva for mengd infeksjonar som vart utvikla over tid, seier oss noko om mengd smitte av sjukdommen som har vorte produsert. Denne metoden vert kalla AUDPC, som er ei forkorting for «area under the disease progress curve». Det vart rekna ut AUDPC i Minitab 17 for alle behandlingar som var inokulert med nåler, slik at dei kunne samanliknast. For å rekna ut AUDPC vart to kolonnar brukt, ei med talet på dagar mellom kvar måling, og ei kolonne med gjennomsnittet av infeksjonar som var observert. I kommandoboksen vart kommandoen «areaunder C1 C2» skrive inn, der bokstaven C symboliserar kolonne og talet kva kolonne det er snakk om. Programmet reknar dermed ut arealet under kurva for dagar i kolonne 1 på x-aksen, og gjennomsnittet av infeksjonar i kolonne 2 på y-aksen.

4 Resultat

4.1 Resultat frå inokulering med nåler

Det vart utvikla infeksjonar av frukttrekraft på mange av grunnstammene av M9 og B9, som var inokulert med nåler med *N. ditissima* (fig. 4-1, 4-2 og 4-3). Resultat frå sluttregistreringa viser at det ikkje var skilnad mellom motstandskrafta til M9 og B9, eller mellom toppa og utoppa behandling. Inokulering med nåler i toppskota utvikla fleire infeksjonar, enn nåler sett i stamma (fig. 4-2 og fig. 4-3 B). Infeksjonane på toppskota vart også utvikla tidlegare enn infeksjonane på stamma (fig. 4-2). Upara t-testar viste ingen sikker skilnad ($p = 0,85$) mellom infeksjonar av frukttrekraft på grunnstammer av B9 og M9 som var pinserte, utoppa og inokulerte med nåler med *N. ditissima* i pinseringssår i stamma. Det er heller ingen sikker skilnad mellom toppa og utoppa behandling på grunnstammer av B9 som var inokulerte med nåler med *N. ditissima* i pinseringssår i stamma ($p = 0,23$).

Etter 19 veker var det var høvesvis 63 og 71% infeksjon av frukttrekraft på grunnstammer av M9 som var inokulerte med nåler i skot og stamme frå dei to forsøka på Ås (fig. 4-1). Infeksjonane arta seg som mørk misfarging rundt det inokulerte området (fig. 4-3 A og B), medan nålkontrollane utan smitte var gjerne litt oppsprukkne rundt nåla, men hadde inga misfarging (fig. 4-3 C). Ofte var området rundt såret svulma (fig 4-4 A), og inni veden var området rundt nåla mørkt misfarga (4-4 B).

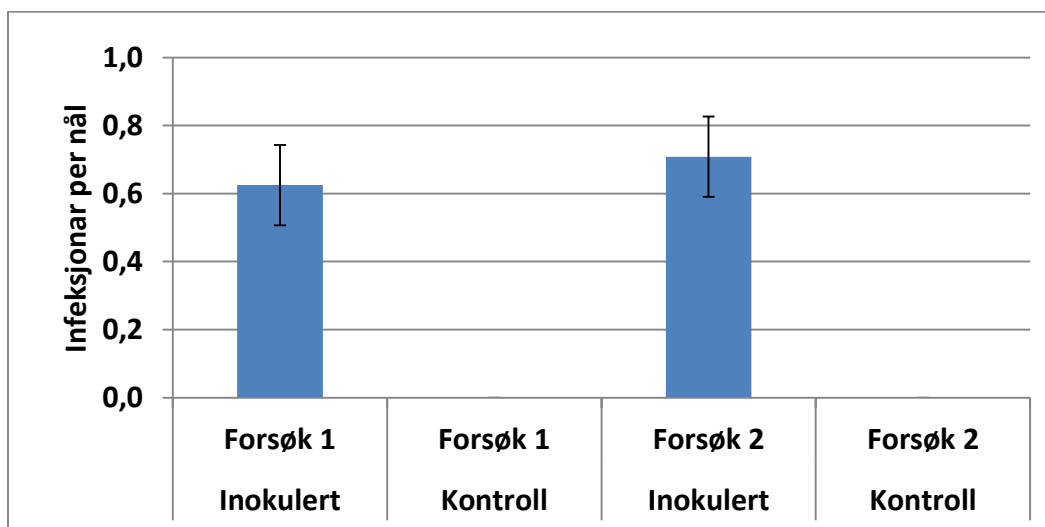


Fig. 4-1. Infeksjonar av *Neonectria ditissima* på grunnstammer av M9 ved sluttregistrering 18. juli, 19 veker etter forsøksstart. Dei to forsøka var starta med ein dags mellomrom 7. og 8. april. Grunnstammene var inokulert ved hjelp av ei kartnål i stamma og ei i toppskotet. Gjennomsnitt er rekna ut av 3 gjentak med 4 grunnstammer i kvart, fordelt på to nåler per grunnstamme. Forsøka vart gjort på Ås.

Infeksjonar frå inokulering med nåler sett i dei nye skota utvikla symptom av frukttrekraft raskare enn nåler som var sett i den eit år eldre stamma. Ved sluttregistreringa etter 19 veker var det like mykje infeksjonar på stamma, som på skota (fig. 4-2).

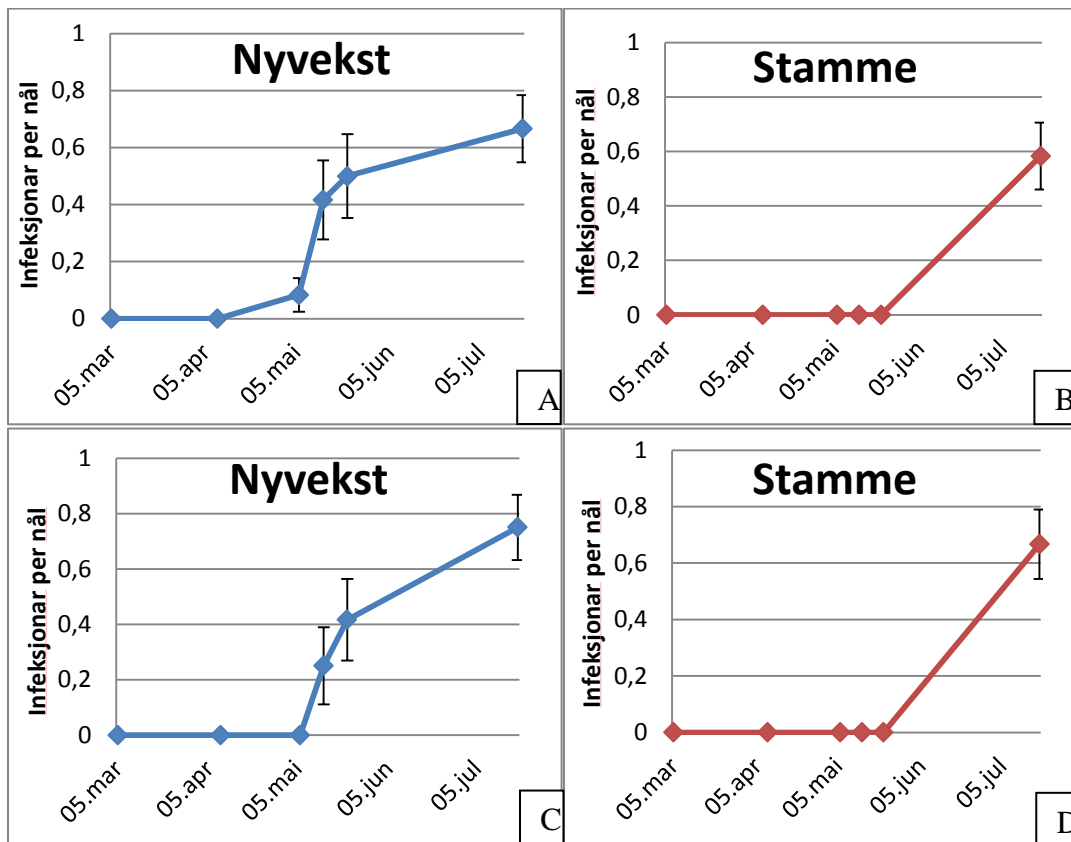


Fig. 4-2. Infeksjonar av *Neonectria ditissima* på grunnstammer av M9 ved ulike tidspunkt etter forsøksstart frå forsøka på Ås. Blå kurve synar infeksjonar frå nåler sett i skota, medan raud kurve er infeksjonar frå nåler sett i stamma. A og B er frå forsøk 1 starta 7. april, medan C og D er frå forsøk 2 starta 8. april.

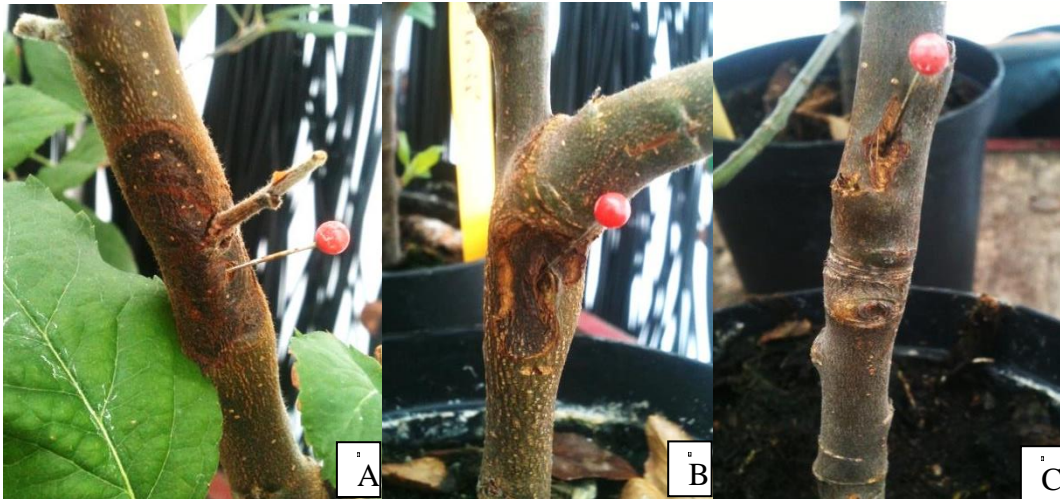


Fig. 4-3. Infeksjon av fruktrekreft på grunnstamme av M9 som var inokulert med *Neonectria ditissima* ved hjelp av nål i toppskot (A) og stamme (B). Nålkontrollane utan smitte hadde ikkje mørk misfarging rundt nåla, slik som dei inokulerte grunnstammene hadde (C). Bileta er frå sluttregistrering 17. juli frå forsøka på Ås. Foto: Svein André Kolltveit



Fig. 4-4. Infeksjon på toppskot etter nålinokulering på B9-grunnstamme ved sluttregistrering på Lofthus. Infeksjonane svulma ofte rundt det mørke misfarga såret (A). Ved sluttregistrering vart nokre av grunnstammene kutta opp. Ved infeksjon var det ein mørk brun misfarging i veden (B). Foto: Jorunn Børve

For å stadfesta at dei observerte infeksjonane var årsaka av *N. ditissima* vart grunnstammene kutta opp for å finne misfarging inni stamma (fig 4-4 B). Nokre av grunnstammene vart lagt på Petriskåler med PDA for å sjå om dei utvikla infeksjon av *N. ditissima* (fig. 4-5 A og B). Det vart funne at nesten alle flisene på PDA-skålene frå grunnstammer som var inokulerte med nåler i skot eller stamme, utvikla *N. ditissima* (fig. 4-4 A, B og C).

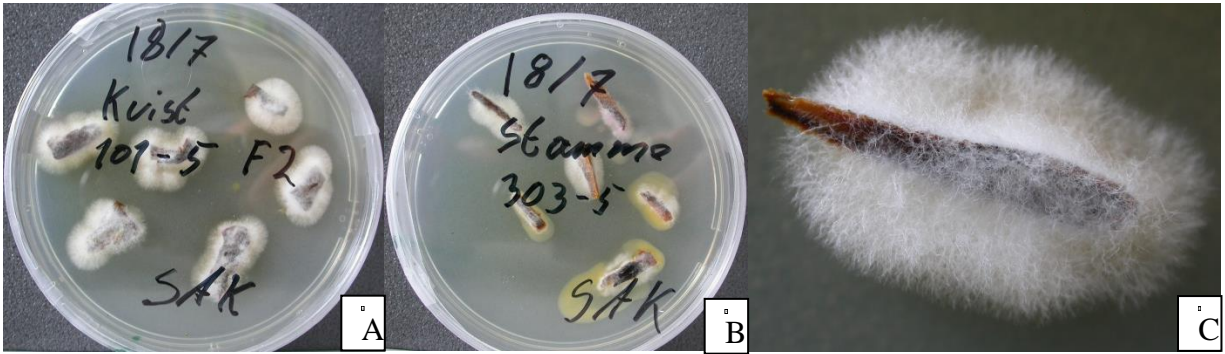


Fig. 4-5. Vekst av kvitt mycel av *Neonectria ditissima* på flisene som var kutta av infeksjonar på grunnstammene av M9 frå forsøka på Ås, inokulert med *N. ditissima* ved hjelp av nål i toppskot (A) og stamme (B). Det gule området rundt dei tre nedste flisene er truleg ureining av bakteriar (B). Tett vekst av mycelet til *N. ditissima* liknar ein kvit pels som veks rundt flisa (C.) Foto: Venche Talgø

Forsøka med grunnstammer av B9 som starta på Lofthus 20. mai 2014, viste infeksjonar av fruktrekrefte på behandlingar med inokulering av *N. ditissima* med kartnåler. Grunnstammer som var pinsert, utoppa og inokulert med nåler i pinseringssår i stamma, viste 38% utslag av fruktrekrefte etter 11 veker, medan grunnstammer som var pinsert, utoppa og inokulert med nåler i toppskot og stamme, viste 53% utslag av fruktrekrefte ved sluttregistrering (fig. 4-6 A). Nåler med *N. ditissima*, som var sett i toppskota viste høgare utslag av infeksjonar, enn nåler sett i stamma (fig- 4-6 B).

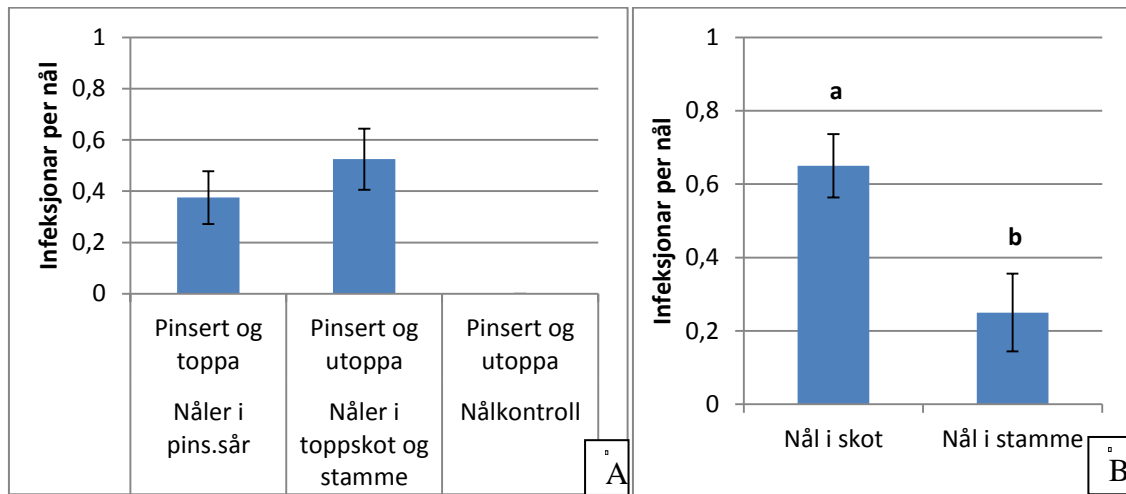


Fig. 4-6. Infeksjonar av fruktrekrefte på grunnstammer av B9 frå forsøk på Lofthus, som var inokulert med nåler med *Neonectria ditissima*, ved sluttregistrering 11 veker etter forsøksstart. Gjennomsnitt vart rekna ut av 4 gjentak med 5 grunnstammer i kvar behandling, delt på to nåler per grunnstamme (A). Skilnad på infeksjonar frå inokulering av *N. ditissima* med nåler i skot og nåler i stamme på grunnstammer av B9 starta 20/5 (B).

Inokulering med nåler på grunnstammer av M9 gav liknande resultat etter sluttregistrering som for B9. Det var ikkje skilnad på effekten av topping (fig. 4-7 A) eller dei ulike datoane for

forsøksstart (fig 4-7 B). Spreiinga i datamaterialet gjev ikkje grunnlag for å skilje mellom mengd infeksjonar som vart utvikla frå nåler i pinseringssår og nåler i toppskot (fig. 4-7 A og B). To behandlingar (markert med N=14 og N=5 i fig. 4-7) var ufullstendige og vart ikkje tatt med i samanlikninga.

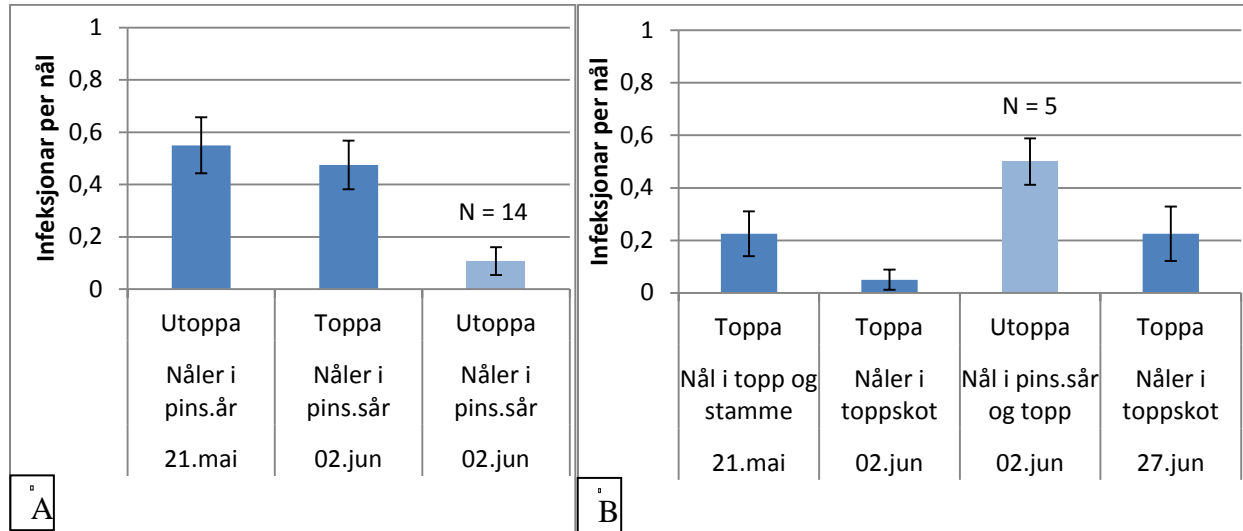


Fig. 4-7. Infeksjonar av frukttrekraft på M9-grunnstammer som var inokulert med nåler med *Neonectria ditissima* i pinseringssår (A) og toppskot eller toppskot og pinseringssår (B), ved sluttregistrering 11 veker (8 veker for behandlinga starta 27. juni) etter forsøksstart. Gjennomsnitt vart rekna ut av 4 gjentak med 5 grunnstammer per behandling, delt på to nåler per grunnstamme. Lyseblå søyler var ufullstendige forsøk med høvesvis 14 og 5 grunnstammer.

4.1.1 Arealet under kurva for grunnstammer inokulert med nåler.

Arealet under kurva for utvikling av infeksjonar av frukttrekraft viser mengd infeksjonar som er utvikla over tid. Grunnstammer av B9 som var toppa og inokulerte med nåler i pinseringssår utvikla færre infeksjonar enn utoppa grunnstammer av B9 som var inokulerte med nåler i pinseringssår og toppskot (fig. 4-8). Liknande resultat vart funne på grunnstammer av M9 (starta 21. mai), der utoppa grunnstammer inokulert med nåler i pinseringssår utvikla meir infeksjonar enn toppa grunnstammer med nåler i toppskot og pinseringssår (fig 4-9).

Toppa grunnstammer av M9 som var inokulerte med nåler i pinseringssår 2. juni vart ei ufullstendig behandling sidan det berre var 14 grunnstammer i behandlinga. Dei upinserte og utoppa M9-grunnstammene som var inokulerte med nåler i skotbasis, vart også ei ufullstendig behandling då det kun var 5 grunnstammer i behandlinga. På bakgrunn av dette bør ein sjå bort frå disse to behandlingane og berre bruka dei som indikasjonar. Av figuren (fig. 4-9) kan me sjå at pinserte og toppa grunnstammer som var inokulert med nåler i pinseringssår gav kraftig

utvikling av infeksjon, medan utoppa og upinserte skot med nål i skotbasis utvikla færre infeksjonar.

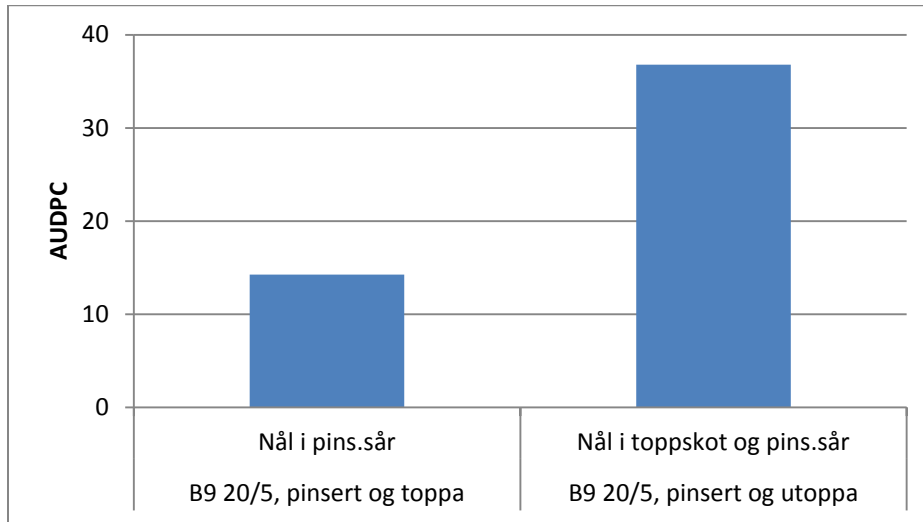


Fig. 4-8. Arealet under kurva for infeksjonar (AUDPC) av fruktrekreft på grunnstammer av B9, som var inokulert med nåler med *Neonectria ditissima*, 11 veker etter forsøkstart på Lofthus.

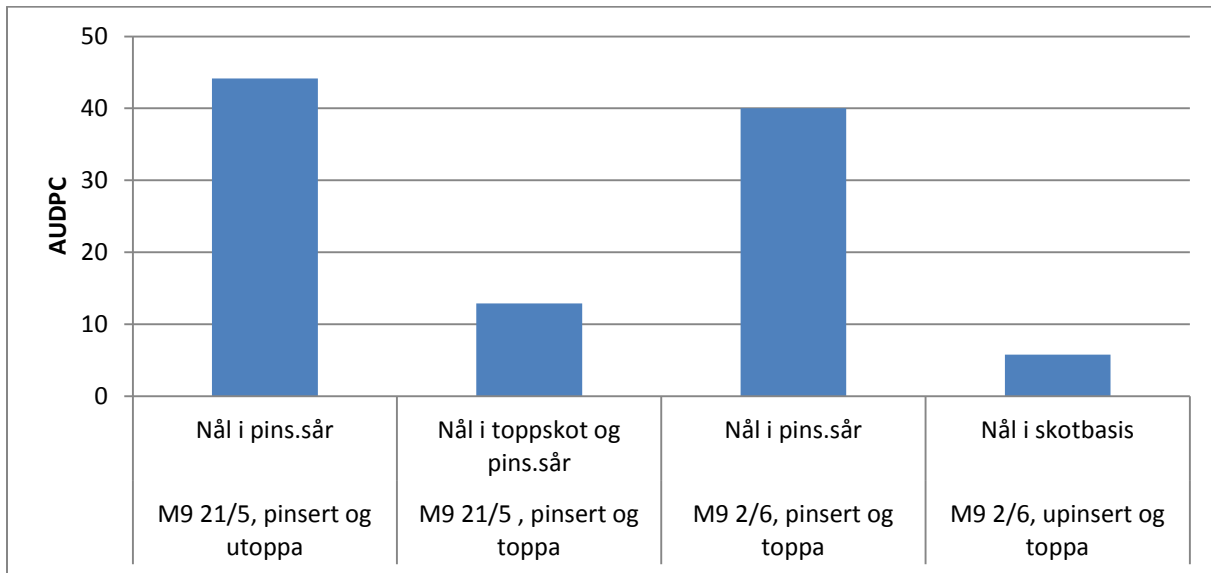


Fig. 4-9. Arealet under kurven for infeksjonar av fruktrekreft på grunnstammer av M9, som var inokulerte med *Neonectria ditissima* ved hjelp av nåler, 11 veker etter forsøkstart på Lofthus.

4.2 Resultat frå inokulering med dusjing av sporesuspensjon

Nokre av grunnstammene av M9 og B9 fekk infeksjonar av frukttrekreft ved inokulering med dusjing av sporesuspensjon med *N. ditissima*. Infeksjonane vart observerte først ved sluttregistrering elleve veker etter forsøksstart, anten som misfarging inni veden, eller ved sporulering etter inkubering (fig. 4-10 A, B og C). Det var ikkje skilnad mellom toppa og utoppa planter (fig 4-11). Grunnstammer av B9 som vart dusja med sporesuspensjon ein eller tre dagar etter pinsering, fekk færre infeksjonar ($p = 0,006$) enn dei som var dusja med sporesuspensjon same dag som dei vart pinsert (fig. 4-11). Nokre av behandlingane gav ingen infeksjonar (fig. 4-12 og 4-13). Spireevna til sporane vart undersøkt nokre av gongane sporesuspensjon vart tillaga. Spireevna var i området 84-91 %, som er verdiar som stadfestar at inokulumet er i live.



Fig. 4-10. Agarskål med PDA frå forsøk på Ås, som syner sporulering av *Neonectria ditissima* på fliser frå grunnstammer som var inokulerte med sporesuspensjon (A). Etter inkubering i boksar på

Lofthus vart det utvikla sporulering på nokre av grunnstammene som var inokulert med sporesuspensjon (B og C). Foto: Venche Talgø (A) og Jorunn Børve (B og C).

Grunnstammer av B9 som var pinserte og dusja med sporesuspensjon 20. mai, viste ingen statistisk skilnad mellom toppa og utoppa behandling (fig. 4-11). Toppa grunnstammer av B9 som vart dusja med sporesuspensjon ein og tre dagar etter pinsering, utvikla også infeksjon, men det utvikla seg færre enn på grunnstammene som var dusja same dag (fig. 4-11).

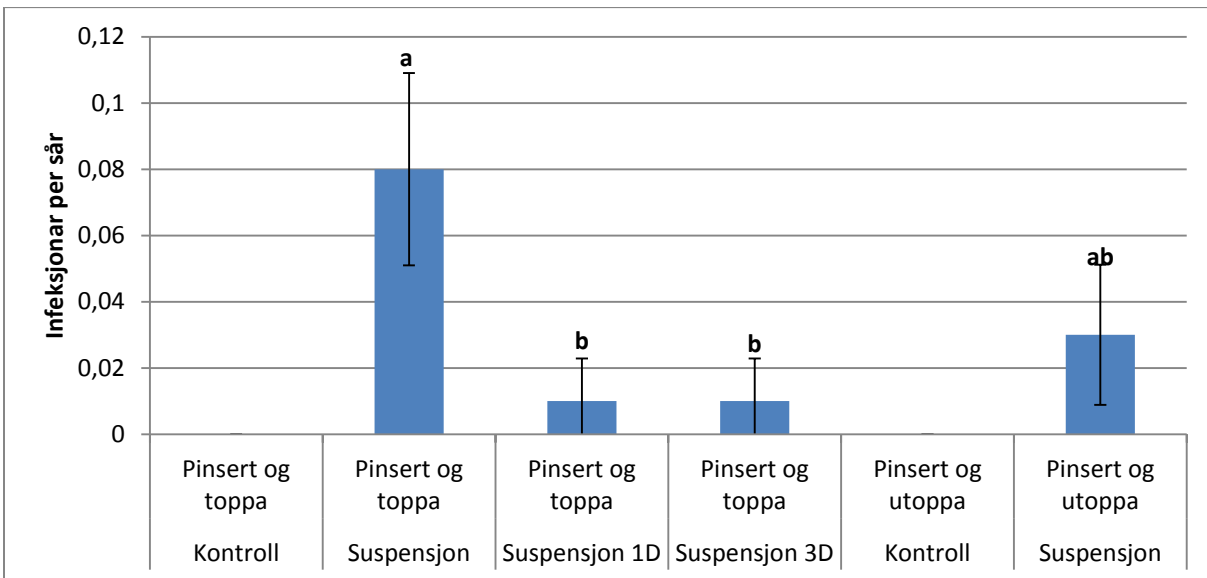


Fig. 4-11. Infeksjonar av fruktrekrefte per pinseringssår på grunnstammer av B9, inokulert med dusjing av sporesuspensjon med *Neonectria ditissima* på Lofthus, ved sluttregistrering 11 veker etter forsøkstart. Suspensjon 1D var dusja med sporesuspensjon ein dag etter pinsering, medan suspensjon 3D er dusja tre dagar etter pinsering. Gjennomsnitt er rekna ut ved 4 gjentak me 5 grunnstammer per behandling, delt på mengd pinseringssår.

Både pinserte og upinserte grunnstammer av M9 som var inokulerte med dusjing av sporesuspensjon på Ås, utvikla infeksjon av fruktrekrefte (fig. 4-12). Det var ikkje statistisk skilnad mellom behandlingane. Sidan det ikkje vart registrert mengd pinseringssår på Ås, vart eininga infeksjonar per grunnstamme brukt.

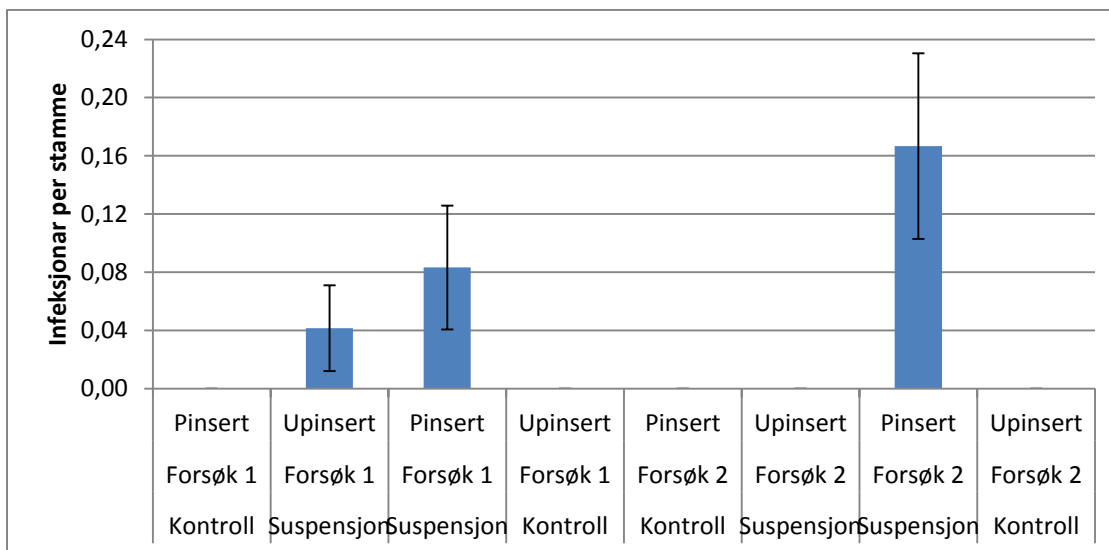


Fig. 4-12. Infeksjonar av fruktrekrefte per grunnstamme på grunnstammer av M9 inokulert med dusjing av sporesuspensjon med *Neonectria ditissima* på Ås, ved sluttregistrering 19 veker etter forsøkstart. Gjennomsnitt er rekna ut av 3 gjentak med 4 grunnstammer per behandling.

Ikkje alle grunnstammene som var dusja med sporesuspensjon utvikla infeksjonar (fig. 4-13). Av tre behandlingar med dusjing av sporesuspensjon på grunnstammer av M9 21. mai, fekk ingen infeksjonar av fruktrekrefte (fig 4-13). Av fem behandlingar dusja med sporesuspensjon 2. og 3. juni, var det nokre få infeksjonar på fire av dei, og ingen på behandlinga med utoppa grunnstammer som var pinserte dagen før dusjing (fig 4-13).

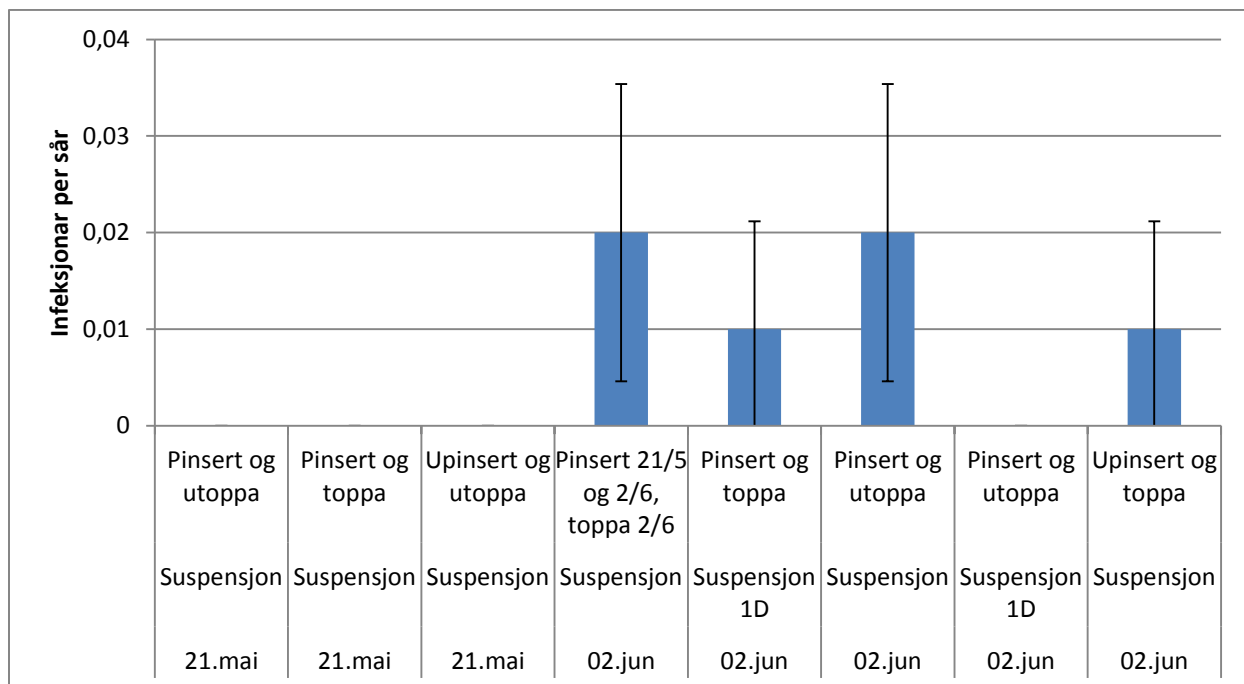


Fig. 4-13. Infeksjonar av frukttrekraft per pinseringssår (skala frå 0 til 1) på grunnstammer av M9, inokulert med dusjing av sporesuspensjon med *Neonectria ditissima* på Lofthus, ved sluttregistrering 11 veker etter forsøksstart. Behandlingar merka med 1D er dusja ein dag etter pinsering og topping. Gjennomsnitt er rekna ut av 4 gjentak med 5 grunnstammer per behandling.

4.3 Resultat frå sporesuspensjon på nytoppa M9-grunnstamme

Fire gjentak med fem M9-grunnstammer i kvart, vart pinserte, toppa og inokulerte ved å tilsetja dropar av sporesuspensjon med *N. ditissima* i såret etter toppinga 18. juni. Ved sluttregistrering 22. september hadde alle grunnstammene utvikla infeksjonar av frukttrekraft.

4.4 Smitteforsøk på grunnstammesortane M9, MM106 og M26.

Dei tre typane av grunnstammer som var inokulerte med ei nål med *N. ditissima* i stamma, hadde utvikla infeksjonar av frukttrekraft ved sluttregistrering 22. september, etter 9 veker (fig. 4-14). Det var ikkje statistisk sikker skilnad ($p = 0,254$) i kor stor grad dei ulike typane var mottakelege for infeksjon, men det var ein tendens til at M26 gav meir infeksjon enn dei to andre. Ingen av grunnstammene som var dusja med sporesuspensjon med *N. ditissima* 1., 8. og 22. juli utvikla infeksjonar av frukttrekraft.

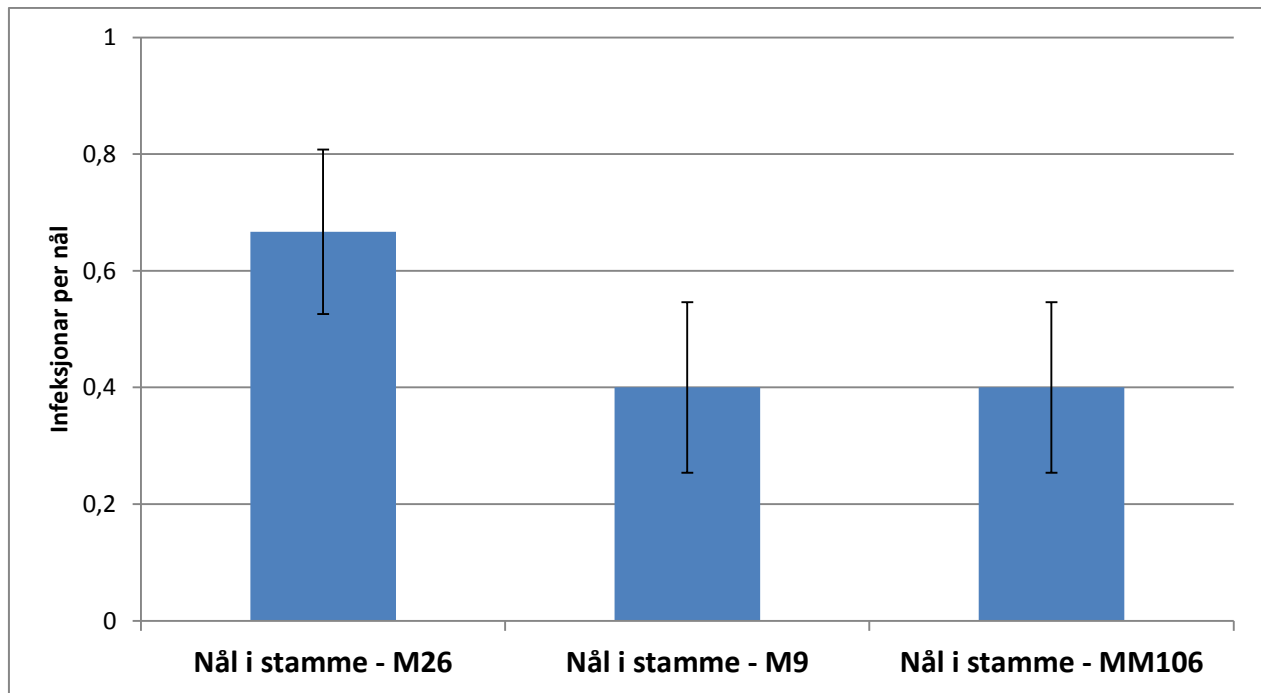


Fig. 4-14. Infeksjonar av fruktrekrefte på grunnstammesortane M26, M9 og MM106, som var inokulert med *Neonectria ditissima* ved hjelp av nåler, ved sluttregistrering etter 9 veker. Gjennomsnitt er rekna ut av 3 gjentak med 5 grunnstammer i kvar behandling.

5 Diskusjon

Alle eplegrunnstammene som vart brukt i forsøka, M9, B9, M26 og MM106, kan utvikla infeksjonar av frukttrekraft. Dette er kommersielt tilgjengelege grunnstammer i Noreg, med M9 og B9 som dei mest vanlege på marknaden. Ingen av dei brukte grunnstammene utprega seg som meir mottakelege for å utvikla frukttrekraft enn andre. Topping, pinsering og skadar utset grunnstammene for risiko for å verta infiserte av frukttrekraft. Alle dei tre inokuleringsmetodane resulterte i infeksjonar på grunnstammene, men i ulik grad. Inokulering med dusjing av sporesuspensjon gav lite utvikling av infeksjonar, medan inokulering med nåler og drypping av sporesuspensjon på nyttoppa grunnstammer viste seg å vera effektive inokuleringsmetodar.

Ved å pinsere grunnstammene vil kvart pinseringssår vera ein mogleg inngangsport for *N. ditissima*. Når dei pinserte grunnstammene vart dusja med sporesuspensjon, simulerte dette tilhøva grunnstammene har når det er fuktig vêr og det er sporar av *N. ditissima* til stades. Sjølv om det vart utvikla infeksjonar av frukttrekraft i nokre av tilfella, så var gjennomsnittet infeksjonar per pinseringssår lågt (0-8% per pinseringssår). Nokre av behandlingane med dusjing av sporesuspensjon gav ingen utslag av infeksjonar. Ved at undersøkingar på spireevna stadfesta at sporane var levande og at same sporesuspensjon danna infeksjonar på andre behandlingar, så kan ein slå fast at det ikkje var noko feil med sjølve inokulumet eller sporesuspensjonen. Som vist i resultatdelen, hadde alle sporesuspensjonane omtrent same konsentrasjon (10^5 sporar per liter). Nøyaktig mengd væske som kjem med kvar dusj av dusjeflaska er uviss, men ein milliliter væske per dusj er eit rimeleg estimat. Dette betyr at grunnstammene som vart dusja med sporesuspensjon, fekk omtrent 100 000 sporar av *N. ditissima* per dusj. Sjølv om disse sporane vert fordelt over heile grunnstamma, burde det vera nok inokulum til å starta infeksjon. Tidlegare studiar har vist at inokulering med 50 og 5000 makrokonidiar per bladarr gav høvesvis 20 og 90% infeksjon av frukttrekraft (Dubin & English, 1974). Inokulering i ferske sår etter skjering gav 32% infeksjon med 100 makrokonidiar (Xu et al. 1998). Ein konsentrasjon på 10^5 sporar per mililiter bør difor vera nok til å danna infeksjonar under gode tilhøve for *N. ditissima*, samtidig som at ein høgare konsentrasjon truleg kunne ført til høgare utvikling av infeksjonar. Etter behandling med drypping av sporesuspensjon på nyttoppa grunnstammer vart det utvikla infeksjon i alle skota, noko som stadfestar at konsentrasjonen var høveleg.

Grunnstammer som vart dusja med sporesuspensjon ein eller tre dagar etter pinseringa, utvikla færre infeksjonar enn grunnstammer som vart dusja same dag som pinseringa. Dersom pinseringssåra får ein dag eller meir til å gro under tørre tilhøve, vil faren for infeksjon vera svært liten. Truleg skuldast dette at pinseringssåra har fått tid til å gro, og det vert vanskeleg for *N. ditissima* å trengja inn i grunnstamma. Dette er også vist i ei studie av Xu et al. (1998) der epletre var mest mottakelege for å utvikla infeksjonar i såra like etter skjering av greiner. Sår etter skjering var mindre mottakelege for infeksjonar når dei fekk stå i sju dagar før inokulering (Saure, 1961a; van der Scheer, 1974; Xu et al. 1998). Grunna storleiken treng truleg eit pinseringssår noko mindre tid på å gro enn eit sår som kjem av skjering. Sidan *N. ditissima*

infiserar ved fuktige tilhøve, kan det løne seg at grunnstammene vert pinserte i tørt vêr for å unngå infeksjonar.

Infeksjonane som vart utvikla etter inokulering med dusjing av sporesuspensjon vart fyrst observerte etter å ha kutta opp grunnstammene ved sluttregistrering og etter inkubering. Det er vist i tidlegare studiar at epletre infiserte med frukttrekraft, kan vera symptomlause i inntil tre år før infeksjonen kjem til syne (Kennel, 1963; Jansonius et al., 2004). Ved å kutte opp grunnstamma for å finne misfarging i veden og å finne sporar etter inkubering, kunne ein i dette arbeidet slå fast at det faktisk var ein infeksjon av *N. ditissima*. Om forsøka hadde gått over lengre tid ville det truleg ha vorte fleire synlege infeksjonar. Ved å inkubere og kutte opp grunnstammene fann ein også infeksjonar som ikkje hadde vorte oppdaga berre av å sjå etter ytre symptom.

Inokuleringsmetoden med å stikka nåler med inokulum av *N. ditissima* inn i grunnstamma (Talgø & Stensvand, 2013), kan samanliknast med at eit sår i grunnstamma får inokulum i seg. Såra laga av nålene skil seg frå pinseringssåra ved at dei går djupare inn i grunnstamma og er i så måte ein meir alvorleg skade for planta. Ei konsentrert mengd inokulum får direkte kontakt med veden inni grunnstamma. Liknande sår kan oppstå naturleg om grunnstammene er utsatt for hardt vêr, får sprekkar i borken eller mekaniske skadar frå ulik handtering. Om grunnstammene har djupe sår, er dei utsette for infeksjon av *N. ditissima*.

Det vart funne sikker skilnad mellom mengd infeksjonar frå inokulering med *N. ditissima* ved hjelp av nåler i toppskot eller stamme og kor lang tid det tok før symptom oppstod på nye skot og stamme. Nyvekst er meir mottakelege for å utvikle infeksjonar enn sjølve stamma. Fleire tidlegare studiar har vist at vedaktige planter får auka resistens mot patogen når dei vert eldre (El-Hamalawi & Menge, 1994).

Arealet under kurva for sjukdomsutvikling (AUDPC) gjer oss eit tal på mengde sjukdom som utvikla seg over tid. Dette talet vert meir presist desto fleire registreringstidspunkt som finst, men kan også brukast med få punkt for å samanlikna ulike sjukdomsforløp (Madden et al., 2008). AUDPC gav ein god peikepinn på skilnadar mellom ulike behandlingar. Både inokulering med nåler på B9 og M9 viste mindre utvikling av infeksjon på toppa grunnstammer enn dei som var utoppa. Bakgrunnen for dette er uviss, men det kan tenkast at desto meir energi planta brukar på vekst, desto mindre kan den bruke på forsvar mot skadegjerarar. Særleg hovudskotet treng mykje energi for å vekse, når dette vert kutta av, har grunnstamma truleg meir energi å bruka på forsvar. Det kan også tenkjast at sjølve kuttinga av toppen, som er ein stor skade på grunnstamma, induserar forsvarmekanismer i planta. Det er vist at mange planter dannar korkvev (fellogen) rundt infeksjonar for å hindre at dei utviklar seg. Døme på dette er tre i sypressfamilien (*Cupressaceae*) som dannar lag av korkvev rundt kreftsår danna av soppen *Seridium cardinale* (Agrios, 2005). Korkvevet dannar ein vegg som soppen ikkje greier å trengja gjennom dersom den er tjukk nok, og dette vevet er eit effektivt forsvar mot skadegjeraren. Liknande forsvar skjer truleg i eplegrunnstammene som vert infiserte.

Grunnstammer av M9 som fekk dryppa sporesuspensjon i såra etter topping, utvikla infeksjon i alle tilfella. Ved å dryppa suspensjon på den nytoppa grunnstamma vil kapillærkreftene trekka sporesuspensjonen inn i såret, og *N. ditissima* får gode tilhøve for å utvikla frukttrekraft. At kapillærkreftene syg inn sporar i trea gjennom sår, har også vore vist i tidlegare studium (Brooks & Moore, 1923; Crosse, 1951). Når sporane har vorte sogne inn i grunnstamma, har dei gode vilkår for å utvikle infeksjonar (Crowdy, 1952). Dette vil seia at like etter topping av grunnstammene, vil dei vera svært mottakelege for infeksjon av *N. ditissima*.

Klimaet i veksthuset på Ås var kontrollert og trea hadde gode tilhøve for vekst av *N. ditissima*. I plasttunnelen på Lofthus varierte klimaet, og skilnaden mellom temperaturen dei ulike dagane var stor. Temperaturen vart høgare i plasttunnelen enn utandørs, og på det varmaste må temperaturen ha vore i overkant av kva som er gunstig for *N. ditissima*. Samtidig finn ein ikkje skilnad mellom resultatata på Ås og resultatata i Lofthus. Eit varierende klima liknar meir tilhøva grunnstammene har når dei veks ute på friland.

Både på grunnstammer som var stukne med nåler med inokulum og kontrollbehandling utan inokulum, vart det funne misfarging i veden. Rundt nokre av nålene frå kontrollbehandlinga var det svart misfarging, medan infeksjonane frå inokuleringa med nåler gav ein meir brunsvart farge, og han breidde seg meir utover. Den svarte misfarginga frå kontrollbehandlinga var truleg bakteriar som har kome med nåla. Ei anna forklaring kan vera at grunnstamma reagerte på å verta stukken av eit framandelement.

Ei mogleg årsak til den store skilnaden på utvikling av infeksjon ved pinsering og topping, er brytinga av dei naturlege fibrane i planta. Ved insering riv ein av skota med dei naturlege fibrane i grunnstamma, medan ved å kutte av toppen skjær ein på tvers av fibrane. Ved å kutte eller skjera i grunnstamma vil såra trengja lengre tid på å gro, og dei er opne for infeksjon i ein lengre tidsperiode. Truleg vil også kapillærkreftene verka kraftigare i eit skjert sår, enn i eit pinseringssår.

6 Litteraturliste

- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5 utg.: Elsevier Academic Press.
- Anonym. (2015). *Omtale av eplegrunnstammer*. <http://sagaplant.no/kulturer/frukt/eple/>: Sagaplant AS.
- Berrie, A. (1989). Storage rots of apple and pear in South East England 1980-88: incidence and fungicide resistance. *2 (6): 229-239*.
- Booth, C. (1966). The genus *Cylindrocarpon*. *Mycological Papers* 104: 1-56.
- Brooks, F. & Moore, W. (1923). The invasion of woody tissue by wound parasites. *Transaction of the Cambridge Philosophical Society (Biological Series)* 1: 56.
- Castlebury, L., Rossman, A. & Hyten, A. (2006). Phylogenetic relationships of *Neonectria/Cylindrocarpon* on *Fagus* in North America. *Canadian Journal of Botany* 84: 1417-1433.
- Cayley, D. (1921). Some observation on the life-history of *Nectria galligena* Bres. *Annals of Botany*, 35: 79-92.
- Chaverri, P., Salgado, C., Hirooka, Y., Rossman, A. & Samuels, G. (2011). Delimitation of *Neonectria* and *Cylindrocarpon* (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with *Cylindrocarpon*-like anamorphs. *Studies in Mycology*, 68: 57-78.
- Cooke, L. (1999). The influence of fungicide sprays on infection of apple cv. Bramley's seedling by *Nectria galligena*. *European Journal of Plant Pathology* 105: 783-790.
- Cooke, L., Watters, B. & Brown, A. (1993). The effect of fungicide sprays on the incidence of apple canker (*Nectria galligena*) in Bramley's Seedling. *Plant Pathology* 42: 432-442.
- Crosse, J. (1951). The leaf scar as an avenue of infection for the cherry bacterial canker organism *Pseudomonas morsprunorum* Wormald. *Nature, London* 168: 560.
- Crowdy, SH. (1952). Observations on apple canker .4. The Infection of leaf scars. *Annals of Applied Biology*, 39: 569-580.
- Dubin, H. J. & English, H. (1975). Epidemiology of European apple canker in California. *Phytopathology* 65: 542-550.
- Dubin, H. J. & English, H. (1974). Factors affecting apple leaf scar infection by *Nectria galligena* conidia. *Phytopathology* 64: 1201-1203.
- El-Hamalawi, Z. & Menge, J. (1994). Avocado trunk canker disease caused by *Phytophthora citricola*: investigation of factors affecting infection and disease development. *Plant Disease* 28: 260-264.
- Flack, N. & Swinburne, T. (1977). Host range of *Nectria galligena* Bres. and the pathogenicity of some Northern Ireland isolates. *Transaction of the British Mycological Society* 68: 185-192.
- Goethe, R. (1880). Weitere Mitteilungen über den Krebs der Apfelbäume. *Landwirtschaftliche Jahrbuch* 2: 837.
- Graf, H. (1976). Die Biologie des Obstbaumkrebses (*Nectria galligena* Bres.) als Grundlage seiner gezielten Bekämpfung. *Mitteilungen Des Obstbauversuchsringes Des Alten Landes* 31: 68-78.
- Hartig, R. (1882). Der Krebspilz der Laubholzbäume. *Untersuchungen aus dem Fortsbot anische Institut zu München I*: 109-125.
- Jansonius, P., Jong, P. F. d. & Anbergen, R. (2004). Vruchtboomkanker in de biologische vruchtboomteelt. *Publicatie LF79*. Driebergen, The Netherlands: Louis Bolk Instituut.

- Jong, P. F. d. & Steeg, P. v. d. (2012). Vruchtboomkanker in de vruchtboomkwekerij, Wageningen University: DLO, Rapportnr. 2012-33 <http://edepot.wur.nl/245856>
- Kennel, W. (1963). Zur Pathogenese des Obstbaumkrebses (*Nectria galligena* Bres.) am Apfel. *Gartenbauwissenschaft* 28: 29-64.
- Krähmer, H. (1980). Wundreaktionen von Apfelbäumen und ihr Einfluss auf Infektionen mit *Nectria galligena*. *Zeitschrift Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz* 87: 97-112.
- Latorre, B., Rioja, M., Lillo, C. & Muñoz, M. (2002). The effect of temperature and wetness duration on infection and a warning system for European canker (*Nectria galligena*) of apple in Chile. *Crop Protection* 21: 285-291.
- Madden, L. V. (1997). Effects of rain on splash dispersal of fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19: 225-230.
- Madden, L., Hughes, G. & Bosch, F. v. d. (2008). The Study of Plant Disease Epidemics. St. Paul Minnesota USA: The American Phytopathological Society.
- McCracken, A. R., Berrie, A., Locke, D. J., Cooke, L. R., Phelps, K., Swinburne, T. R., Brown, A. E., Ellerker, B. & Langrell, S. R. H. (2003). Relative significance of nursery infections and orchard inoculum in the development and spread of apple canker (*Nectria galligena*) in young orchards. *Plant Pathology* 52: 553-566.
- Munson, R. (1939). Observations on apple canker. I. The discharge and germination of spores of *Nectria galligena* Bres. *Annals of Applied Biology* 26: 440-457.
- Naqvi, S. (2004). Diseases of fruits and vegetables: diagnosis and management. *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston*.
- Norges Landbruksrådgivning. (2015). Plantevernplan frukt og bær. s. 55.
- Palm, G. (1975). Krebsbekämpfung für den Obstbau immer noch Problem nr. 1. *Mitteilungen Des Obstbauversuchsringes Des Alten Landes* 30: 218.
- Saure, M. (1961b). Die Bekämpfung des Obstbaumkrebses (*Nectria galligena* Bres.). *Mitteilungen Des Obstbauversuchsringes Des Alten Landes* 16: 111-117.
- Saure, M. (1974). Möglichkeiten der Bekämpfung des Obstbaumkrebses (*Nectria galligena* Bres.). *Mitteilungen Des Obstbauversuchsringes Des Alten Landes* 29: 115-117.
- Saure, M. (1961a). Untersuchungen über die Voraussetzungen für ein epidemisches Auftreten des Obstbaumkrebses (*Nectria galligena* Bres.). Ph. D. Dissertation: Technische Universität Berlin.
- Scheer, H. V. d. (1974). Bestrijding van vruchtboomkanker (*Nectria galligena*). *Fruitteelt* 64: 1174-1177.
- Seemüller, E. (1988). *European handbook of plant diseases*. Blackwell Scientific Publications 280-282.
- Swinburne, T. (1971). The seasonal release of spores of *nectria galligena* from apple cankers in Northern Ireland. *Annals of Applied Biology* 69: 97-104.
- Swinburne, T. (1975). European canker of apple (*Nectria galligena*). *The Annual Review of Plant Pathology* 54: 787-799.
- Swinburne, T., Cartwright, J., Flack, N. & Brown, A. (1975). The control of apple canker (*Nectria galligena*) in a young orchard with established infections. *Annals of Applied Biology* 81: 61-73.
- Talgø, V. & Stensvand, A. (2013). A simple and effective inoculation method for *Phytophthora* and fungal species on woody plants. *EPPO Bulletin*, 43: 276-279.
- Weber, R. W. S. & Hahn, A. (2013). Obstbaumkrebs (*Neonectria galligena*) und die Apfelsorte 'Nicoter' (Kanzi(r)) an der Niederelbe. *Mitteilungen Des Obstbauversuchsringes Des Alten Landes* 68: 247-256.

- Weber, R. W. S. (2014). Biology and control of the apple canker fungus *Neonectria ditissima* (syn. *N. galligena*) from a Northwestern European perspective. *Erwerbs-Obstbau* 56 (3): 95-108.
- Wessel, H. (1979). Sporenfreizetsung bei *Nectria galligena* Bres. in Erwerbs-Anlagen des Niederelbischen Obstanbaugebietes 1977. *Erwerbs-Obstbau* (21): 196-201.
- Wiltshire, S. (1921). Studies on the apple canker fungus. I. Leaf scar infection. *Annals of Applied Biology* 8: 182-192.
- Xu, X. M., Butt, D. J. & Ridout, M. S. (1998). The effect of inoculum dose, duration of wet period, temperature and wound age on infection by *Nectria galligena* of pruning wounds on apple. *European Journal of Plant Pathology* 104: 511-519.
- Zeller, S. M. (1926). European canker of pomaceous fruit trees. *Bulletin Oregon Agricultural College Experiment Station* 222.



Noregs miljø- og
biovitenskaplege
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no