

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne oppgaven er en avslutning på masterstudiet i plantevitenskap, med fordypning i plantepatologi, ved Universitetet for miljø- og biovitenskap på Ås. Feltarbeidet har foregått i Meldal i Sør-Trøndelag, og laboratoriearbeidet har blitt utført ved Bioforsk Plantehelse på Ås. I løpet av arbeidet med oppgaven har jeg vært i kontakt med mange flotte mennesker som jeg har lyst til å takke. Først og fremst en takk til veilederne mine Anne Marte Tronsmo, May Bente Brurberg, Saideh Salamati, Lars Reitan og Andrea Ficke. Dere har utfylt hverandre i oppgaven som veiledere, og hver og en av dere har bidratt til at oppgaven har kunnet la seg gjennomføre.

Takk til Graminor for å bidra med ressurser og faglig kompetanse til arbeidet med oppgaven. Takk til Norsk Landbruksrådgiving Sør-Trøndelag, for å bidra med tid og ressurser. Tusen takk til Yara for at jeg fikk tildelt Yara-stipendet. Det har vært en viktig motivasjonsfaktor, og har gjort oppgaven mulig økonomisk.

Takk også til Annemarie Fejer Justesen for tillatelse til å bruke primere og probe, Aina Lundon for assistanse i Nordic Field Trial, Ragnhild Borchsenius for gode råd til sjukdomsregistreringene, Ola K. Loe som var feltvert for forsøket, Grete Lund som lærte bort tidkrevende laboratoriearbeid, Yang Hu som assisterte i pipetteringen og Ingvild Evju som tok seg tid til å lese igjennom oppgaven og komme med innspill.

Foreldrene mine, Anne Berit og Jan Manne, fortjener også en stor takk for at dere har inspirert meg til å fortsette å jobbe når arbeidet har gått trått, og sist men ikke minst, min kone Siri og vår datter Signe for at dere har vist stor tålmodighet når jeg har vært fraværende på grunn av arbeid med masteroppgaven.

Ås, desember 2011.

Jan-Eivind Kvam-Andersen

Sammendrag

Spragleflekk er en soppsjukdom på bygg som skyldes sopp *Ramularia collo-cygni* og som har fått økt fokus, ettersom den blir funnet i stadig nye områder. I Norge er sjukdommen spesielt utbredt i Midt-Norge hvor den fører til redusert avling og kvalitet i bygg. I oppgaven er det sett på hvilken betydning beising, frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* og sortsvalg har å si for sykdomsutvikling i vekstsesongen, avling, kvalitet og grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet. Det ble anlagt et feltforsøk i 2010 i Meldal i Midt-Norge, med fire sorter, to beisemidler, såkorn smittet med *Ramularia* fra Kvithamar i Midt-Norge, og såkorn uten smitte av *Ramularia* fra Apelsvoll på Østlandet. Sjukdomsutviklingen ble registrert og beregnet med AUDPC og det ble utført avlingsregistrering og kvalitetsanalyser av kornet etter høsting. Graden av frøsmitte ble beregnet ved hjelp av real-time PCR, utført med prober og primere designet av Pinnschmidt & Justesen (2009).

Resultatene viste at sort var den viktigste faktoren for utvikling av soppsjukdom i vekstsesongen. Sorten Heder ble sterkest angrepet av spragleflekk av sortene i forsøket. Tyra ble noe angrepet av spragleflekk, men fikk også noe angrep av byggbrunflekk. Tiril ble sterkt angrepet av byggbrunflekk og fikk lite angrep av spragleflekk. Sorten Helium gav høyest avling og den ble også minst angrepet av soppsjukdommer i vekstsesongen. Beising med Celest Formula M® gav høyest avling av behandlingene i forsøket, men Kinto® gav også en viss avlingseffekt. Dette skyldes trolig bekjempelse av byggbrunflekkssmitte, siden beisemidlene ikke gav signifikant utslag på sykdomsutviklingen av spragleflekk i vekstsesongen. Beising førte til økt grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet. Dette kan skyldes god bekjempelse av andre sjukdommer. Grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* viste ingen signifikant effekt på sykdomsutvikling av spragleflekk i vekstsesongen.

I forbindelse med NORBARAGs (Nordic Baltic Resistance Action Group) kartlegging av strobilurinresistens i 2010, ble det påvist strobilurinresistens i Sør-Trøndelag. Et delmål med oppgaven var å se på nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i dette området. Det ble tatt ut såkornprøver fra egenprodusert såkorn i området og disse viste høye nivå av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* (opptil 13,4 pg *Ramularia* DNA). Det kan derfor være behov for en videre kartlegging av nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, spesielt i områder hvor sjukdommen er utbredt.

Abstract

Ramularia leaf spot is a disease on barley caused by the fungi *Ramularia collo-cygni*, which is gaining increased attention, as it is discovered in new areas. In Norway, the disease is endemic in the Mid-Norway, where it causes reduced yield and quality in barley. The main focus of the thesis is to investigate how seed treatment, level of seed infection with *Ramularia collo-cygni* and variety affect disease development, yield, quality and level of seed infection in the harvested grain. A field trial was established in Meldal in Mid-Norway in 2010, with 4 varieties, 2 seed treatments, and seed infected with *Ramularia* from Kvithamar in Mid-Norway, and uninfected seed from Apelsvoll in the south-east of Norway. Disease development was registered, AUDPC was calculated, and yield and quality analyses were performed after harvest. The level of seed infection was estimated by real-time PCR, performed with probe and primers designed by Pinnschmidt & Justesen (2009).

The results showed that variety was the most important factor for development of disease throughout the growing season. The variety Heder was most severely attacked by Ramularia leaf spot of the varieties in the trial. The variety Tyra showed some incidence of both Ramularia leaf spot and Net blotch. The variety Tiril was severely attacked by Net blotch and was little affected by Ramularia leaf spot. The variety Helium obtained the highest yield in the trial and was least affected by diseases in the growing season. Seed treatment with Celest Formula M® obtained the highest yield, but Kinto® also showed some yield effect. The yield effect is probably due to an effect on seed borne *Pyrenophora teres* since there was no significant effect of treatments on development of Ramularia leaf spot. The seed treatments led to higher amount of seed infection of *Ramularia collo-cygni* in the harvested grain. This could be explained by good effect on other diseases. Level of seed infection with *Ramularia collo-cygni* did not show significant effect on the development of Ramularia leaf spot.

Since NORBARAG (Nordic Baltic Resistance Action Group) found strobilurin resistant varieties of *Ramularia collo-cygni* in Mid-Norway in 2010, an objective of the thesis was to estimate the level of seed infection of *Ramularia collo-cygni* in this area. Seed samples was taken from the home-saved seed used in this area, and these showed high infection of *Ramularia collo-cygni* (up to 13.4 pg *Ramularia* DNA). Further investigations are needed to investigate of the levels of seed infection of *Ramularia collo-cygni*, especially in areas where the disease is endemic.

Innholdsfortegnelse

Forord.....	I
Sammendrag	II
Abstract	III
1. Innledning.....	1
1.1 Spraglefleck-soppen (<i>Ramularia collo-cygni</i>).....	1
1.1.1 Betydning som skadegjører	1
1.1.2 Taksonomi.....	2
1.1.3 Vertsplanter	3
1.1.4 Infeksjonssyklus	4
1.1.5 Livssyklus.....	7
1.1.6 Betydningen av frøsmitte	8
1.1.7 Klimatiske forhold.....	8
1.1.8 Toksinet rubellin.....	9
1.2 Bekjempelse av spraglefleck	10
1.2.1 Soppbehandling i vekstsesongen	10
1.2.2 Strobilurinresistens	10
1.2.3 Kartlegging av strobilurinresistens i Norge	11
1.2.4 Diagnostisering med real-time PCR	12
1.3 Formålet med oppgaven	13
2. Egne forsøk	14
2.1 Feltforsøket - Materiale og metode.....	14
2.1.1 Byggsortene.....	14
2.1.2 Såkornet og beisemidlene.....	16
2.1.3 Gjennomføring av feltforsøket	17
2.1.4 Registrering av sjukdomsangrep	18
2.2 Isolering og kvantifisering av <i>Ramularia</i> DNA i kornprøver	19
2.2.1 Materiale – Isolering av DNA fra kornprøver	19
2.2.2 Metode - Isolering av DNA fra kornprøver	19
2.2.3 Materiale – Isolering av DNA fra soppisolat på agar	21
2.2.4 Metode - Isolering av DNA fra soppisolat på agar	22
2.2.5 Materiale og metode- Test av DNA kvalitet ved gel-elektroforese	23
2.2.6 Materiale – Real-time PCR	25
2.2.7 Metode – Real-time PCR.....	26
2.2.8 Materiale og metode - Spektrofotometrisk måling av DNA.....	28
2.3 Uttak av såkornprøver i område med strobilurinresistens	29
2.3.1 Materiale og metode - Uttak og analysering av såkornprøver.....	29

3.	Resultater.....	30
3.1	Feltforsøket.....	30
3.1.1.	Sjukdomsregistreringer, AUDPC, og andre registreringer før høsting.....	30
3.1.2	Avlingsresultater og analyseresultat etter høsting	36
3.2	Nivå av frøsmitte av <i>Ramularia collo-cygni</i> i høstet korn.....	41
3.3	Så Kornprøver i område med strobilurinresistens	42
4.	Diskusjon.....	44
4.1	Feltforsøket.....	44
4.2	Nivå av frøsmitte av <i>Ramularia collo-cygni</i> i høstet korn	46
4.3	Så Kornprøver i område med strobilurinresistens	47
4.4	Oppsummering	48
5.	Konklusjon	49
6.	Litteraturliste	50
7.	Appendix	55

1. Innledning

1.1 Spragleflekk-soppen (*Ramularia collo-cygni*)

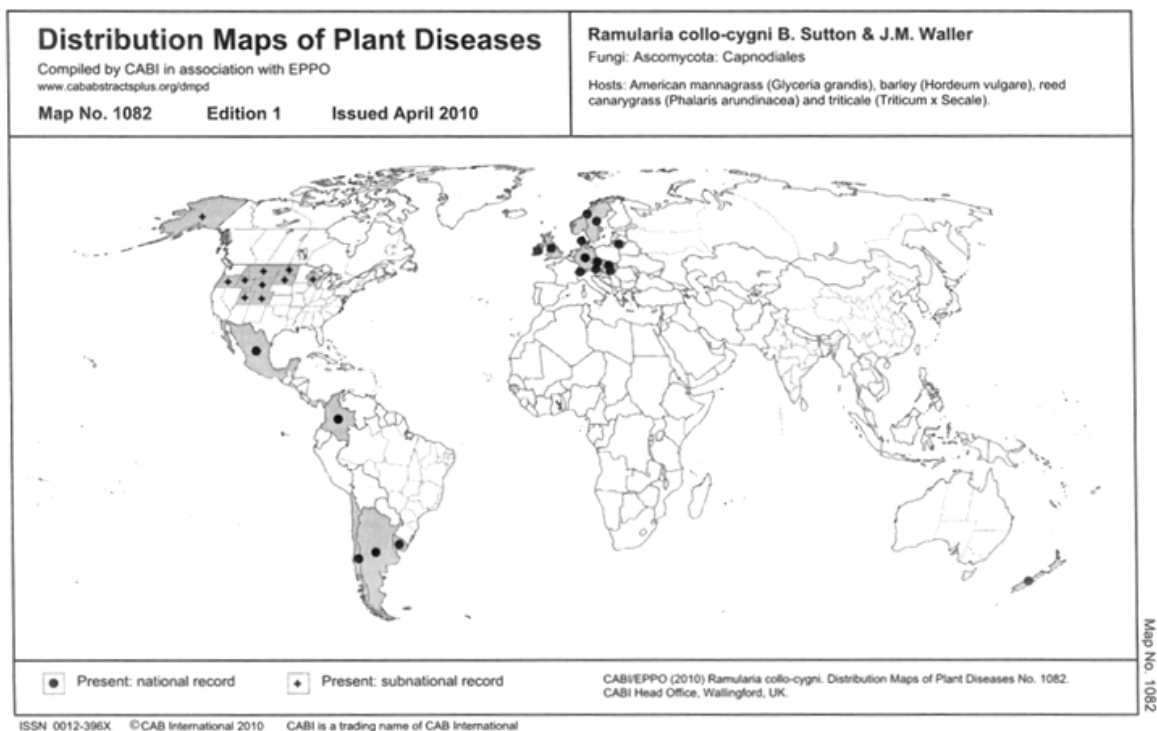
1.1.1 Betydning som skadegjører

I Midt-Norge er bygg (*Hordeum vulgare* L.) hovedkulturen blant kornartene. Våte og kalde somre gjør kulturen utsatt for soppsjukdommer som trives under nettopp slike forhold (Salamati, 2009). De tre viktigste bladflekkssjukdommene i Midt-Norge er grå øyeflekk, byggbrunflekk og spragleflekk som forårsakes av henholdsvis *Rhynchosporium secalis*, *Pyrenophora teres*, og *Ramularia collo-cygni*. I denne oppgaven vil det bli fokusert på hvordan en kan gjøre forebyggende tiltak for å redusere frøsmitte av spragleflekk-soppen *Ramularia collo-cygni*, og dermed forhindre avlingsnedgang og kvalitetsforringelse i byggproduksjonen. Spragleflekk sees som brune flekker på 1-3 mm med en klorotisk kant rundt (Figur 1.1). Disse blir synlige når planta går over i generativ fase, men en kan imidlertid oppdage tidlige symptomer av soppen allerede på buskingsstadiet på visnende blad (Salamati & Reitan, 2006).



Figur 1.1 Symptomer av spragleflekk på byggsorten Heder. (Foto: Jan-Eivind Kvam-Andersen)

Spragleflekk har vært kjent siden slutten av 1800 tallet, men det er først de siste 15-20 årene den har blitt en alvorlig sykdom på bygg i Europa. I starten ble den regnet for å være et problem i Nord-Europa hvor klimaet er vått og kaldt, men den har etter hvert gjort seg gjeldende også i varmere og tørrere klima lenger sør (Figur 1.2) (Oxley *et. al.*, 2009). Spragleflekk kan gjøre stor skade på avlingen og det er vist at sykdommen kan føre til 20 % avlingsnedgang. I sjeldne tilfeller har det også vært registrert avlingsnedgang på opptil 40 % (Salamati & Reitan, 2006). I tillegg til avlingsnedgang fører sykdommen også til redusert kvalitet på kornet, med redusert hektolitervekt og fôr kvalitet (Reitan, 2009).



Figur 1.2 Utbredelse av *Ramularia collo-cygni* på verdensbasis, basert på registreringer på nasjonalt nivå (●) og subnasjonalt nivå (+) (CABI/EPPO, 2010).

1.1.2 Taksonomi

Ramularia collo-cygni ble først oppdaget i Nord-Italia i 1893 og beskrevet av Cavara som *Ophiocladium hordei* (Cavara, 1893). I Norge ble soppen rapportert av Jørstad (1930), men den ble ikke beskrevet i Norge igjen før i 1980 hvor en planteforedler beskrev spragleflekkssymptomer, uten å plassere årsaken til disse (Salamati *et. al.*, 2004). I 1946 skiftet soppen navn til *Ovularia hordei* da Sprague anså det som unødvendig å ha en egen familie som het *Ophiocladium*, når soppen hadde så mye til felles med andre arter i familien *Ovularia* (Sprague, 1946) I 1988 ble soppen plassert i familien *Ramularia* og fikk navnet *Ramularia hordeicola* (Braun, 1988), før den fikk sitt nåværende navn *Ramularia collo-cygni*, av Sutton & Waller (1988). Navnet betyr svane Hals og henspiller til de krokete konidioforene. Det er

foreløpig ikke bevist at det finnes et kjønn stadium av soppen, men genetiske kartlegginger plasserer den i familien Mycosphaerellaceae (Tabell 1.1) (Crous *et. al.*, 2000). Salamati & Reitan (2006) viste at *Astromella* stadiumet av soppen, som tidligere er funnet på blader av bygg i Argentina (Braun, 2002) trives på halmrester på agar. Det at det finnes et *Astromella* stadium, som er et slags ”hann-stadium” av soppen, øker sannsynligheten for at det finnes et kjønn stadium av soppen i naturen, og dermed økt genetisk variasjon (Salamati & Reitan, 2006).

Tabell 1.1 Taksonomisk inndeling for *Ramularia collo-cygni* (Crous *et. al.*, 2000; Sutton & Waller, 1988).

	Ukjønna stadium (Anamorph)	Kjønna stadium (Teleomorph)
Rike	Fungi	Fungi
Rekke	Deuteromycetes	Ascomycota
Klasse	Hyphomycetes	Dothideomycetes
Orden	Hyphomycetales	Capnodiales
Familie	Mucedinaceae	Mycosphaerellaceae
Slekt	<i>Ramularia</i>	<i>Mycosphaerella</i>

1.1.3 Vertsplanter

Hovedverten til *Ramularia collo-cygni* er bygg (*Hordeum vulgare* L.), men den har også andre vertsplanter i familien *Hordeum spp.* I Sveits har soppen blitt isolert fra hvete (*Triticum aestivum* L.), durumhvete (*Triticum durum* L.), havre (*Avena sativa* L.), engrapp (*Poa pratensis* L.), og kveke (*Agropyron repens* L.) (Frei & Gindrat, 2000).

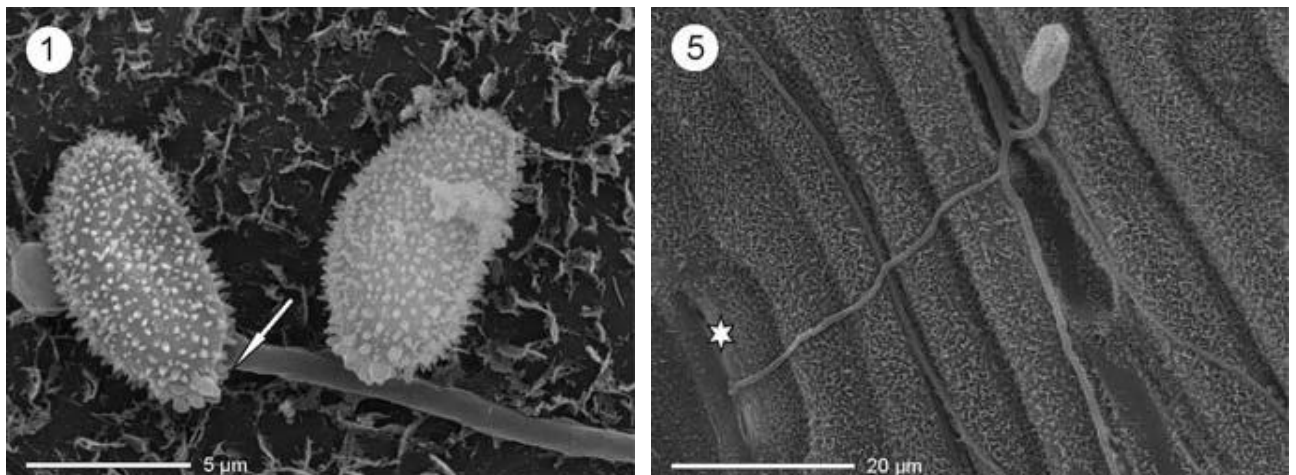
Andre vertsplanter er møllesøtgras (*Glyceria grandis* S.Wats), strandrør (*Phalaris arundinacea* L.), rughvete/tritikale (*Triticum secalum*), svingel-arten *Festuca kingii*, italiensk raigras (*Lolium multiflorum* Lam.), og engelsk raigras (*Lolium perenne* L.) (Sprague, 1950). Soppen er i nyere tid også beskrevet på mais (*Zea mays* L.) (Stabentheiner *et.al.*, 2006) og hamp (*Cannabis sativa* L.) (Braun, 1998). Sjukdommen ble funnet på kveke (figur 1.3) og havre i Norge i 2005 (Salamati & Reitan, 2006).



Figur 1.3 Spragleflekk på kveke. (Foto: Jan-Eivind Kvam-Andersen)

1.1.4 Infeksjonssyklus

Stabentheiner *et. al.* (2009) har studert infeksjonssyklusen til *Ramularia collo-cygni* ved hjelp av elektronmikroskopi. Dette studiet viste at i vårbygg starter infeksjonssyklusen på forsommeren, ved at et stort antall konidier (Figur 1.4) avsettes og fester seg til blader av bygg. Et høyt antall konidier spirer på klorotiske, nekrotiske blad, og til en viss grad også på friske blad. Under konidiespiringen vokser det ut en spirehyfe fra den basale eller den øvre delen av konidien. I noen tilfeller kan det vokse ut to spirehyfer fra samme konidie. Etter hvert som spirehyfen vokser, finner den veien inn i planta gjennom spalteåpningene (Figur 1.4). Fra spiring, til penetrering gjennom spalteåpningene går det ikke lenger enn 24 timer (Sutton & Waller, 1988). Som regel skjer penetrering etter at soppen har dannet et tett nettverk av hyfer på bladoverflaten.

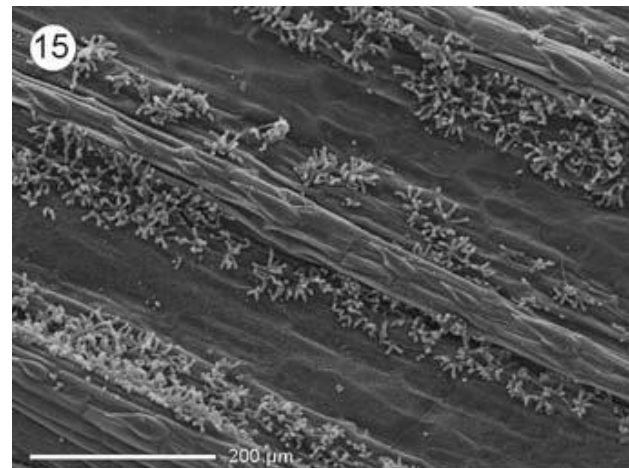


Figur 1.4 (1) Konidier på epidermis dekket med voksplater. Konidiene er ovale, vortete og har et arr nær basis (pil) hvor infeksjonshyfen gror ut. (5) Etter spiring forgreiner hyfene seg og en av forgreiningene gror inn i spalteåpningen (stjerne). Elektronmikroskopi (SEM) av *Ramularia collo-cygni* på vårbygg, samlet i juni (Stabentheiner *et. al.*, 2009).

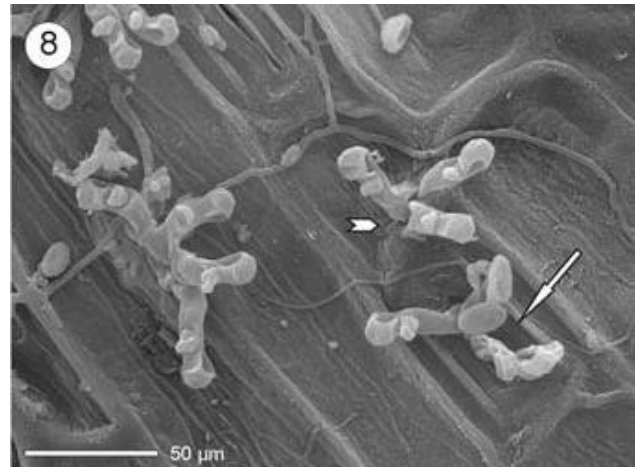
Smitte av *Ramularia collo-cygni* har blitt funnet i frø av bygg, og dette tyder på at frøsmitte er en del av livssyklusen til soppen (Havis *et. al.*, 2006a; Salamati & Reitan, 2006; Frei *et. al.*, 2007). I frø med smitte av *Ramularia collo-cygni* som har blitt drevet fram til spiring, ble det funnet hyfer av soppen inni selve bladet selv om det ikke var noen tegn til soppen utenpå bladet. Dette er også bekreftet ved hjelp av DNA analyser (Havis *et. al.*, 2006a). Inne i bladet vokser soppen intracellulært i mesofyllvevet, og også her dannes det et tett nettverk av forgreinede hyfer (Sutton & Waller, 1988). Reitan & Salamati (2006) viste at *Ramularia collo-cygni* med de ovennevnte egenskapene kan karakteriseres som en endofytt som har utviklet seg til å bli patogen (Reitan & Salamati, 2006). Dette støttes av Newton *et. al.*, (2010)

som viser til at *Ramularia collo-cygni* har en biotrof (endofyttisk) fase, hvor den ikke fremkaller symptomer. Når verten når blomstringsfasen induseres det en endring i planta som fører til at det biotrofe forholdet går over i et mer skadelig patogent forhold med utvikling av symptomer. Nekrotiske flekker oppstår som følge av at soppen skiller ut lysavhengige rubellintoksiner som ødelegger vertsceller og på den måten gir soppen tilgang til næringsstoffer (Newton *et. al.*, 2010).

Når verten når den generative fasen, begynner symptomene på spragleflekk å vise seg med små brune flekker, vanligvis også med en gul randsone (Salamati & Reitan, 2006). Ser en nærmere på flekkene kan en oppdage caesputuli som vokser i små fascicler (små buketter av 10-15 konidioforer) i rekker mellom bladnervene (Figur 1.5). I studiet utført av Stabenheiner *et. al.* (2009) kom de først til syne på undersiden av bladet, men vokste etter hvert også på oversiden av bladene. Konidioforer vokser ut av spalteåpningene (Figur 1.6), noe som forklarer hvorfor fasciclene står så tydelig på rekke. Det hender også at de vokser igjennom epidermis i nærheten av spalteåpningene, men dette skjer først og fremst på eldre blad. Mer spesifikt vokser de igjennom epidermis - i ytterkantene av epidermiscellene nær midtlammellen. Når konidioforene er ferdig utviklet starter de å produsere konidier som igjen kan infisere nye blad. Det er påvist at det fra et blad med kraftige infeksjoner av *Ramularia collo-cygni*, kan dannes 50 000 konidier (Huss, 2004).



Figur 1.5 (15) Rekker med caesputuli på epidermis. Elektronmikroskopi (SEM) av *Ramularia collo-cygni* på bygg, samlet om vinteren (Stabenheiner *et. al.*, 2009).



Figur 1.6 Klyngene med konidioforer med svanehalsliknende utseende vokser gjennom spalteåpningen (pil) og vekk fra den (pilhode). Elektronmikroskopi (SEM) av *Ramularia collo-cygni* på vårbygg, samlet i juli (Stabenheiner *et. al.*, 2009).

I Sveits er det undersøkt hvordan *Ramularia collo-cygni* opptrer på vinterbygg. Det viste seg at sporuleringen forekom først på flaggbladstadiet fra visnende blad, i slutten av april (Frei *et. al.*, 2007). Forsøk med sporefeller utført i Tyskland viste at sporuleringen skjedde fra mai og utover (Schützendübel *et. al.*, 2008). Disse resultatene er forskjellig fra hva man har funnet i Storbritannia, der sporuleringen både på vårbygg og vinterbygg skjedde etter at symptomene på spraglefleck viste seg. Sporuleringen i disse forsøkene ble registrert i siste halvdel av august 2005, og sent i juli i 2008 (Havis *et. al.*, 2009). Sporulering på et sent stadium av året kan føre til høyt innhold av smitte i frø, og mulighet til infeksjon i det påfølgende året (Figur 1.7) (Havis *et. al.*, 2009).

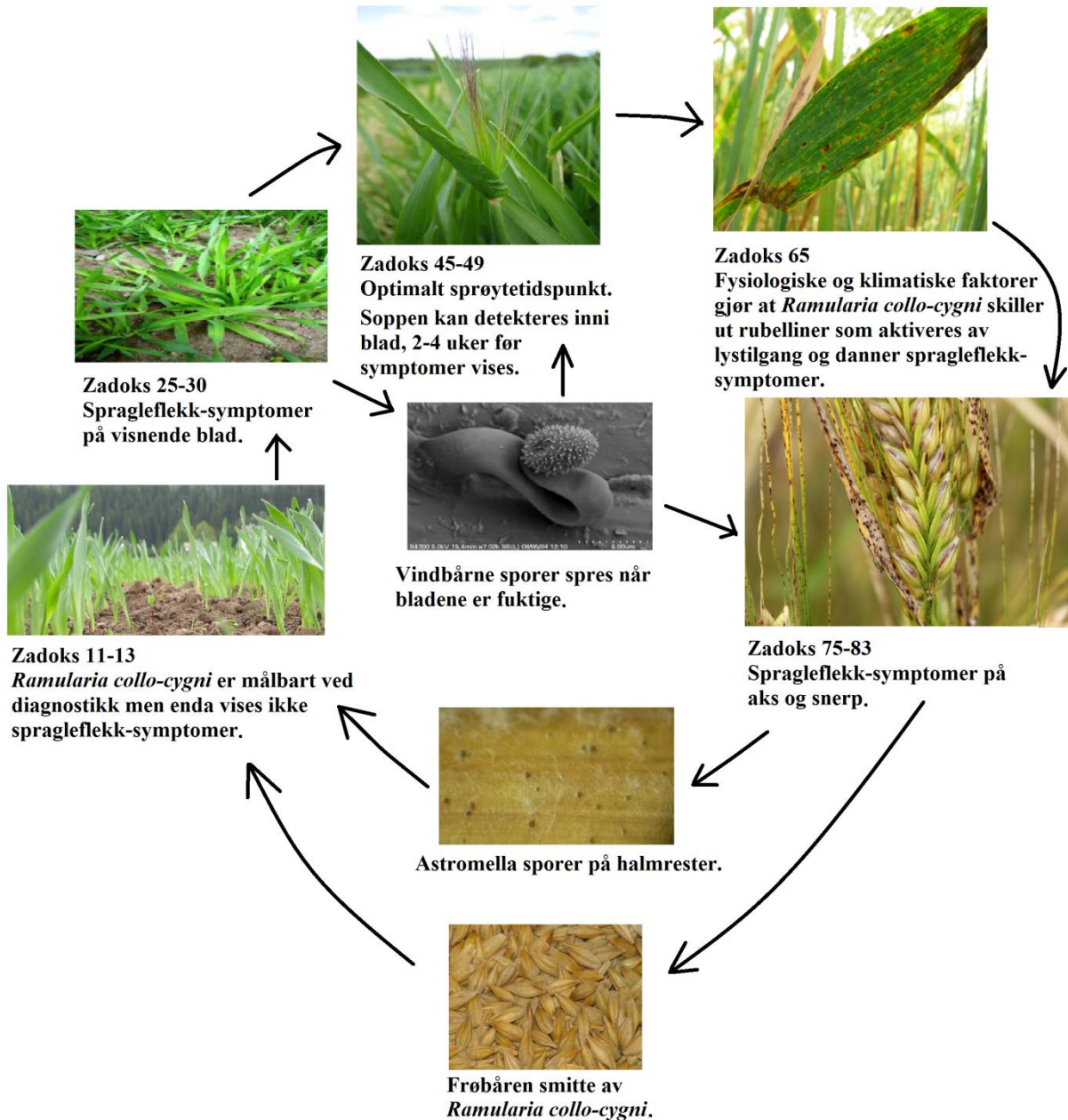


Figur 1.7 Symptomer av spraglefleck på aks og snerp, på byggsorten Iron, 19. august 2011. (Foto: Jan-Eivind Kvam-Andersen).

1.1.5 Livssyklus

Livssyklusen til *Ramularia collo-cygni* som er presentert (Figur 1.8) er basert på livssyklusen presentert av SAC (Oxley & Burnett, 2010).

Ramularia collo-cygni's livssyklus



Figur 1.8 Livssyklusen til *Ramularia collo-cygni*. Figurer og tekst er basert på livssyklusen presentert av SAC (Oxley & Burnett, 2010).

1.1.6 Betydningen av frøsmitte

I Storbritannia ble det utført feltforsøk (Oxley & Havis, 2010) hvor det ble sett på sammenhengen mellom frøsmitte og utvikling av spragleflekk i vekstsesongen. I disse forsøkene var ikke noe av såkornmaterialet som ble brukt, helt fritt for frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*. Betydningen av frøsmitte var størst i vårbyggsorten `NFC-Tipple` som viste en reduksjon i symptomer av spragleflekk på over 50 % ved bruk av såkorn som inneholdt mindre enn 1 pg DNA av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*. Betydningen av frøsmitte for utvikling av spragleflekk i vekstsesongen var imidlertid mindre enn betydningen av geografisk plassering, med bladfuktighet som en viktig faktor.

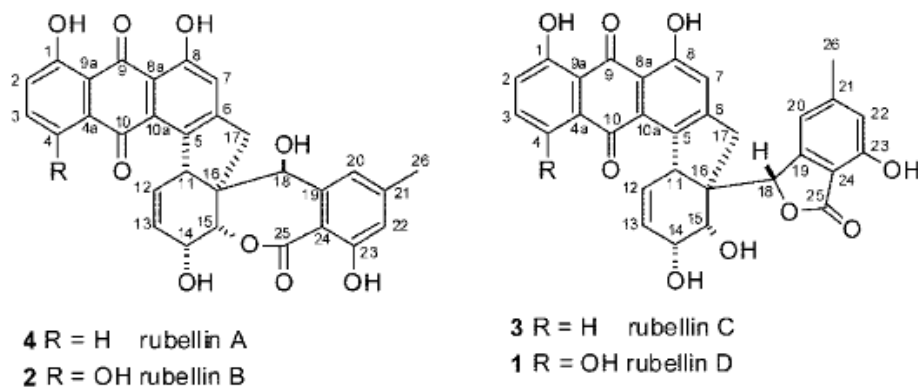
Nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* ble kartlagt i kornåkre ved innhøsting, i store deler av Storbritannia i 2006 og 2007 (Oxley & Havis, 2010). Det ble tatt ut 30 prøver i 2006 og 59 prøver i 2007. Graden av frøsmitte var høyere i 2006 (48,3 pg DNA i gjennomsnitt) enn i 2007 (9,9 pg DNA i gjennomsnitt). Nivået av frøsmitte var høyere i prøver fra Skottland (32,7 pg DNA i gjennomsnitt), og lavest i England (6,2 pg DNA i gjennomsnitt). Ut ifra disse forsøkene ble det definert at nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* er høyt når det overstiger 5 pg *Ramularia* DNA. I Storbritannia anbefales det at nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* holdes så lavt som mulig i områder hvor spragleflekk ikke er endemisk. Det vil si under 1 pg DNA i England og under 5 pg DNA i nord og vest-Storbritannia (Oxley & Havis, 2010).

1.1.7 Klimatiske forhold

I Midt-Norge har Salamati & Reitan (2006) vist at bladfuktighet over lengre tid, de to første ukene i juni, er den viktigste klimatiske faktoren for et alvorlig angrep av spragleflekk. Byggplanten er da på utviklingsstadiet Zadoks 15-30 avhengig av såtid (Zadoks *et. al.*, 1974). De konkluderte med at sjukdommen ble etablert i denne perioden. Infeksjoner lenger ut i vekstsesongen kunne skje, men ville være av liten økonomisk betydning (Salamati & Reitan, 2006). I Storbritannia er det definert at bladfuktighet over 4000 minutter i løpet av de 14 første dagene i juni, gir høy risiko for angrep av spragleflekk. Byggplanta er da ved Z 25-32 (Oxley & Havis, 2010). En studie fra Østerrike (Formayer *et. al.*, 2004) har også vist en sammenheng mellom bladfuktighet og utvikling av spragleflekk. Sporuleringen i forsøk utført i Storbritannia (Havis *et. al.*, 2009) skjedde 48 timer etter en periode med forlenget bladfuktighet. Verken i Tyskland eller Storbritannia var sporuleringen relatert til regn, solskinn eller temperatur (Havis *et. al.*, 2009; Schützendübel *et. al.*, 2008).

1.1.8 Toksinet rubellin

En måte å kjenne igjen *Ramularia collo-cygni* på agar er at soppen danner røde og gule plantetoksiner som kalles rubelliner. Miethbauer *et. al.* (2003) fant ut at toksinet rubellin D (Figur 1.9), som er et derivat av anthrachinon, danner de samme symptomene som *Ramularia collo-cygni* hvis det påføres blader av bygg. Heiser *et. al.*, (2004) påviste at rubellin A, B, og C dannes av soppen. Det ble senere påvist 14 dehydro -rubellin D, rubellin E, rubellin F og caeruleoramin (Miethbauer *et. al.*, 2006, 2008). Andre metabolitter som helminthosporin, crysophanol, uredinorubellin I og II er senere også påvist i *Ramularia collo-cygni* i små mengder (Miethbauer *et. al.*, 2008). Rubellin B, C og D har vist antibiotisk effekt mot bakterier, og effektiviteten økte ved tilførsel av lys (Miethbauer *et. al.*, 2009).



Figur 1.9 Rubellin A, B, C og D (Miethbauer *et. al.*, 2008)

For at rubellinene skal danne symptomer lik spraglefleck, er de avhengige av lys. Ved tilstrekkelig lystilgang dannes reaktive oksygenforbindelser som forårsaker lipidperoksidasjon og pigmentkooksidering. Disse reaksjonene fører til nedbryting av membraner og bleking av klorofyll som gir symptomer lik spraglefleck. Jernioner forsterker denne reaksjonen, men er hemmende for andre toksiner som cercosporin (Heiser *et. al.*, 2004).

Salamati & Reitan (2006) viste at *Ramularia collo-cygni* produserer rubelliner når soppen er stresset. De mente at introduksjonen av resistente byggsorter som raskere blir stresset av biotiske og abiotiske faktorer, har ført til en seleksjon av genotyper av *Ramularia collo-cygni* som er mer stresset og raskere produserer rubelliner. For å unnsnippe planta, produserer soppen rubelliner som dreper cellene rundt spalteåpningene, og lar de stå konstant åpne (Salamati & Reitan, 2006).

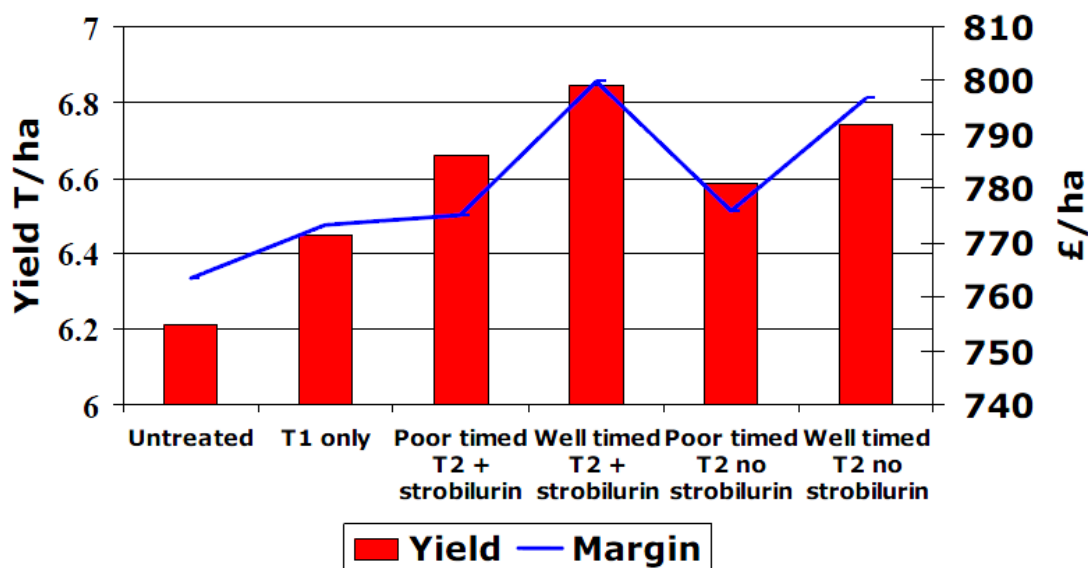
Hess *et. al.* (2009) påviste at soppmidler hadde innvirkning på rubellinene, og at et middel i triazol-gruppen viste mest hemmende effekt på den fotodynamiske aktiviteten til rubellinet.

Strobilurinnet som var med i forsøket viste liten effekt på hemmingen av rubellinenes fotodynamiske aktivitet. I Danmark gav to soppmidler som begge inneholdt epoxiconazole best kontroll av spraglefleck og færre målbare rubelliner enn de andre soppmidlene som var med i forsøket (Christiansen *et. al.*, 2009).

1.2 Bekjempelse av spraglefleck

1.2.1 Soppbehandling i vekstsesongen

Det er gjort en del forsøk med ulike tidspunkt for soppstrøying mot spraglefleck i Storbritannia. Tidlig soppstrøying, ved vekststadium Z 25-30 (Zadoks *et. al.*, 1974), viste liten effekt mot spraglefleck i forsøk som ble presentert i 2005 (Oxley & Hunter, 2005). I en forsøksserie som gikk fra 2005-2007 gav sen soppstrøying det beste utslaget, men tidlig soppstrøying hadde også en viss effekt (Figur 1.10). Det blir derfor vurdert i høyrisikotilfeller i Storbritannia (Oxley *et. al.*, 2008).



Figur 1.10 Byggavling i tonn/hektar relatert til tidspunkt for soppstrøying. "T1" er tidlig behandling ved vekststadium Z 25-30 (Zadoks *et. al.*, 1974), "T2 poor timed" er sen behandling som ikke er optimal ved Z 39 og "T2 well timed" er sen behandling ved optimalt tidspunkt som er Z 49. Økonomisk margin i pund per hektar vises til høyre i figuren (Oxley *et. al.*, 2008).

1.2.2 Strobilurinresistens

I Storbritannia ble det så tidlig som i 2002 antatt at en hadde fått strobilurinresistens i populasjoner av *Ramularia collo-cygni*. Det var like etter at en undersøkelse viste at

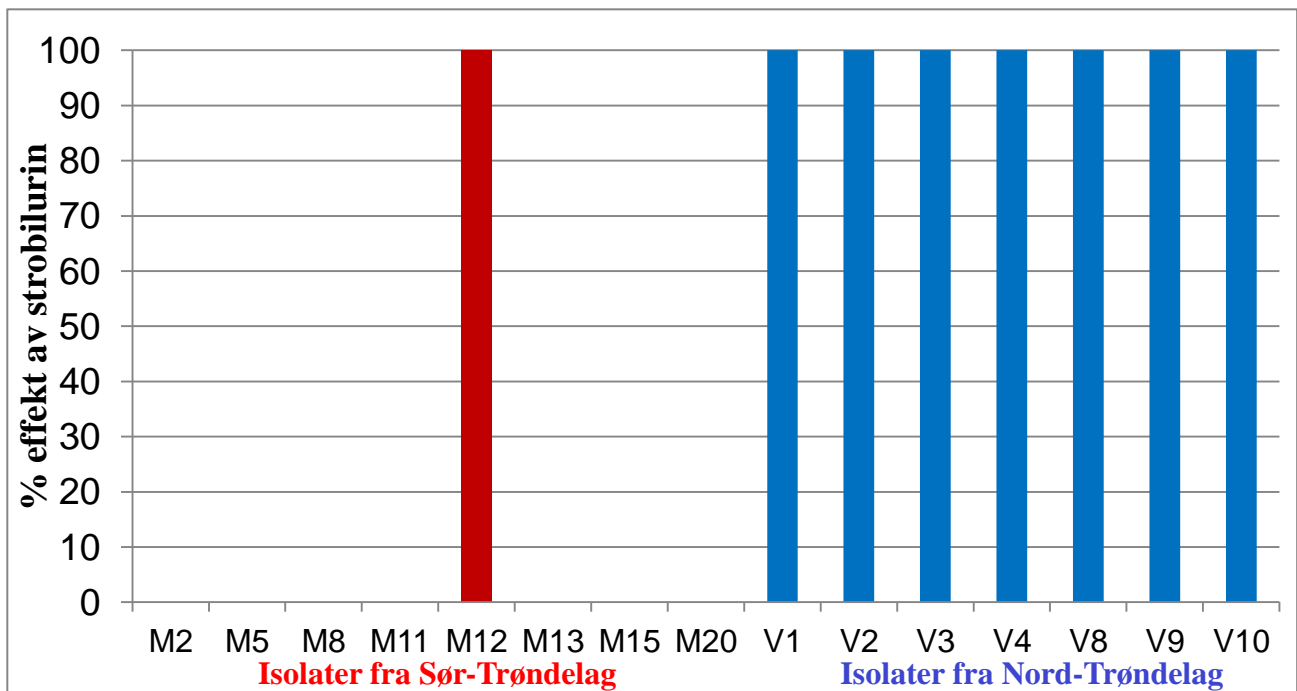
strobilurinet azoxystrobin (Amistar®, Syngenta) var det soppmidlet som bekjempet spragleflekk mest effektivt (Oxley *et. al.*, 2002). Strobilurinresistens skyldes en mutasjon i genet cytokrom b. En enkelt mutasjon i genets kodon 143, som bytter ut glycine (ggt) med alanine (gct), fører til fullstendig resistens (Fountaine *et. al.*, 2009). Det var først i 2007 at resistensen ble bekreftet ved hjelp av PCR-diagnostikk, og det viste seg at samtlige isolater både fra Skottland og Danmark var fullstendig resistente mot strobiluriner. Bladmateriale fra Storbritannia og Nord-Frankrike viste også så godt som 100 % strobilurinresistens. PCR-analyser fra korn hentet fra Rothamsted Hoosfield forsøksserie på bygg, som har pågått siden 1852, viser at strobilurinresistens var å finne allerede i 2002, og siden da har populasjonen vært fullstendig resistent (Fountaine *et. al.*, 2009).

1.2.3 Kartlegging av strobilurinresistens i Norge

I forbindelse med NORBARAGs (Nordic Baltic Resistance Action Group) kartlegging av fungicidresistens i Norge, ble raser av *Ramularia collo-cygni* i Trøndelag samlet inn av Saideh Salamati (Figur 1.11). Det ble tatt ut bladprøver på en lokasjon i Nord-Trøndelag, og en i Sør-Trøndelag. Dette ble finansiert av Bayer. Lokasjonen i Sør-Trøndelag ble valgt ut på grunn av sterke angrep av spragleflekk selv om gårdbrukeren hadde behandlet mot soppjukdommer i løpet av vekstsesongen. Det ble plukket blader av bygg med klare symptomer av spragleflekk, som ble tatt med til Bioforsk Kvithamar for isolering av soppen. Isolatene ble sendt til Skottland for testing av resistens mot strobiluriner. I Nord-Trøndelag ble ingen av isolatene funnet å være resistente, mens i Sør-Trøndelag var 7 av 8 isolater fullstendig resistente mot strobiluriner (Figur 1.12) (Ficke *et. al.*, 2011).



Figur 1.11 Byggblad med symptomer av spragleflekk ble samlet inn for isolering. (Foto: Jan-Eivind Kvam-Andersen).



Figur 1.12 Effekt av strobilurin på isolater av *Ramularia collo-cygni* fra Sør-Trøndelag og Nord-Trøndelag (Ficke *et. al.*, 2011).

1.2.4 Diagnostisering med real-time PCR

Behovet for en effektiv metode for å påvise *Ramularia collo-cygni* har vært tilstede helt siden soppen ble sett på som en viktig skadegjører i bygg. En har tidligere brukt diagnostikk hvor en dyrker sopp på agar og ser på fargeforandringen som oppstår for å påvise sopp (Tschöpe & Sachs, 2001). Senere ble det utviklet en ELISA test for å kunne diagnostisere sopp før den viste symptomer på blad (Balz & Tiedemann, 2004; Sachs, 2004). Den første som tok i bruk PCR teknikk for å studere sopp var Havis som brukte nested PCR til å påvise sopp (Havis *et. al.*, 2006a). Denne teknikken førte til at man fikk ny kunnskap om livssyklusen til *Ramularia collo-cygni* og gjorde det mulig å påvise at sopp smittet med frø (Havis & Oxley., 2006b). Nylig ble det utviklet en metode basert på real-time PCR (Taylor *et. al.*, 2010), som gjorde at en kunne kvantifisere *Ramularia collo-cygni* både i sporefeller, som et verktøy i tidlig diagnostisering og for beregning av mengde inokulum i frøet. Det er real-time PCR - metoden som er brukt i denne masteroppgaven og den tar utgangspunkt i probe og primere, utviklet av Pinnschmidt & Justesen (2009).

1.3 Formålet med oppgaven

Da arbeidet med oppgaven startet i 2009, var det publisert forsøk som undersøkte sammenhengen mellom frøsmitte, beisemidler og angrep av spragleflekk (Nyman *et. al.*, 2009, Frei, 2009). Disse var utført i klimakammer, og ikke direkte overførbare til praktisk dyrking i felt. Siden spragleflekk er en viktig sykdom i Midt-Norge, og den er vist å smitte med såkorn, ville det være av interesse å finne ut hvilke forebyggende tiltak som kan gjøres for å forhindre sterke angrep av sykdommen. Målsettingen for oppgaven er derfor å:

- Finne ut hvilken betydning beising, frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, og sortsvalg har å si for sykdomsutvikling i vekstsesongen, avling, kvalitet og grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet.

For å kunne si noe om mengde av *Ramularia collo-cygni* i såkornet, ble det nødvendig å ta i bruk en metode kalt real-time PCR. Denne metoden var allerede tatt i bruk på *Ramularia collo-cygni* i Storbritannia (Taylor *et. al.*, 2010), og i Danmark (Pinnschmidt & Justesen, 2009) men i Norge var ikke denne metoden etablert for *Ramularia collo-cygni*. Et delmål i oppgaven er derfor å:

- Utvikle en metode i Norge for å teste grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, ved hjelp av real-time PCR.

I oppgavens startfase ble det klart at NORBARAG (Nordic Baltic Resistance Action Group) ønsket å kartlegge populasjoner av *Ramularia collo-cygni* i Norge, for å undersøke om disse har utviklet resistens mot strobiluriner. Det ble påvist strobilurinresistens i Sør-Trøndelag (Ficke *et. al.*, 2011) og et delmål i oppgaven er derfor å:

- Kartlegge nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i området med påvist strobilurinresistens.

2. Egne forsøk

2.1 Feltforsøket - Materiale og metode

Formålet med dette forsøket er å finne ut hvilken betydning beising, frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, og sortsvalg har å si for sjukdomsutvikling i vekstsesongen, avling, kvalitet og grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet.

2.1.1 Byggsortene

Tiril

Foredler/Sortseier: Graminor AS, Norge.

Tiril er hovedsorten blant tidlige 6-radssorter og er mye brukt i Trøndelag. Den ble godkjent i 2004 og er arvtakeren til sorten Arve som var en mye brukt tidligsort. Den er mindre utsatt for stråknakk enn Arve og har bedre stråstyrke (Felleskjøpet, 2011). De siste årene har en imidlertid sett at grå øyeflekk har brutt resistensen som Tiril var kjent for. Dette skyldes antakelig at det finnes et ”episentert” for grå øyeflekk i Trøndelag, som har bidratt til sterk variasjon i det genetiske materialet og dermed stor fare for resistensbryting (Reitan, 2011). Sorten er middels resistent mot spragleflekk, men svak mot byggbrunflekk (Tabell 2.2) (Åssveen *et. al.*, 2011).

Heder

Foredler/Sortseier: Graminor AS, Norge.

Heder ble godkjent i 2007 og er en 4 dager senere 6-radssort enn Tiril. Den har økende interesse i Norge og hadde en markedsandel på i underkant av 10 % i 2010 (Åssveen *et. al.*, 2011). Den er en stråstiv sort, har høy hektolitervekt, men middels proteininnhold. Sorten er sterk mot sjukdommer som byggbrunflekk og mjøldogg, men svak mot spragleflekk (Felleskjøpet, 2011).

Tyra

Foredler: Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for plante og miljøvitenskap,
Sortseier: Graminor AS, Norge.

Tyra ble godkjent i 1988, og har siden da vært en standhaftig 2-radssort som har hatt om lag 10-15 % av det norske byggmarkedet. Den har et stabilt høyt avlingsnivå, og har god stråstyrke og stråkvalitet. Den har høy hektolitervekt og høyt proteininnhold, men er noe småkornet. Den har ingen spesiell sjukdomsresistens men har en god generell resistens. Den får også fysiologiske flekker som kalles tyraflekk og som ikke bør forveksles med andre sjukdommer (Graminor, 2011).

Helium

Foredler/Sortseier: Nordic Seed (Pajbjergfonden), Danmark.

Helium er en dansk 2-radssort som ble godkjent i Norge i 2004. Den har god kornkvalitet, høy hektolitervekt, og høyt proteininnhold. Stråstyrken er også god. Den er resistent mot mjøldogg, og har en god generell sjukdomsresistens. Den er imidlertid en senere sort enn Tyra (Tabell 2.1) (Åssveen *et. al.*, 2011).

Tabell 2.1 Dyrkingsegenskaper hos byggsortene i forsøket (Åssveen *et. al.*, 2011).

Sort	Vekst- tid	Strå- styrke	Strå- kvalitet	Strå- lengde	Hl-vekt	1000- kornvekt	Protein- innhold	Tresk- barhet	Spire- tregghet
Tiril	- 8	7	3	4	3	5	5	8	4
Heder	-4	8	5	5	5	7	4	7	6
Tyra	0	9	6	7	8	7	7	9	7
Helium	+ 4	9	9	9	7	10	5	6	3

Veksttid: Antall dager seinere (+) eller tidligere (-) enn Tyra

Resten: 1 = Dårlig stråstyrke, dårlig stråkvalitet, langt strå, lav hektolitervekt, lav 1000-kornvekt, lavt proteininnhold, dårlig treskbarhet, lav spiretregghet.
10 = God stråstyrke, god stråkvalitet, kort strå, høy hektolitervekt, høy 1000-kornvekt, høyt proteininnhold, god treskbarhet, høy spiretregghet.

Tabell 2.2 Sjukdomsresistens hos byggsortene i forsøket (Åssveen *et. al.*, 2011).

Sort	Spragle- Flekk	Bygg- brunflekk	Grå Øyeflekk	Mjøl- dogg
Tiril	4	3	5	2
Heder	2	7	4	9
Tyra	4	5	5	5
Helium	5	6	6	10

1= Dårlig sjukdomsresistens. 10 = God sjukdomsresistens.

2.1.2 Såkornet og beisemidlene

Usmittet såkorn

Det antatt usmittede såkornet ble hentet fra oppformeringsfelt på Apelsvoll. Siden vi ikke hadde etablert noen test for å bestemme grad av smitte, ble det valgt å bruke såkorn fra et område med lite naturlig smitte. I etterkant av forsøket ble det tatt ut kvalitetsanalyser (Tabell 2.3) og real-time PCR-analyse (Tabell 2.4) av såkornet for å finne grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*.

Tabell 2.3 Kvalitetsanalyser av såkornet fra Apelsvoll og Kvithamar som er brukt i forsøket.

	Hektolitervekt i kg		1000 kornvekt i g		Stivelse, % av tørrstoff		Protein, % av tørrstoff	
	Apels- voll	Kvit- hamar	Apels- voll	Kvit- hamar	Apels- voll	Kvit- hamar	Apels- voll	Kvit- hamar
Tiril	65,8	65,1	38,0	36,2	57,44	61,16	10,96	9,20
Heder	65,1	66,4	41,5	39,9	58,13	62,24	10,81	8,83
Tyra	69,2	64,2	43,6	38,9	56,57	60,65	11,85	9,78
Helium	65,8	66,9	47,6	46,9	57,21	61,87	11,82	9,06

Smittet såkorn

Det antatt smittede såkornet ble hentet fra Kvithamar forskningscenter i Stjørdal. Her ble såkornet valgt siden Kvithamar ligger i et område med mye naturlig smitte av *Ramularia collo-cygni*. Det ble tatt ut kvalitetsanalyser (Tabell 2.3) og real-time PCR-analyse (Tabell 2.4) i etterkant av forsøksfeltarbeidet.

Tabell 2.4 DNA- analyser av såkornet fra Apelsvoll og Kvithamar brukt i forsøket.

	Pikogram <i>Ramularia</i> DNA/100 nanogram bygg DNA		Nivå av frøsmitte > 5 pg = høyt, < 5 pg = lavt
	Apelsvoll	Kvithamar	
Tiril	0	3,52	Lavt
Heder	0	3,80	Lavt
Tyra	0	5,94	Høyt
Helium	0	5,70	Høyt

Celest Formula M®

Celest Formula M® (heretter kalt Celest) inneholder det virksomme stoffet fludioksonil (25 g/l) og er et svakt systemisk kontaktvirkende middel. Det har virkning mot spiringsfusarioser, snømugg, stinksot og hveteaksprikk. Det har også til en viss grad virkning mot stripesjuka i bygg, byggbrunfleck og havrebrunfleck (Syngenta, 2009). Tilvirker er Syngenta Crop Protection AG CH-4002 Basel, Sveits.

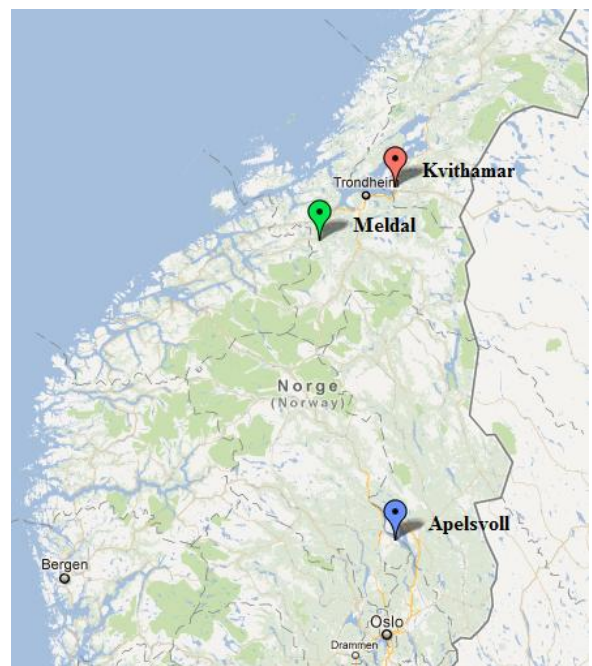
Kinto®

Kinto® (heretter kalt Kinto) inneholder de virksomme stoffene tritikonazol (20g/l) som er systemisk og prokloraz (60 g/l) som er lokalsystemisk. Kinto skal ha svært god effekt mot nakensot og bladfleksjukdommer i bygg (BASF, 2008). Tilvirker er BASF AGRO BV, Arnhem NL, Wädenswill Branch.

2.1.3 Gjennomføring av feltforsøket

Feltforsøket ble anlagt i Meldal (Figur 2.1) i 2010. 4 sorter, 3 behandlinger, 2 smittenivåer i 3 gjentak utgjorde til sammen 72 ruter à 8 x 1,5 m, eksklusiv kantruter. Såmengden som ble brukt tilsvarte 25 kg/daa og utgjorde 300 g såkorn per rute. Såkornet ble rensert med en "Grain Cleaner 5150" og veid opp på Bioforsk Midt-Norge (Kvithamar forskningscenter). Her ble såkornet beiset med Celest, Kinto eller bevart ubehandlet.

Feltforsøket ble sådd ut 11. mai, i en nysådd byggåker med sorten Tiril. Hele feltet ble behandlet med et stråforkortingsmiddel (Cerone®, Bayer) og et insektmiddel (Fastac 50®, BASF) siden det var en del angrep av havrebladminerflue i 2010. Feltet ble gjødslet med 40 kg fullgjødsel® 25-2-6 (Yara). Siden det var brukt en god del husdyrgjødsel i tidligere år, var det ønskelig å unngå legde.



Figur 2.1 Geografisk beliggenhet for stedene beskrevet i oppgaven. Meldal (Feltforsøket), Kvithamar (Smittet såkorn) og Apelsvoll (Usmittet såkorn) er merket av på kartet. (Kartdata, 2011).

Etter høsting ble ruteavling veid opp, og prøver av kornet ble tatt med til Kvithamar, hvor hektolitervekt, 1000-kornvekt og vannprosent ble målt. Deretter ble kornet sendt til Bioforsk Øst Apelsvoll for analyse av protein og stivelse.

2.1.4 Registrering av sjukdomsangrep

Feltforsøket ble fulgt opp med sjukdomsregistreringer jevnlig, fra de første symptomene vistes og fram til det ikke lenger var mulig å diagnostisere på grunn av modning. Det ble anslått et prosentvis angrep basert på et gjennomsnitt av registreringene av sjukdom på de tre øverste bladene. Sjukdommene som ble notert var spraglefleck (*Ramularia collo-cygni*), byggbrunfleck (*Pyrenophora teres*), grå øyefleck (*Rhynchosporium secalis*), og naken sot (*Ustilago nuda*). Det ble i tillegg registrert Tyra-fleck som er en fysiologisk bladfleck. Registreringene den 26. juli ble utført med faglig bistand fra Ragnhild Borchsenius, og registreringene den 4. august ble utført med faglig bistand fra Saideh Salamati. I tillegg til sjukdomsregistreringer, ble det registrert plantebestand om våren, tidlig og sein legde, aksknekk, stråknakk og strå lengde.

Utviklingen av sjukdom i vekstsesongen er vist som en sjukdomsutviklingskurve, og arealet under sjukdomsutviklingskurven (AUDPC) ble beregnet (figur 2.2).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

Figur 2.2 Formel for utregning av AUDPC, hvor y er sjukdomsregistrering, t er tidspunktet for registreringen, j er ordensrekkefølgen på registreringene og n er antall registreringer (Madden *et. al.*, 2007).

2.1.5 Behandling av data

Alle feltregistreringer ble lagt inn i Nordic Field Trial, som opprinnelig er utviklet i Danmark, men som er tatt i bruk i Norge av Bioforsk og Norsk Landbruksrådgiving. Aina Lundon i Bioforsk var behjelpelig med å sette opp forsøksplanen i programmet, eksportere data og utføre beregninger av avling. Statistikkprogrammet Minitab 16 er brukt til de statistiske beregningene.

2.2 Isolering og kvantifisering av *Ramularia* DNA i kornprøver

Formålet med forsøket er å utvikle en metode i Norge for å teste grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, ved hjelp av real-time PCR.

2.2.1 Materiale – Isolering av DNA fra kornprøver

FastPrep® Instrument (MP Biomedicals, USA): Maskin som rister rør opp og ned i høy hastighet.

IKA A II Basic Analytical Mill: (IKA, Tyskland). En håndholdt maskin for oppmaling av blant annet korn.

FastDNA® SPIN for Soil Kit (Qbiogene, USA): Et kit som er laget for raskt å kunne ekstrahere DNA fra jordprøver. Dette har også vist seg veldig effektivt for isolering av DNA fra kornprøver (Divon *et. al.*, 2011). Kitet inneholder:

Binding Matrix: Matrix som binder DNA.

Catch Tube: Rør som fanger opp filtrert væske

DES: DNase- og pyrogenfritt vann.

Lysing Matrix E Tubes: Rør som inneholder en miks av keramikk - og kiselpartikler som er laget for å lysere celler ved risting. Rørene inneholder også en DNA stabiliserende mikstur, av vaskeløsninger og ulike salter.

MT Buffer: Buffer som bidrar til homogenisering, og til å løse opp proteiner.

PPS (Protein Precipitation Solution): Løsning som gir utfelling av proteiner.

SEWS-M: Salt- og etanol løsning.

Sodium Phosphate Buffer: Buffer som bidrar til homogenisering, og til å løse opp proteiner.

SPIN™ Filter: Rør med filter som samler opp større partikler.

2.2.2 Metode - Isolering av DNA fra kornprøver

En ”IKA A II Basic Analytical Mill” ble brukt til å male opp prøver med korn fra de høstede rutene. Uttaket av prøvene var tilfeldig, prøvestørrelsen var 50 g, og 25 g ble malt opp i to omganger for hver prøve. Oppmalingen tok ca. 25 -30 sekunder for hver omgang.

Oppmalingsutstyret ble rensset med fuktet papir mellom hver ny prøve. Etter oppmaling ble prøvene plassert på fryserom ved -20 °C.

1. Prøvene ble hentet ut fra kjølelager, og 150 mg av det oppmalte kornet ble veid opp. Prøvene ble tatt ut med engangsspatel og veid opp på et tynt papir, og ble siden helt i Lysing Matrix E rør, som hører til FastDNA® SPIN for Soil Kit.
2. Det ble tilført 978 µl Sodium Phosphate Buffer og 122 µl MT buffer til Lysing Matrix E rør med pipette.
3. Deretter ble rørene satt i FastPrep® instrumentet hvor rørene ble ristet i 30 sekunder på hastighet 5.5. Prøvene ble deretter satt på is.
4. Rørene ble sentrifugert ved 14 000 rpm i 10 minutter i sentrifuge.
5. Overflatevæsken ble overført til rene 1,5 ml mikrosentrifuge rør.
6. Det ble tilført 250 µl PPS løsning til blandingen, og rørene ble invertert 10 ganger.
7. Deretter ble rørene sentrifugert i 5 minutter i sentrifuge.
8. Overflatevæsken ble overført til rene 2 ml rør.
9. 1 ml av Binding Matrix løsningen ble så tilført rørene etter å ha blitt resuspendert ved hjelp av en MS2 Minishaker IKA®.
10. Rørene ble rotert i 2 minutter for hånd, for å la DNA binde seg til løsningen.
11. Rørene ble plassert i et stativ i 3 minutter for at matrixen skulle synke til bunn av rørene.
12. 500 µl av overflatevæsken ble pipettert ut, og kastet, uten å røre opp matrixen. Resten av Binding Matrix ble resuspendert med den resterende overflatevæsken. Omtrent 600 µl av blandingen ble overført til SPIN™ Filter og sentrifugert på 14 000 rpm i ett minutt. Catch Tube ble tømt, og den resterende overflatevæsken ble overført til SPIN™ filter og sentrifugert igjen på 14 000 rpm i ett minutt.
13. 500 µl av SEWS-M ble tilført SPIN™ Filter og sentrifugert ved 14 000 rpm i 1 minutt. Bunnfallet ble kastet og SPIN™ Filter ble satt tilbake i Catch Tube. Rørene ble sentrifugert ved 14 000 rpm i 2 minutter for å tørke matrixen for rester av SEWS-M vaskeløsningen.
14. SPIN™ Filter ble satt i et nytt Catch Tube og lufttørket i 5 minutter i romtemperatur.
15. Til slutt ble 100 µl DES tilført filteret. Røret ble ristet forsiktig med pekefinger, slik at blandingen ble løst opp. Rørene ble sentrifugert ved 14 000 rpm i 1 minutt slik at eluert DNA ble overført til Catch Tubes.

2.2.3 Materiale – Isolering av DNA fra soppisolat på agar

Isolatene

Det ble brukt tre ulike isolat av *Ramularia collo-cygni* i testingen, som ble skaffet til veie av Andrea Ficke i Bioforsk, etter opprinnelig å ha blitt isolert fra bygg av Saideh Salamati.

Isolering av *Ramularia* fra byggblad

Blader av bygg med spragleflekk klippes i biter på ca. 8-10 cm. *Ramularia collo-cygni* tåler ikke å bli overflatesterilisert med sprit, og bladbitene legges derfor i glass med netting over og plasseres under rennende vann for å fjerne så mye som mulig av andre soppsporer (Figur 2.3).

Etter 10-15 minutter plasseres bladbitene i et plastbeger med lokk. Et filterpapir fuktet og legges i bunnen av begeret sammen med netting. Overskuddsvann helles av, slik at ikke bladene råtner.

Bladene plasseres i inkubator med 16 timer dag i 20 °C og 8 timer natt ved 12 °C. Etter 24 timer sporulerer *Ramularia collo-cygni* på bladene, og sporene overføres i en sterilbenk til grønnsaksjuice-agar (Vegetable juice agar) med et sterilisert platina nål (Salamati, 2010).



Figur 2.3 Oppklippede byggblad med smitte av *Ramularia*, renses under rennende vann. (Foto: Jan-Eivind Kvam-Andersen)

Isolat 1: ”Rcc 4” hadde mørke pyknidieliknende flekker.

Isolat 2. ”Rcc 5” hadde også mørke pyknidieliknende flekker.

Isolat 3. ”Rcc 11” var uten de pyknidieliknende flekkene og hadde en rosa farge.

De pyknidieliknende flekkene kan også skyldes svartesopp, da *Ramularia collo-cygni* normalt ikke produserer pyknidier, men det har hatt antakelig hatt liten betydning for ekstraksjonen av DNA, siden proben brukt i forsøket er spesifikk for *Ramularia collo-cygni*.

Et *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen, Tyskland) ble brukt til isolering av DNA fra soppisolatene på agar. Kitet inneholder:

AP1 buffer: Bidrar til å lysere cellene i prøven.

AP2 buffer: Buffer som gir saltutfelling av polysakkarider og proteiner.

AP3/E buffer: Bindingsbuffer og etanol som bidrar til at DNA binder seg til DN easy membranen.

AW buffer: Vaskebuffer som fjerner polysakkarider og proteiner.

AE Buffer: Vann- og saltløsning.

”*QIAshredder Mini spin coloumn*” : Filtrerer cellerester og utfelt materiale.

”*DNeasy Mini spin coloumn*” : Filter som binder DNA.

RNase A: Bryter ned RNA i løsningen.

2.2.4 Metode - Isolering av DNA fra soppisolat på agar

1. Soppisolat av *Ramularia collo-cygni* ble skrapet forsiktig av agar med skalpell, for å unngå å få med klumper av agar i prøven. Soppen ble tilført flytende nitrogen i en morter, og knust til et fint pulver ved hjelp av pistillen. 2-3 spatelskjeer av pulveret ble overført til 2 ml rør.
2. Det ble tilført 400 µl AP1 buffer og 4 µl RNase A. Løsningen ble inkubert i vannbad på 65 °C, i 10 minutter. Rørene ble invertert for hånd, 2-3 ganger mens løsningen ble inkubert.
3. Etter inkuberingen, ble det tilført 130 µl AP2 buffer, løsningen ble forsiktig blandet og deretter inkubert i 5 minutter på is. Rørene ble så sentrifugert ved 14 000 rpm i 5 minutter.
4. Lysatet ble pipettert i et nytt rør med en ”*QIAshredder Mini spin coloumn*” og sentrifugert i 2 minutter ved 14 000 rpm.
5. Væsken over bunnfallet i røret ble forsiktig overført til et nytt rør, uten å løse opp bunnfallet. Det ble deretter tilført 1,5 x volumet av væsken, med AP3/E buffer og dette ble mikset ved pipettering.

6. Det ble overført 650 µl av løsningen til en "DNeasy Mini spin column" i et 2 ml rør. Løsningen ble sentrifugert i 1 minutt ved 8 000 rpm. Gjennomstrømningsvæsken ble kastet og behandlingen ble gjentatt med resten av løsningen.
7. "Spin column" ble plassert i et nytt 2 ml oppsamlingsrør, og det ble tilført 500 µl AW buffer, og sentrifugert i 1 minutt på 8000 rpm. Gjennomstrømningsvæsken ble kastet.
8. Det ble deretter tilført 500 µl AW buffer på nytt og røret ble sentrifugert i 2 minutter ved 14 000 rpm.
9. "Spin column" ble tilslutt overført til et nytt 2 ml rør, og tilført 100 µl AE Buffer for eluering. Kolonnen ble inkubert i 5 minutter ved romtemperatur og sentrifugert ved 8 000 rpm.

2.2.5 Materiale og metode- Test av DNA kvalitet ved gel-elektroforese

"Sea Kem LE agarose: Fører til at gelen stivner når den blir avkjølt.

TBE buffer: Tris/Borate/EDTA buffer.

Ethidium bromide: Gjør DNA synlig i UV-lys.

Loading buffer: gjør løsningen tyngre som fører til at den faller ned i brønnene. Den inneholder også et fargestoff som gjør det enklere å se hvor langt DNA har vandret.

1 kb DNA markør (New England Biolabs): Indikator på hvor mye DNA som finnes i prøven.

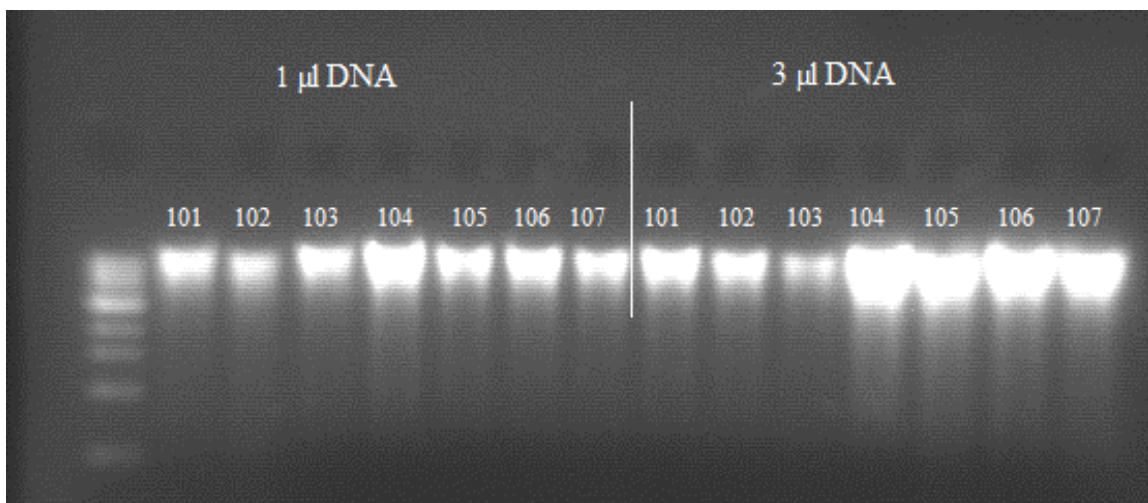
Støping av agarose-gel

1. En 0,8 % agarosegel ble forberedt ved at 0,8 g av "Sea Kem LE agarose" ble tilført 100 ml utblandet TBE buffer i en Erlenmeyerkolbe.
2. Blandingen ble varmet i mikrobølgeovn for at agarose-pulveret skulle løse seg godt opp.
3. Når løsningen var fullstendig løst opp, ble den nedkjølt under rennende vann til ca 50-60 °C.
4. 1 dråpe ethidium bromide per 50 ml TBE buffer ble tilsatt løsningen, for at DNA skulle være synlig i UV-lys. Løsningen ble ristet forsiktig i sirkler, uten å lage skum.

5. Støpeformen ble deretter satt på et horisontalt underlag med en kam med ønsket antall brønner. Støpeformen ble teipet i kantene slik at ikke noe av løsningen rant ut av formen.
6. Agarosen ble helt i støpeformen og sto til avkjøling i 20-30 minutter.
7. Da gelen var størknet ble kammen fjernet.

Elektroforese

1. Det ble forberedt to ulike konsentrasjoner av DNA. Den svakeste løsningen inneholdt 1 μ l DNA løsning, 1 μ l loading buffer og 4 μ l destillert vann. Den mer konsentrerte løsningen inneholdt 3 μ l DNA løsning, 1 μ l loading buffer og 2 μ l destillert vann. Ved de senere elektroforesetestene ble det brukt 2 μ l DNA løsning.
2. Eluert DNA ble ristet opp før tilsetning.
3. Den stivnede gelen med brønnene ble plassert i elektroforesekar. TBE Buffer ble helt i karet slik at det så vidt dekket over selve gelen.
4. 6 μ l av miksen med DNA og loading buffer ble pipetert ned i hver sin brønn. 6 μ l av 1 kb DNA markør (New England Biolabs) ble tilført de ytre brønnene for å ha noe å sammenligne DNA mengde og kvalitet med.
5. Strømmen ble satt på 400 mA og 120 Volt ved 2 x 26 brønner, 90 volt ved 15 brønner. DNAet ble trekt gjennom gelen mot den positive elektroden. Store DNA biter vandret kortere enn små biter.
6. Etter ca. 30 minutter ble gelen plassert under UV-lys, der den ble tatt bilde av (Figur 2.4)



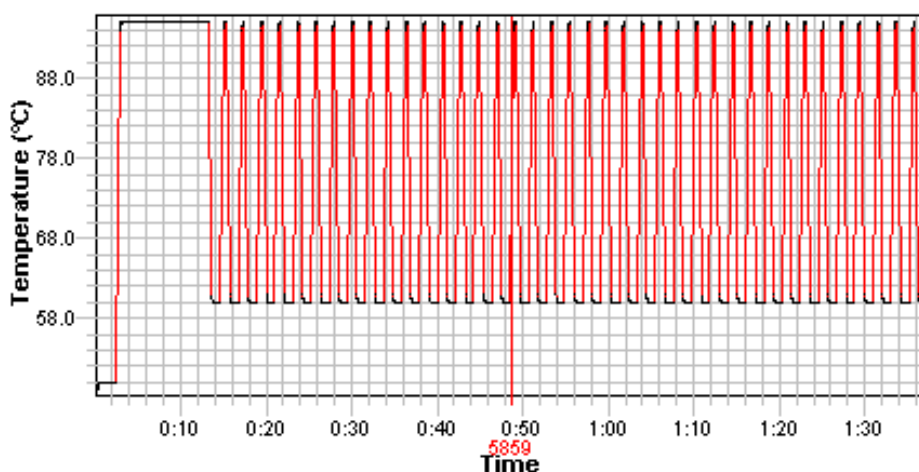
Figur 2.4 1 kb DNA markør (New England Biolabs) til venstre, og prøvene 101-107 med 1 μ l DNA løsning, og 101-107 med 3 μ l DNA løsning.

2.2.6 Materiale – Real-time PCR

Primere og Taqmanproben som ble brukt under PCR-reaksjonen er spesifikk for *Ramularia collo-cygni* og designet av Pinnschmidt & Justesen (2009). Primere og Taqmanproben retter seg mot DNA-sekvenser i ITS1 regionen. Forward primer er Rf 35 og har sekvensen 5`-TGT GAA CGC ATC TTG CTT-3`. Reverse primer er Rr 122 og har sekvensen 5` GAC GTA AGA ATG CAG TGT TTG AAT G -3`. Taqmanproben kalles Ramco og er merket i 5`enden med FAM og i 3`enden med TAMRA. Sekvensen er 5`CGC GCA AGC GGC ATT CCC 3` (Justesen, 2010).

Siden utbyttet av DNA isoleringen kan variere noe, bruker man en internkontroll (cox) for å relatere mengde *Ramularia* DNA til mengde bygg DNA. Cox står for cytochrome c oxidase og er et protein som finnes i bakterier og i mitokondriene i eukaryote celler. Bygg DNA utgjør den klart største mengden DNA i prøven, og ved å bruke en mastermix med Cox probe og primere kan det detekteres hvor mye bygg DNA som finnes i prøven (Divon *et. al.*, 2011).

Real – time PCR maskinen som ble brukt var en 9700 HT (Applied Biosystems, USA). Den ble innstilt på følgende syklus: 2 minutter på 50 °C, så 10 minutter på 95 °C, deretter gjennomgikk den 40 sykluser med 95 °C i 15 sekunder og 60 °C i ett minutt (Figur 2.5). PCR-brettene som ble brukt var av type Standard.

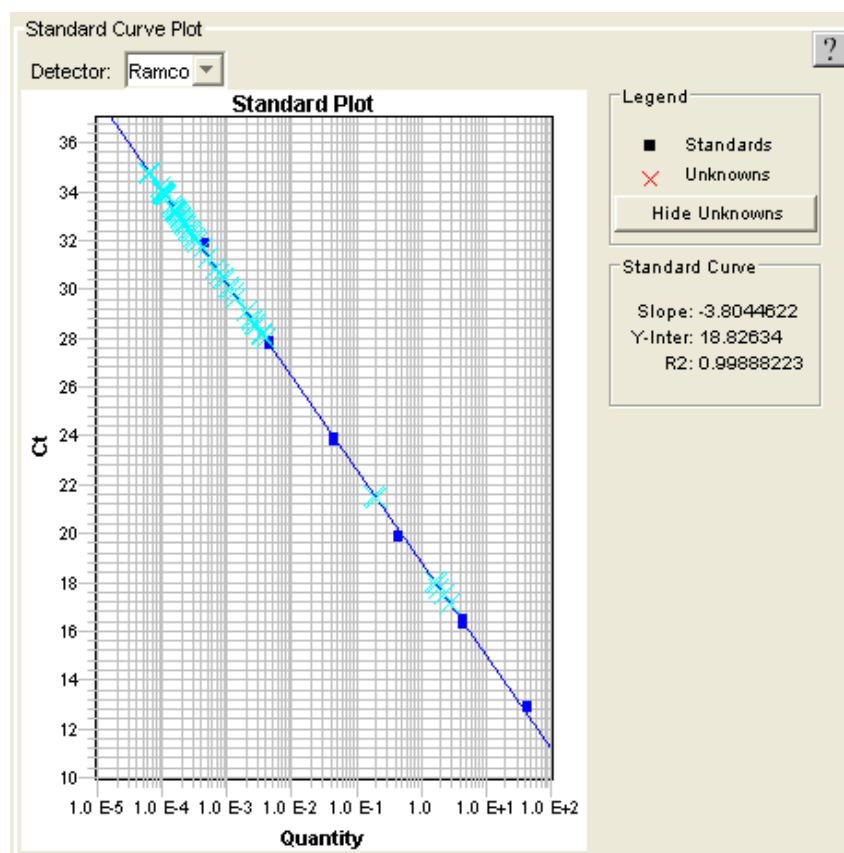


Figur 2.5 Temperaturen gikk i sykluser gjennom hele real-time PCR reaksjonen.

2.2.7 Metode – Real-time PCR

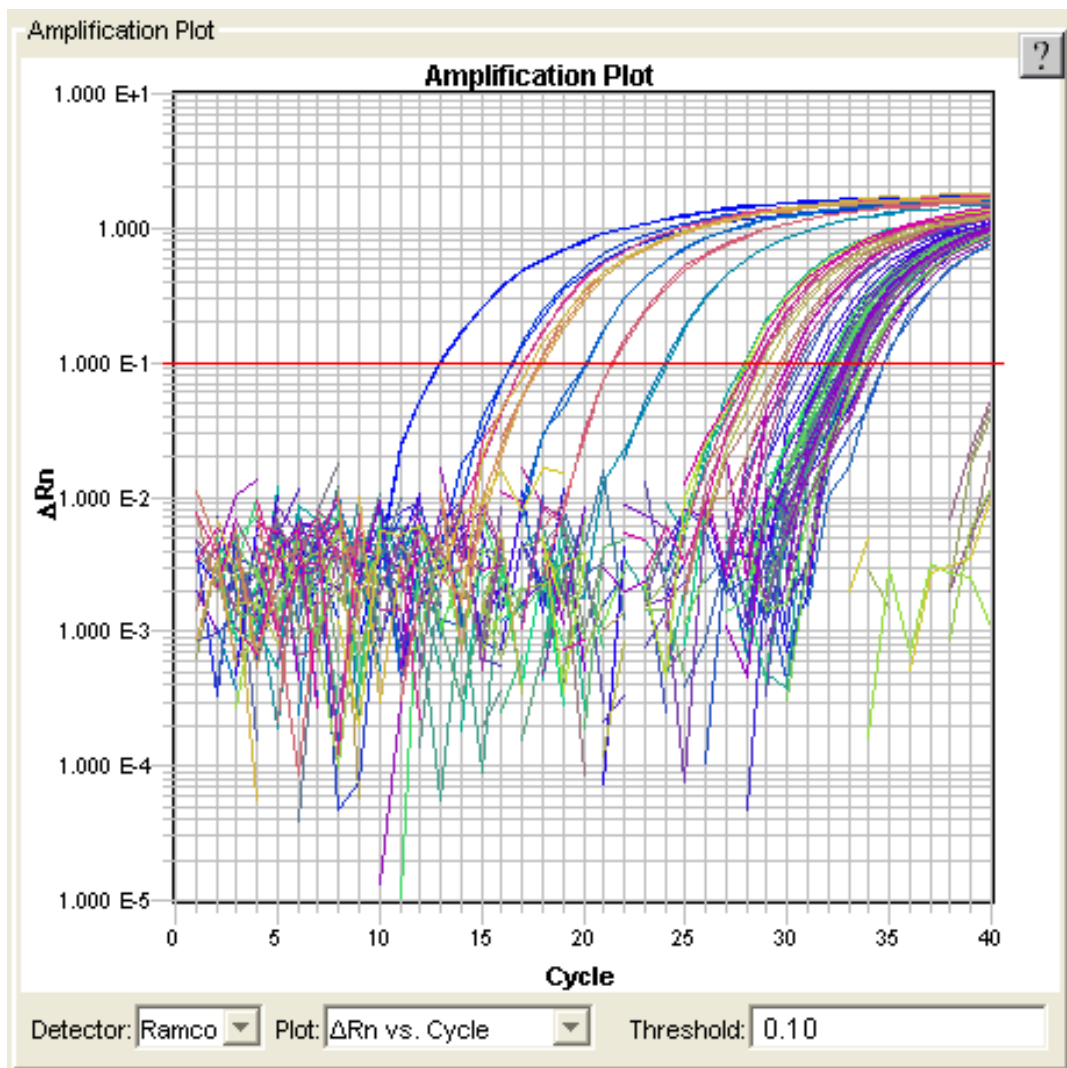
For å beregne mengde DNA i prøvene ble det laget fortynningsserier som skulle legge grunnlaget for en standardkurve. For oppsett av standardkurve for Ramco-proben ble DNA-templat fra *Ramularia*-isolatet "Rcc4 1" brukt. Prøven ble fortynnet til en tiendels konsentrasjon 5 ganger i destillert vann og overført til 2 ml rør, som på forhånd var sterilisert med UV-lys i 10 minutter. Ved å kjøre en real-time PCR med en fortynningsserie fikk en fram hvor godt Ct-verdiene samsvarte med konsentrasjonen av DNA (Figur 2.6).

Det samme ble gjort for å beregne en standardkurve for Cox-proben. Ut ifra gelen ble det plukket ut en sterk DNA-prøve (Hed K), en middels prøve (319) og en svak prøve (323). Prøven ble fortynnet til en tiendels konsentrasjon 5 ganger i destillert vann og overført til 2 ml rør, som på forhånd var sterilisert med UV-lys i 10 minutter. Real-time PCR kjøringen med disse prøvene viste god korrelasjon og fortynningsserien med prøve 319 ble brukt som utgangspunkt for en standardkurve.



Figur 2.6 Fortynningsserien av *Ramularia* DNA (■) som ble brukt til å beregne standardkurven for Ramco-proben var en god målestokk på hvor mye *Ramularia* DNA Ct-verdiene indikerte ($R^2=0,99$).

Det ble kjørt til sammen seks omganger med real-time PCR, tre omganger med Ramco-proben og tre omganger med Cox-proben. Omgang 1, 2, 3 og 6 ble pipettert for hånd, mens omgang 4 og 5 ble pipettert med robot. I alle omgangene ble det brukt 2 tekniske replikater og det ble i tillegg brukt en positiv kontroll (*Ramularia* DNA/Bygg DNA) og en negativ kontroll (destillert vann). Resultatet av real-time PCR kom i form av Ct-verdier som tilsvarer antall syklener før oppnådd terskelverdi (Figur 2.7). Ct-verdiene er omvendt proporsjonal med konsentrasjonen av templat i utgangspunktet.



Figur 2.7 Eksempel på real-time PCR amplifikasjonsplot med *Ramularia* spesifikke primere og prober. Terskelverdien er satt til 0,10.

2.2.8 Materiale og metode - Spektrofotometrisk måling av DNA

For å relatere Ct-verdiene etter PCR-analysen til faktisk mengde DNA i gram, ble det gjennomført en spektrofotometrisk måling av utvalgte prøver.

Et ”*Qubit™ dsDNA Br Assay Kit*, (Invitrogen, USA), ” i kategorien Q32850 ble valgt da det har sitt hovedområde i mellom 0,01 µg/mL til 5 µg/mL og er tilpasset dobbeltrådet DNA. Kitet inneholder: *Qubit™ working solution*, *Qubit™ dsDNA BR buffer* og *Qubit™ standard #1 og #2*.

For den spektrofotometriske målingen ble det brukt et *Qubit® 2.0 Fluorometer* (Invitrogen, USA).

1. De seks prøvene som skulle kvantifiseres ble tint, forsiktig blandet ved hjelp av en vortex maskin og deretter spunnet ned. Det ble satt fram tynnveggede 0,5 µl rør til hver av DNA-prøvene og to stk til kalibreringsprøvene.
2. *Qubit™ working solution* ble laget ved å fortynne 8 µl av *Qubit™ dsDNA BR Reagent* i 1592 µl med *Qubit™ dsDNA BR buffer* (1:200).
3. 190 µl av *Qubit™ working solution* ble overført til hver av standardprøverørene.
4. De ble så tilført 10 µl av *Qubit™ standard 1# og 2#* i de representative rørene. Disse ble så forsiktig blandet i 2-3 sekunder uten å lage bobler.
5. 199 µl av *Qubit™ working solution* ble så tilført hver av rørene til selve prøvene.
6. Det ble tilført 1 µl av DNA prøvene slik at den ferdige blandingen ble på 200 µl. Prøvene ble forsiktig blandet i 2-3 sekunder.
7. Prøvene ble satt i romtemperatur i 2 minutter.
8. *Qubit® 2.0 Fluorometer* ble brukt til å lese av prøvene. Først ble standard 1 og 2 lest av for kalibrering, så ble prøvene lest av.

2.3 Uttak av såkornprøver i område med strobilurinresistens

Formålet med forsøket er å kartlegge nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i området med påvist strobilurinresistens.

2.3.1 Materiale og metode - Uttak og analysering av såkornprøver

Siden det ble funnet strobilurinresistente isolater av *Ramularia collo-cygni* i Sør-Trøndelag, var det aktuelt å se på hvordan det kunne oppstå resistens og hvordan en kan begrense skadeomfanget. Gårdbrukeren som drev skiftet hvor det var påvist strobilurinresistens, dyrket såkorn til eget bruk. I samarbeid med gårdbrukeren ble det sett på tidligere historikk på skiftet (Tabell 2.5), og det ble tatt ut prøver fra såkorn som var dyrket i 2009 og 2010. Disse ble analysert for mengde DNA av *Ramularia collo-cygni* med metoden beskrevet i kapittel 2.2. Det ble også gjort analyser av hektolitervekt, 1000-kornvekt, protein og stivelse. Alle kornprøvene var fra byggsorten Tiril.

Tabell 2.5 Sprøytehistorikk: År og dato for sopp-sprøyting, type middel, dose/daa, og kornsort brukt for lokasjonen i Sør-Trøndelag med påvist strobilurinresistente populasjoner av *Ramularia collo-cygni*.

År	Dato	Soppmiddel	Dose /daa	Sort
2010	3/7	Stratego	70 ml	Tiril
2009	24/6	Stratego	50 ml	Tiril
2008	19/6	Stratego	50 ml	Tiril
2007	24/6	Stratego	50 ml	Olsok
	4/6	Stereo	50 ml	
2006	24/6	Stratego	50 ml	Olsok
	6/6	Stereo	50 ml	
2005	29/6	Stratego	50 ml	Olsok
	3/6	Stereo	40 ml	

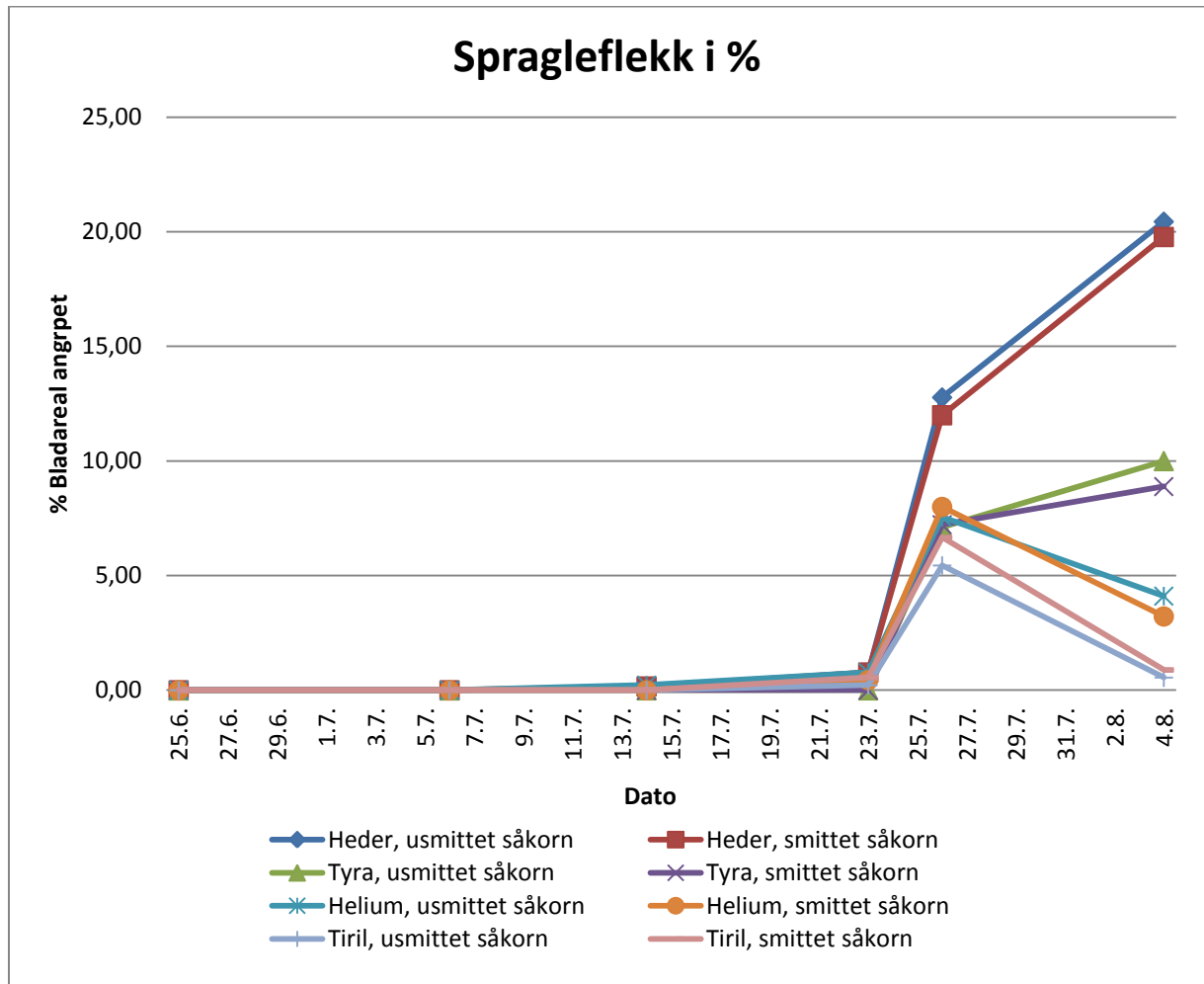
Stratego 250 EC (Bayer), virksomt stoff: propikonazol: 134.4 g/L, trifloksystrobin: 130.2 g/L.

Stereo 312,5 EC (Syngenta), virksomt stoff: propikonazol: 62.5 g/L, cyprodinil: 250.0 g/L.

3. Resultater

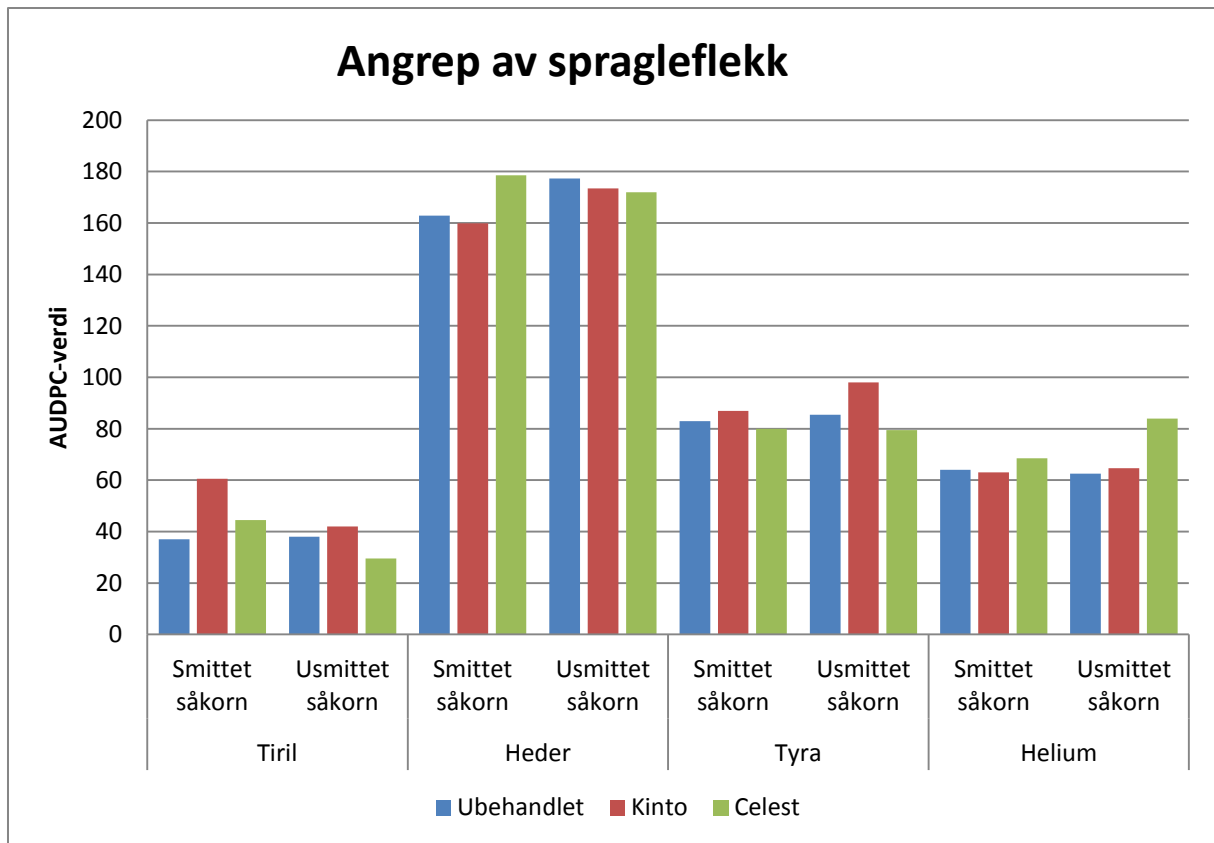
3.1 Feltforsøket

3.1.1. Sjukdomsregistreringer, AUDPC, og andre registreringer før høsting



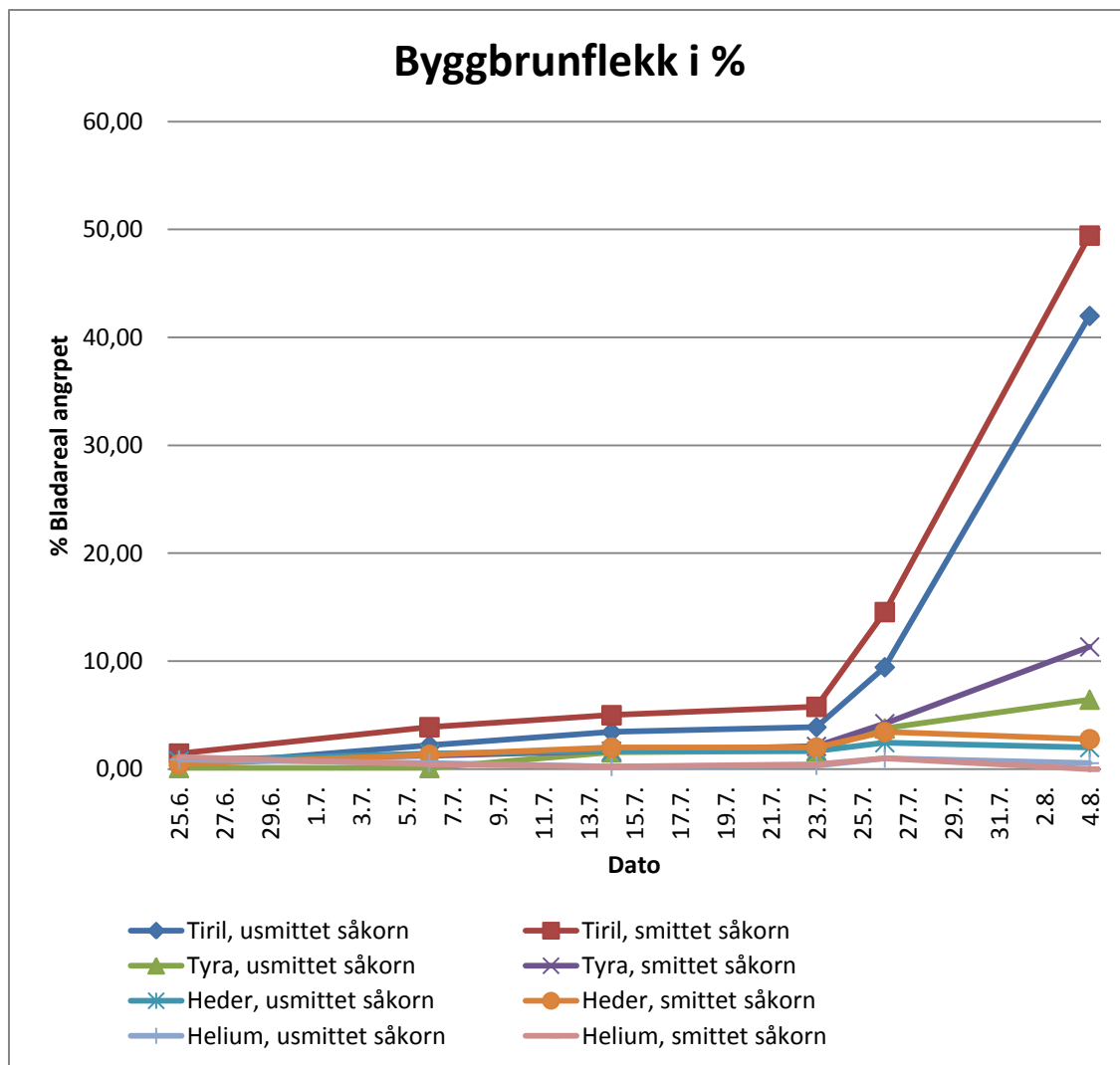
Figur 3.1 Registrering av angrepsgrad av spragleflekk (% angrepet bladareal) i snitt av de ulike behandlingene ved ulik grad av frøsmitte av *Ramularia* og sort.

Andel bladareal angrepet av spragleflekk utviklet seg drastisk mot slutten av juli (Figur 3.1), da symptomer av spragleflekk dukket opp på alle sortene. Det var Heder som ble sterkest angrepet og hadde i gjennomsnitt ca. 20 % av bladarealet dekt av spragleflekk ved siste registrering. Tyra fikk også en del angrep og hadde i gjennomsnitt ca. 10 % bladareal angrepet av spragleflekk ved siste registrering den 4. august. Helium havnet på i underkant av 4 % bladareal angrepet, mens det var registrert lite angrep av spragleflekk på Tiril ved siste registrering.



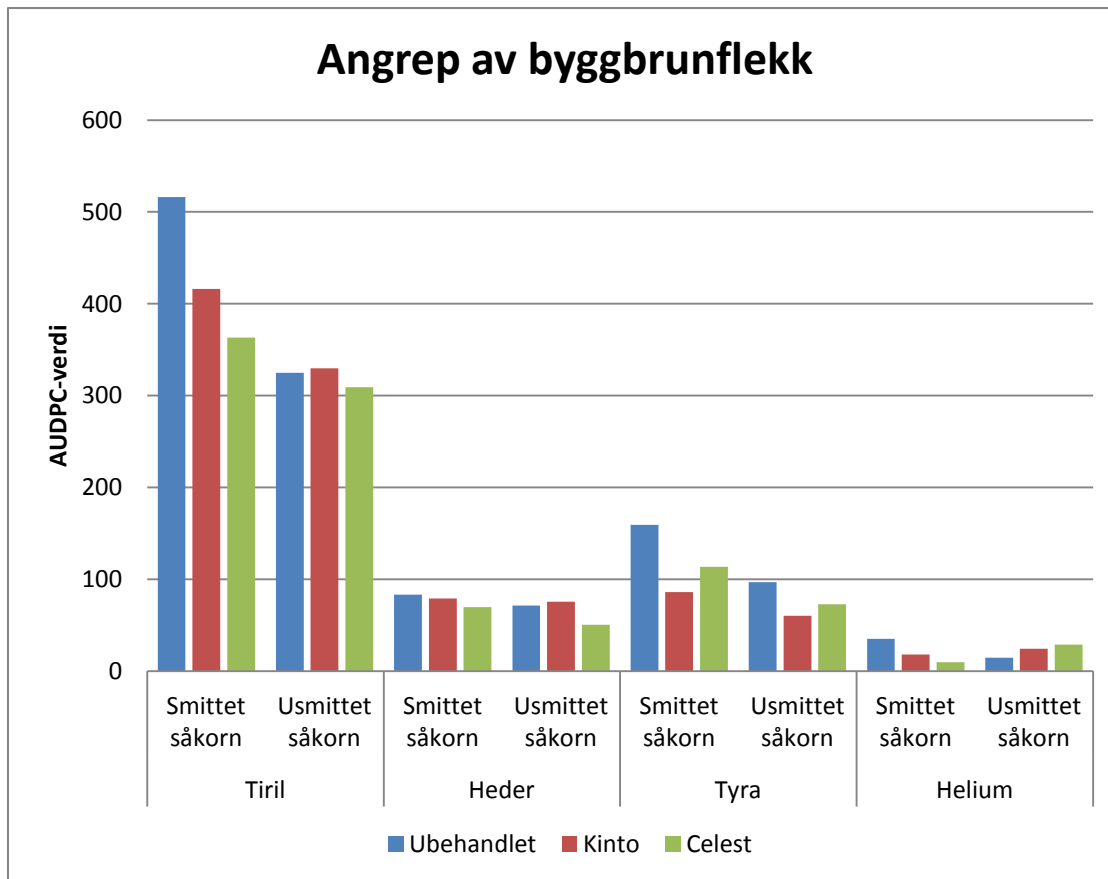
Figur 3.2 Sjukdomsutvikling av spragleflek i vekstsesongen uttrykt som AUDPC (areal under sjukdomsutviklingskurven) ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene. (Sort $p < 0,001$, Smittetilvåk $p = 0,760$, Behandling $p = 0,710$, $R^2 = 86,05$)

Hvis en ser på AUDPC (areal under sjukdomsutviklingskurven) – verdiene for spragleflek (Figur 3.2) er det kun sort som gir signifikant utslag ($p < 0,001$). Mye av variasjonen blir imidlertid forklart ($R^2 = 86,05$) med faktorene i forsøket. Heder skiller seg ut med en høy AUDPC verdi på 170 i gjennomsnitt for alle behandlingene. Tyra ligger lavere med en gjennomsnittlig AUDPC verdi på 85. Helium har en gjennomsnittlig AUDPC – verdi på 67, mens Tiril ble minst angrepet og har en gjennomsnittlig AUDPC - verdi på 42.



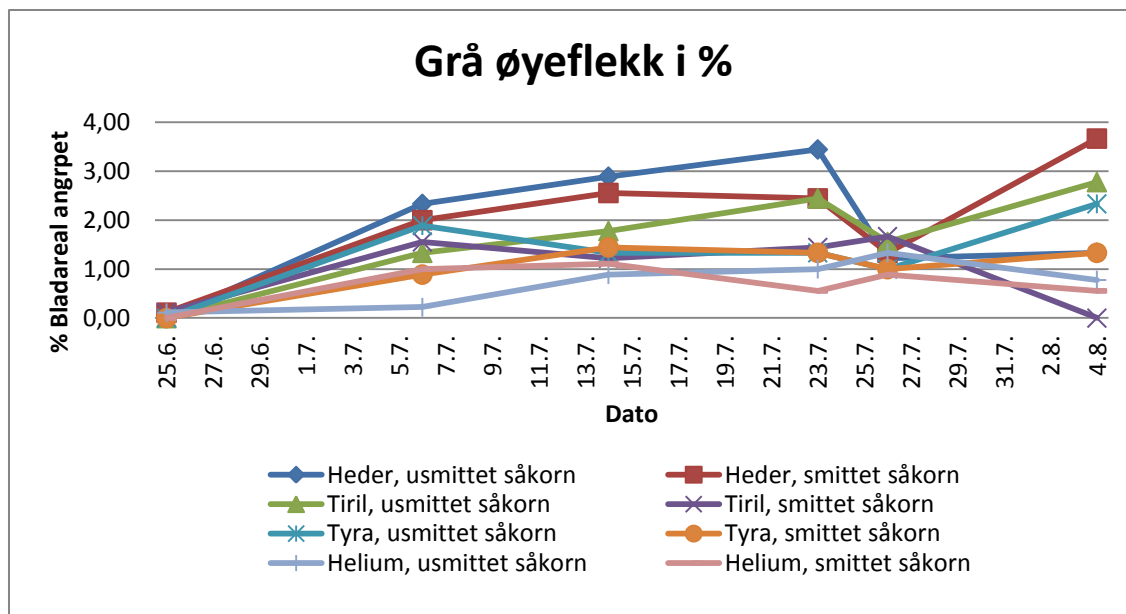
Figur 3.3 Registrering av angrepsgrad av byggbrunfleck (% angrepet bladareal) i snitt av de ulike behandlingene ved ulik grad av frøsmitte av *Ramularia* og sort.

Angrepet av byggbrunfleck (Figur 3.3) startet tidlig og allerede ved den første registreringen 25/6 ble det registrert byggbrunfleck i alle sortene. Sjukdommen utviklet seg jevnt i begynnelsen av juli, men i slutten av juli økte angrepet kraftig i byggsorten Tiril. Tiril-rutene med såkorn fra Kvithamar (smittet såkorn) hadde en gjennomsnittlig angrepsgrad av byggbrunfleck på 49 % ved siste registrering. Av de andre sortene ble Tyra en del angrepet, og rutene med såkorn fra Kvithamar skilte seg ut med i gjennomsnitt 11 % angrep av byggbrunfleck ved siste registrering.



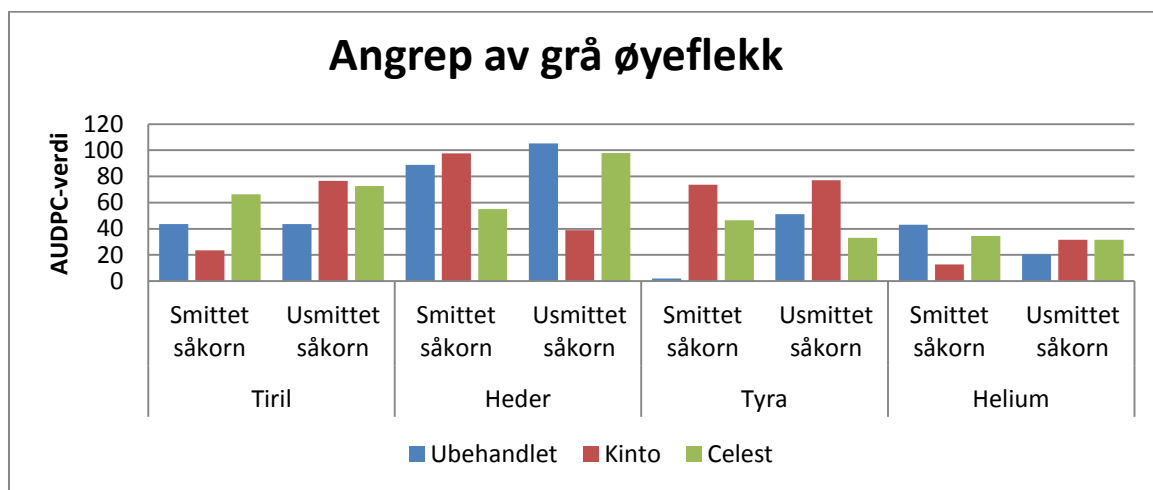
Figur 3.4 Sjukdomsutvikling av byggbrunflekk i vekstsesongen uttrykt som AUDPC (areal under sjukdomsutviklingskurven) ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittensnivå $p < 0,001$, Behandling $p = 0,013$, $R^2 = 92,57$).

Angrep av byggbrunflekk når en ser på AUDPC – verdiene (Figur 3.4), er signifikante for sort ($p < 0,001$), smittensnivå ($< 0,001$) og behandling ($p = 0,013$). Sorten Tiril har høyest AUDPC – verdi og sterkest angrep av byggbrunflekk. I Tiril-rutene med såkorn fra Kvithamar (smittet), har beising med Celest og Kinto gitt redusert angrep av byggbrunflekk i forhold til de ubehandlede rutene. Det er mindre angrep i rutene med såkorn fra Apelsvoll (usmittet), og det er heller ingen stor forskjell på de ulike behandlingene. I Tyra-rutene med såkorn fra Kvithamar (smittet) har beising redusert angrepet av byggbrunflekk i forhold til ubehandlet. Det er mindre angrep av byggbrunflekk i rutene med såkorn fra Apelsvoll (usmittet), men beising har gitt redusert angrep av byggbrunflekk også her. Heder fikk også noe angrep av byggbrunflekk, men det var liten forskjell mellom de ulike behandlingene. Helium var den sorten som fikk minst angrep av byggbrunflekk.



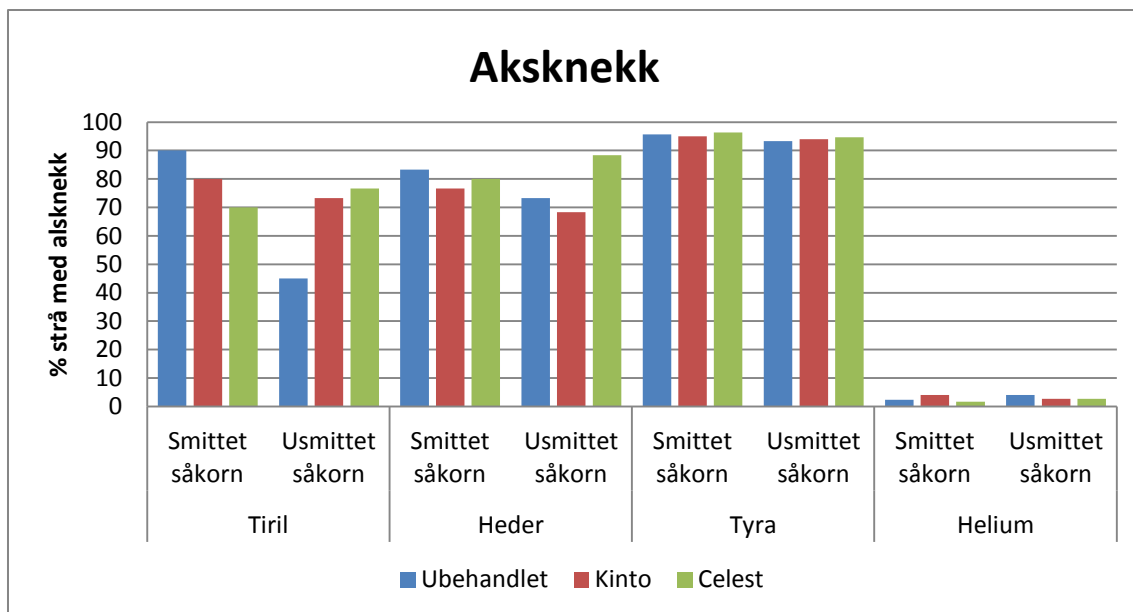
Figur 3.5 Registrering av angrepsgrad av grå øyeflekk (% angrepet bladareal) i snitt av de ulike behandlingene ved ulik grad av frøsmitte av *Ramularia* og sort.

Utviklingen av grå øyeflekk utviklet seg i starten av juli (Figur 3.5), men kom ikke over 5 % i noen av sortene. Det var Heder som fikk sterkest angrep av grå øyeflekk, mens Helium ble relativt lite angrepet.



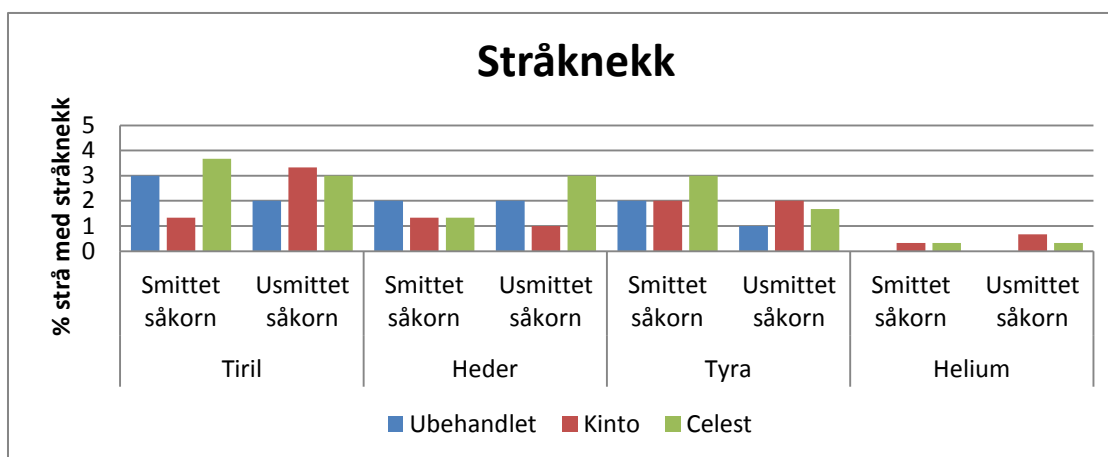
Figur 3.6 Sjukdomsutvikling av grå øyeflekk i vekstsesongen uttrykt som AUDPC (Areal under sjukdomsutviklingskurven) ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p = 0,010$, Smittenivå $p = 0,469$, Behandling $p = 0,917$, $R^2 = 16,67$).

Ser en på AUDPC -verdiene for grå øyeflekk (Figur 3.6) er det kun sort som er signifikant ($p = 0,010$). Det er også mye uforklart variasjon i angrepet av grå øyeflekk ($R^2 = 16,67$). Det kan se ut som Helium har lite angrep av grå øyeflekk, mens Heder er noe kraftigere angrepet.



Figur 3.7 Andel strå med aksknekk i %, registrert den 6. september før høsting ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittenivå $p = 0,075$, Behandling $p = 0,666$, $R^2 = 91,31$).

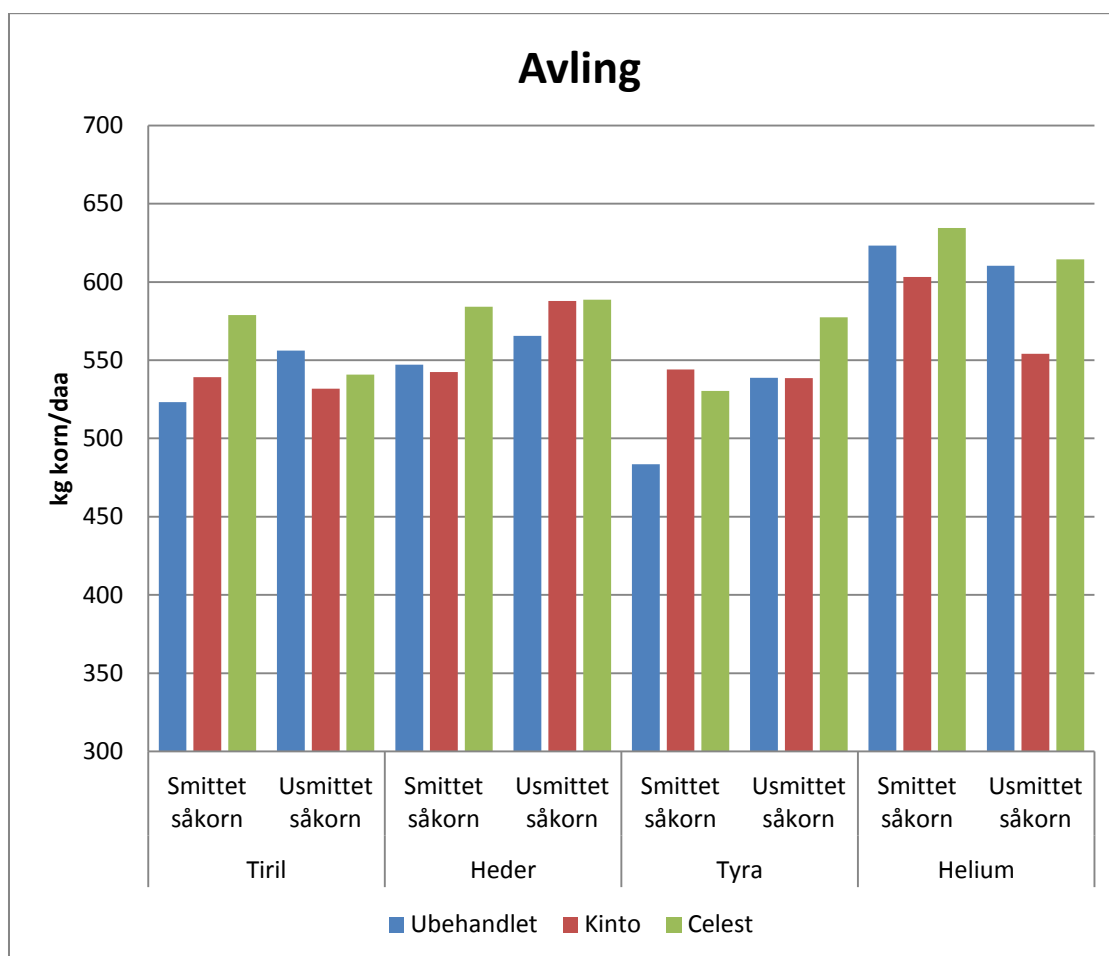
Andel strå med aksknekk (Figur 3.7) var kun signifikant for sort ($p < 0,001$), men mye av variasjonen i aksknekk ble forklart ved nettopp dette ($R^2 = 91,31$). Det var Helium som fikk minst andel av strå med aksknekk med i underkant av 5 % ved alle behandlingene. Tyra var sorten med mest aksknekk og hadde 95 % aksknekk i gjennomsnitt for alle behandlingene. Tirils ledd med ubehandlet, usmittet såkorn skiller seg ut med mindre aksknekk (45 %) enn i de andre Tiril-rutene.



Figur 3.8 Andel strå med stråknekk i %, registrert den 6. september ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittenivå $p = 0,909$, Behandling $p = 0,116$, $R^2 = 47,11$).

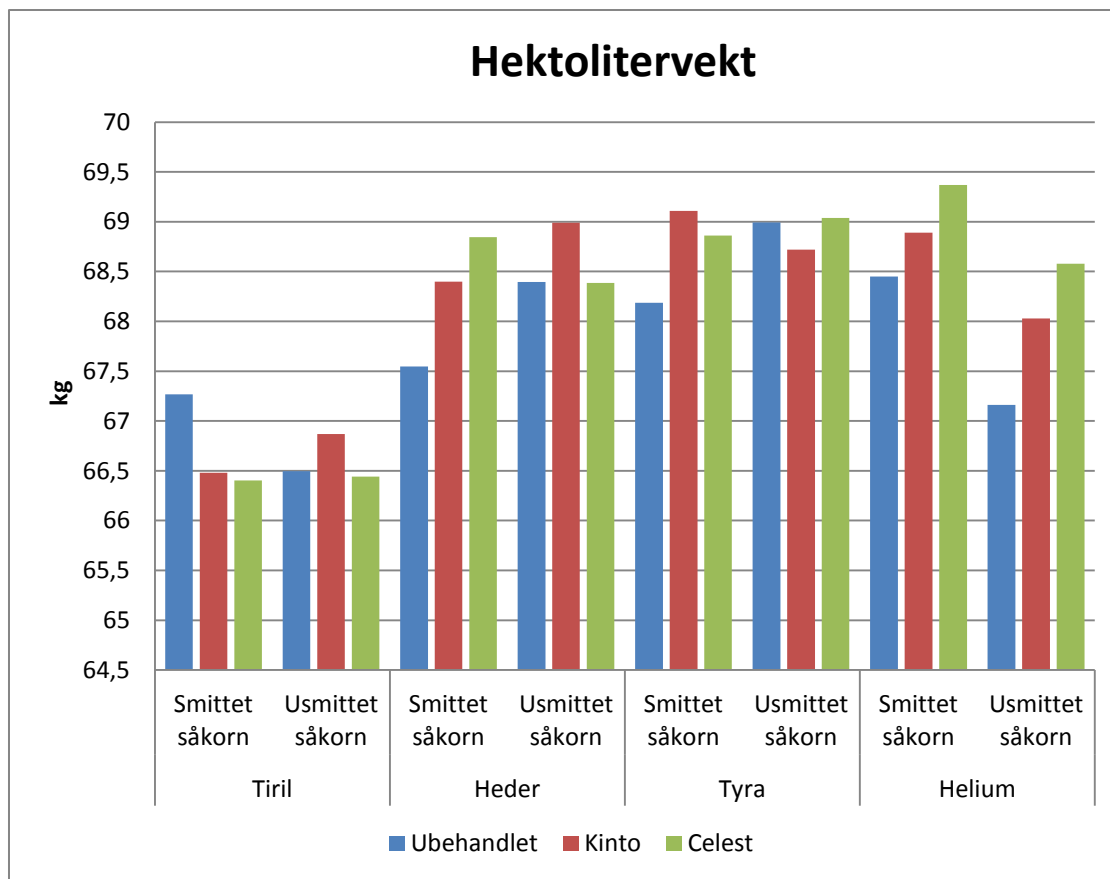
Andel strå med stråknekk (Figur 3.8) er kun signifikant for sort ($p < 0,001$) og det er en del uforklart variasjon ($R^2 = 47,11$). Helium var sorten som fikk minst stråknekk.

3.1.2 Avlingsresultater og analyseresultat etter høsting



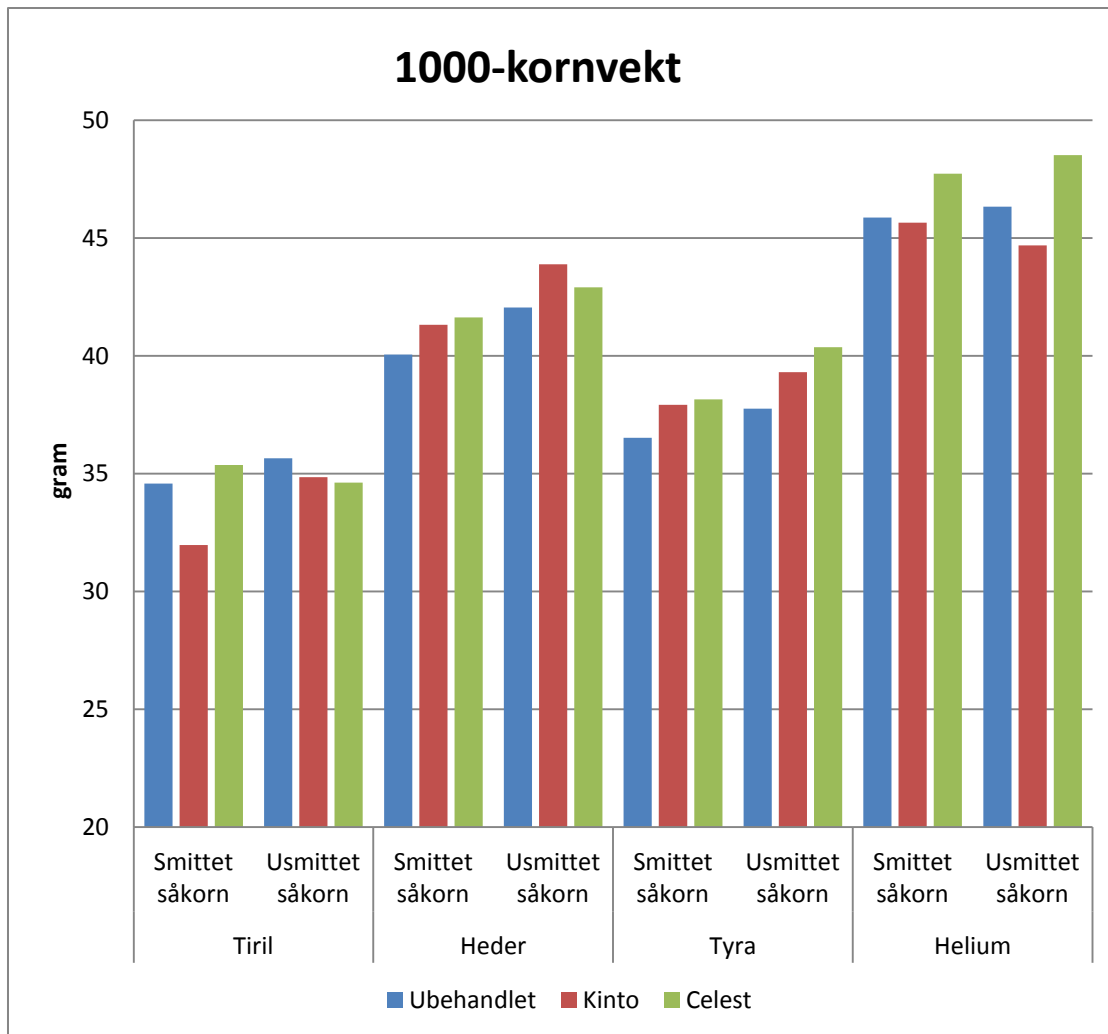
Figur 3.9 Avling i kg korn/daa ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittetilnivå $p = 0,550$, Behandling $p = 0,055$, $R^2 = 36,85$).

Avlingen i forsøksfeltet (Figur 3.9) er signifikant for sort ($p < 0,001$) og det er tendenser til signifikans ved de ulike behandlingene ($p = 0,055$). Det er imidlertid en del uforklart variasjon i avlingen ($R^2 = 36,85$). Det er Helium som har høyest avling i forsøket, med over 600 kg/daa for de fleste behandlingene, utenom leddet med Kinto, usmittet såkorn (554 kg/daa). Beising med Celest har gitt høyest avlingsøkning i gjennomsnitt for rutene (+25 kg/daa). I Tiril-rutene med smittet såkorn har beising med Celest gitt en avlingsøkning på 56 kg/daa. Det er også en avlingsøkning i de smittede rutene med Heder, der beising med Celest har gitt en meravling på 37 kg/daa. I de smittede rutene med Tyra er det Kinto som har gitt høyest meravling med 61 kg/daa. I de smittede rutene med Helium er det en svak avlingsøkning med Celest, men en avlingsnedgang med Kinto.



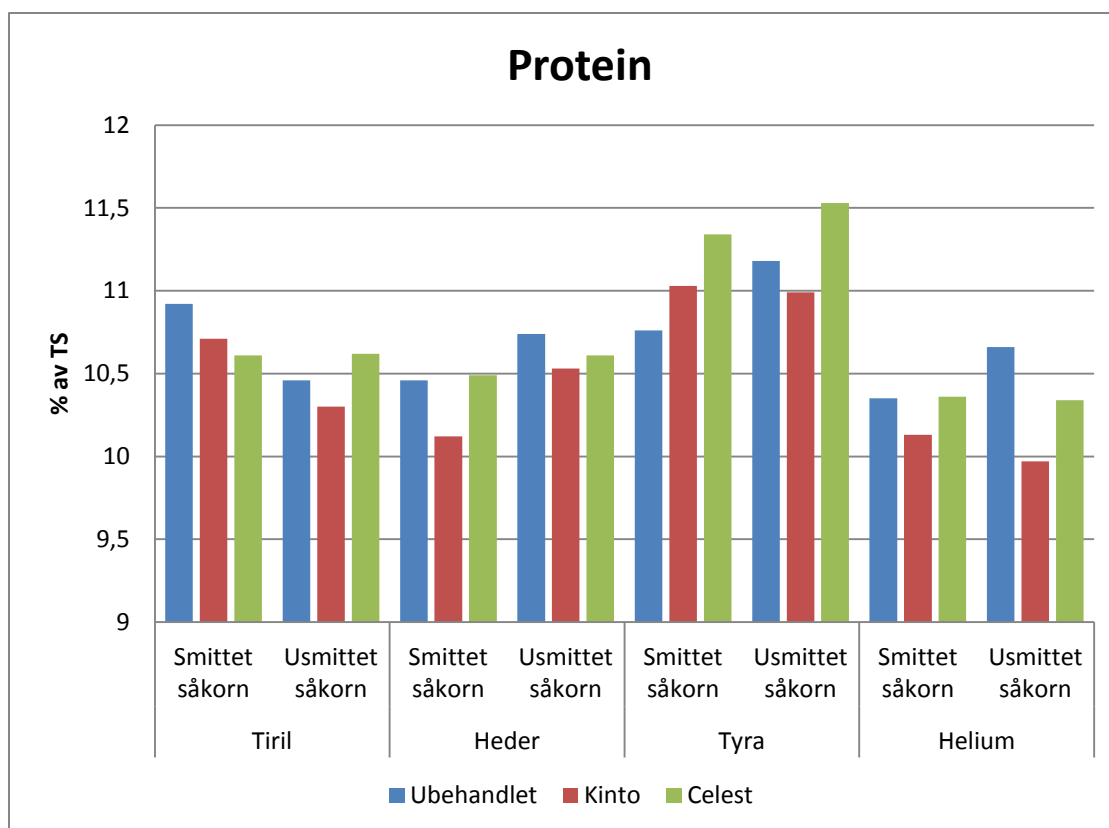
Figur 3.10 Analysert og beregnet hektolitervekt i kg ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittetnivå $p = 0,468$, Behandling $p = 0,156$, $R^2 = 54,54$) (To ekstremverdier ble fjernet på grunn av underestimering).

Hektolitervekten for det høstede kornet (Figur 3.10) var kun signifikant for sort ($p < 0,001$), og det var en del uforklart variasjon ($R^2 = 54,54$). Sorten Tiril hadde lavest hektolitervekt med et gjennomsnitt på 66,7 kg. Tyra hadde høyest gjennomsnittlig hektolitervekt med 68,8 kg. Det kan se ut som behandling har hatt noe å si for hektolitervekten i noen av sortene, men utslagene er ikke signifikante ($p = 0,156$).



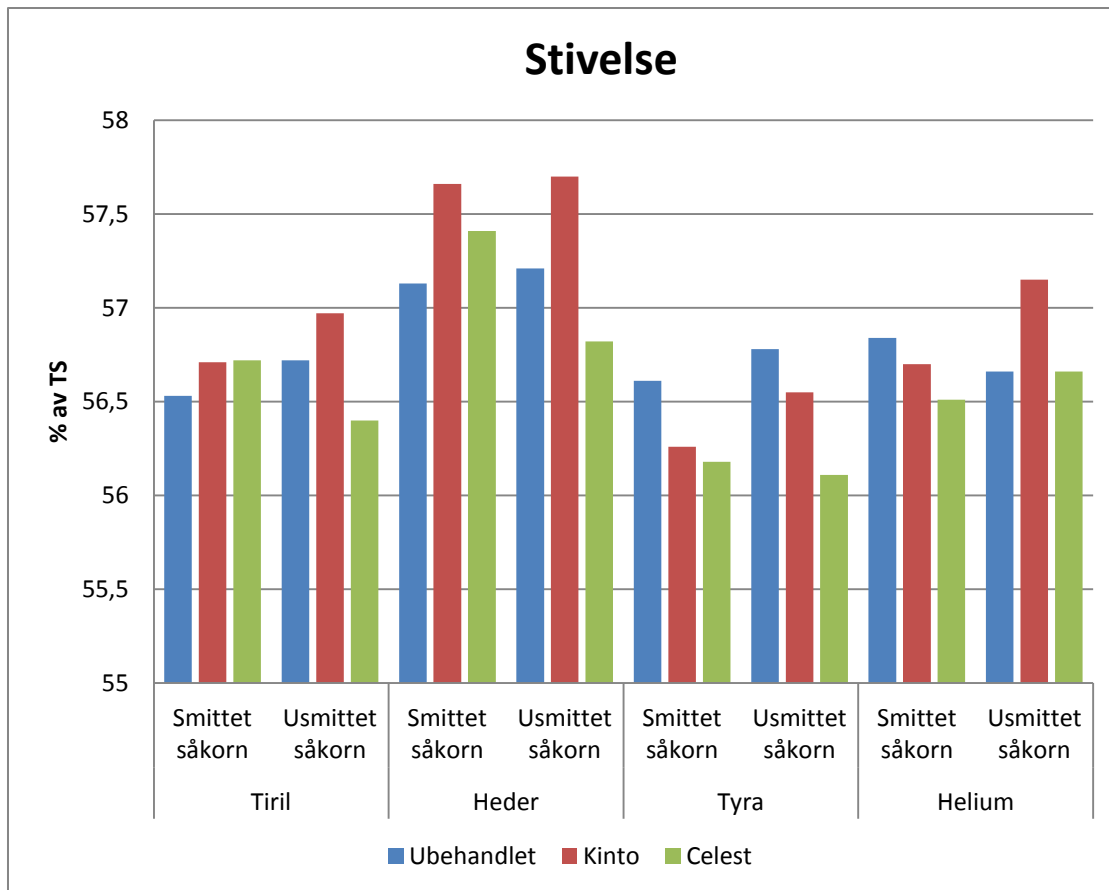
Figur 3.11 Analysert og beregnet 1000-kornvekt i gram ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittenivå $p = 0,013$, Behandling $p = 0,042$, $R^2 = 85,41$).

Analysen av 1000-kornvekten (Figur 3.11) er signifikant i forhold til sort ($p < 0,001$), smittenivå ($p = 0,013$) og behandling ($p = 0,042$). En god del av variasjonen i 1000-kornvekten forklares ved hjelp av disse faktorene ($R^2 = 85,41$). Det er sorten Helium som har høyest 1000-kornvekt (46,5 i snitt), Heder er nummer 2 (42,1 i snitt), Tyra nummer 3 (38,3 i snitt) og Tiril har lavest 1000-kornvekt (34,5 i snitt). Beising med Celest har gitt en økning i 1000-kornvekten i forhold til ubehandlet for alle sortene, med unntak av de usmittede, ubehandlede Tiril-rutene hvor ubehandlet gav høyest 1000-kornvekt. Det usmittede såkornet gav en økning i 1000-kornvekten i forhold til det smittede såkornet, og forskjellen var minst i sorten Helium.



Figur 3.12 Analysert og beregnet protein i % av tørrstoff ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittenivå $p = 0,644$, Behandling $p = 0,158$, $R^2 = 32,99$).

Andel av protein i det høstede kornet (Figur 3.12) var kun signifikant for sort ($p < 0,001$) og det var en del uforklart variasjon ($R^2 = 32,99$). Tyra hadde høyest proteininnhold med 11,1 % i snitt, mens Helium hadde lavest innhold med 10,3 % i snitt. Tiril (10,6 % i snitt) og Heder (10,5 % i snitt) var ganske like i proteininnhold.

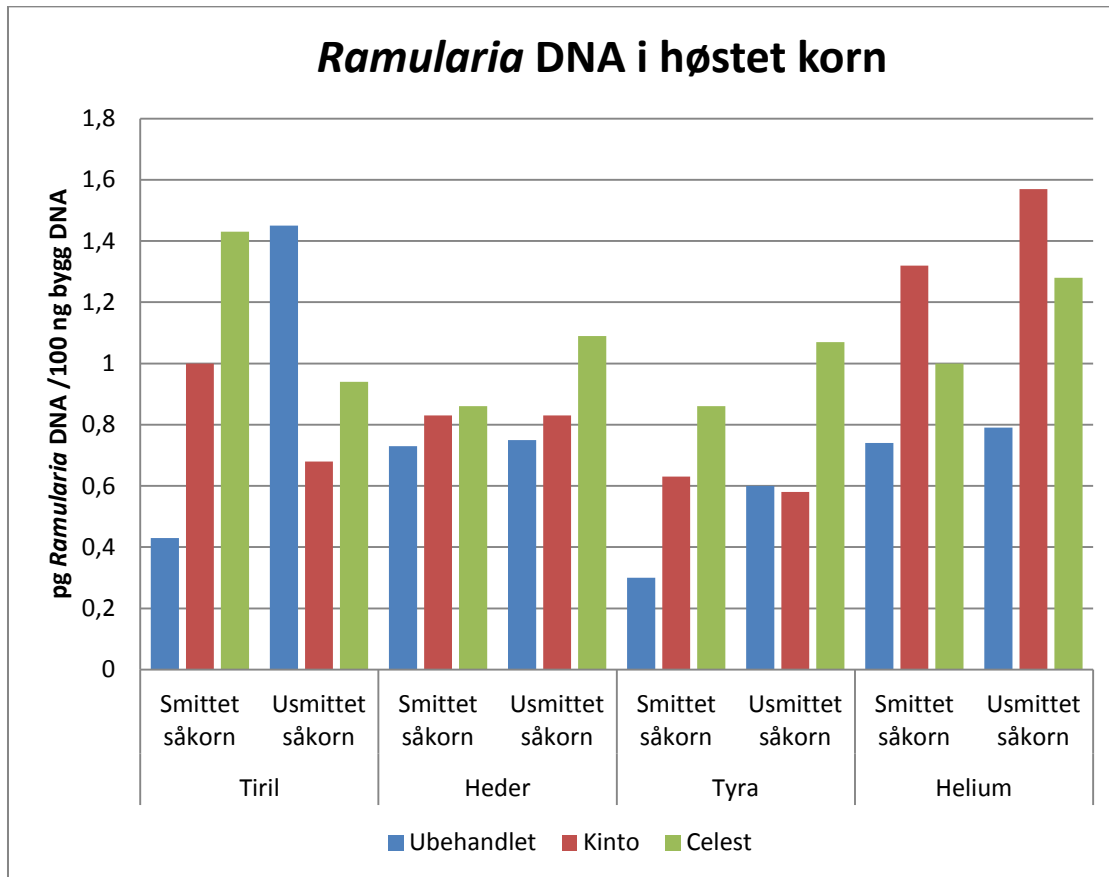


Figur 3.13 Analysert og beregnet stivelse i % av tørrstoff ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p < 0,001$, Smittetilvåk $p = 0,739$, Behandling $p = 0,039$, $R^2 = 38,78$).

Stivelsesinnholdet i det høstede kornet (Figur 3.13) var signifikant for sort ($p < 0,001$) og behandling ($p = 0,039$), men det var en del uforklart variasjon i stivelsesinnholdet ($R^2 = 38,78$). Heder var sorten med høyest andel av stivelse (57,3 % i snitt), mens Tyra hadde lavest andel av stivelse av sortene (56,4 %). Andel av stivelse var ganske likt for Tiril (56,7 %) og Helium (56,8 %).

Det var registrert noe naken sot (Tabell 7.6 og Tabell 7.10), og Tyra flekk som er en fysiologisk skade (Tabell 7.12 og Tabell 7.16), men disse er ikke vist i selve resultatdelen da de gjorde lite ut av seg. For med detaljer rundt sjukdomsregistreringene henvises det til tabell 7.1 - 7.20 i appendix. Her er det også en oversikt over andre registreringer og beregninger som ikke er tatt med i resultatdelen (Tabell 7.21- 7.28).

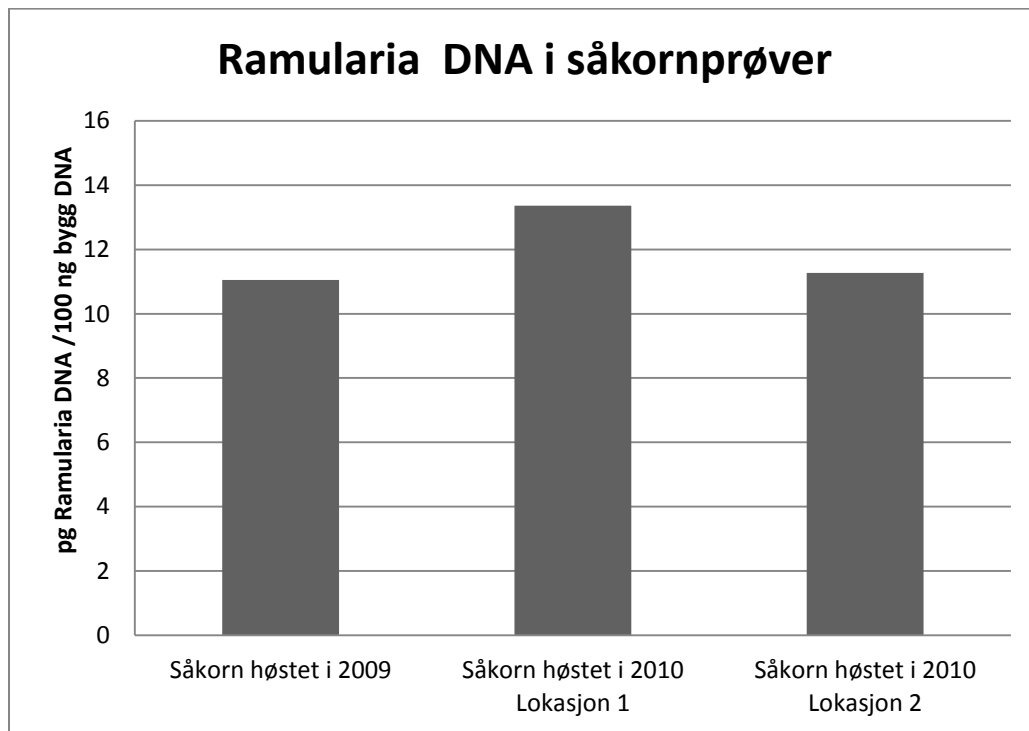
3.2 Nivå av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i høstet korn



Figur 3.14 Mengde *Ramularia* DNA i det høstede kornet fra feltforsøket, målt i pikogram *Ramularia* DNA/100 nanogram bygg DNA ved de ulike sortene, graden av frøsmitte av *Ramularia* og de ulike behandlingene (Sort $p = 0,042$, Smittenivå $p = 0,266$, Behandling $p = 0,049$, $R^2 = 20,04$). Det ble fjernet én ekstremverdi som skyldtes underestimering av bygg DNA i en av prøvene.

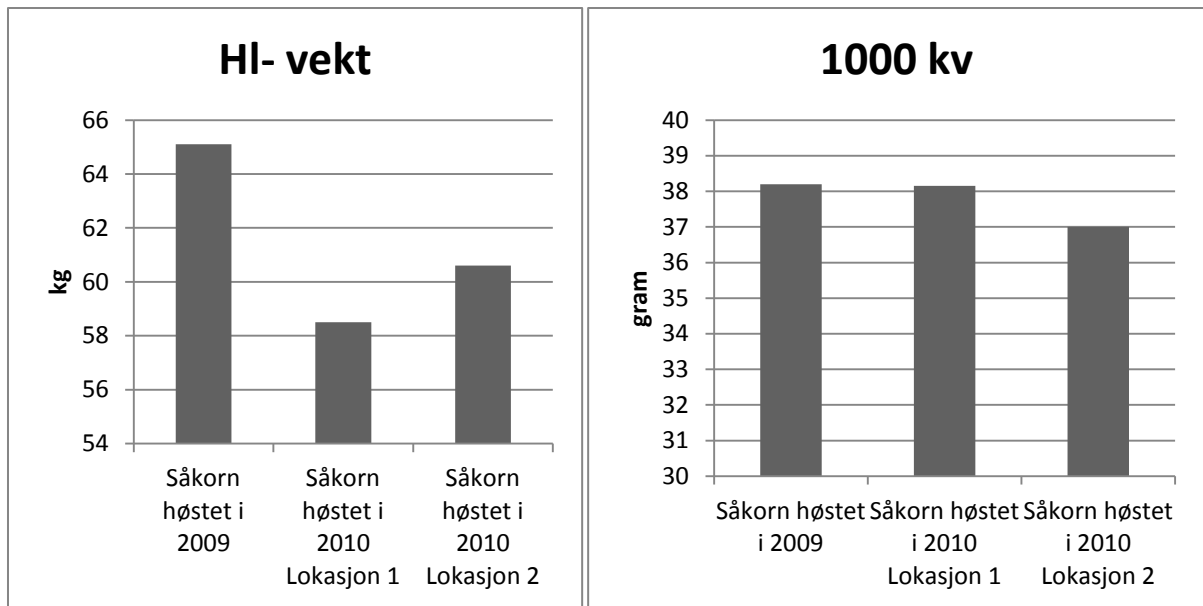
Mengde *Ramularia* DNA i pg (Figur 3.14) i det høstede kornet i feltforsøket er signifikant for sort ($p = 0,042$) og behandling ($p = 0,049$), men det er mye uforklart variasjon ($R^2 = 20,04$). Av sortene er det Helium som har høyest innhold av *Ramularia* i det høstede kornet (1,12 pg i snitt), og rutene med Kinto skiller seg ut i denne sorten, med høyt innhold av *Ramularia*. I de andre sortene er det Celest som har gitt høyest mengde *Ramularia* DNA. Unntaket er Tiril, hvor det ubehandlede usmittede leddet har gitt høyere innhold av *Ramularia* DNA (1,45 pg). Det er lavest mengde *Ramularia* DNA i det smittede, ubehandlede leddet til Tyra (0,30 pg). Tyra er også sorten med lavest innhold av *Ramularia* DNA i snitt for alle behandlingene (0,68 pg).

3.3 Såkornprøver i område med strobilurinresistens



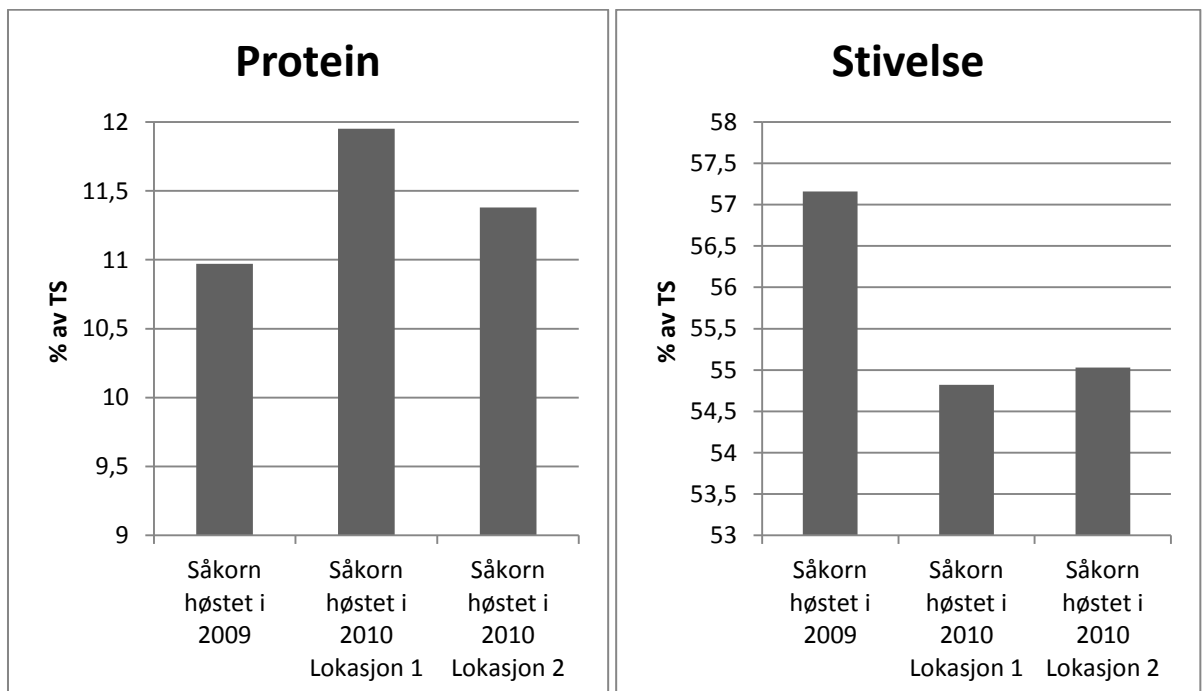
Figur 3.15 Mengde *Ramularia* DNA i såkornprøver, målt i pikogram *Ramularia* DNA/100 nanogram bygg DNA, fra såkorn dyrket til eget bruk, høstet i 2009 og 2010 fra område med påvist strobilurinresistente populasjoner av *Ramularia collo-cygni*.

Mengde *Ramularia* DNA i såkornet som ble dyrket i området hvor det var påvist strobilurinresistens (Figur 3.15) var på 11,05 pg i 2009, og for 2010 var det 13,36 pg for lokasjon 1 og 11,27 pg for lokasjon 2. Dette kan karakteriseres som et høyt nivå (> 5 pg) (Oxley & Havis, 2010).



Figur 3.16 Hektolitervekt i kg og 1000 kornvekt i g, for såkorn dyrket til eget bruk, høstet i 2009 og 2010 fra område med påvist strobilurinresistente populasjoner av *Ramularia collo-cygni*.

Hektolitervekten (Figur 3.16) varierte veldig fra de ulike prøvene og var lavest i såkornet fra 2010 som var tatt ut fra lokasjon 1. 1000-kornvekten varierte fra 37,0 g til 38,2 g (Figur 3.16). Proteininnholdet i såkornet er omvendt proporsjonalt med stivelsesinnholdet (Figur 3.17). Det er høyest proteininnhold i såkornet høstet i 2010 fra lokasjon 1 (11,95 % av TS) (Figur 3.17). Den samme prøven har lavest innhold av stivelse (54,82 % av TS).



Figur 3.17 Analysert og beregnet protein i % av tørrstoff, i såkorn dyrket til eget bruk, høstet i 2009 og 2010, fra område med påvist strobilurinresistente populasjoner av *Ramularia collo-cygni*.

4. Diskusjon

4.1 Feltforsøket

Sjukdomsregistreringene

For å få fram forskjellene i de ulike behandlingene, ble det ikke behandlet med soppmiddel i løpet av vekstsesongen. Dette er både en styrke og en svakhet med forsøket, siden bygg i Trøndelag vanligvis blir behandlet med et soppmiddel minst en gang i vekstsesongen. Det gir imidlertid et godt bilde av sortenes resistensegenskaper i tillegg til effekten av beisemidlene og frøsmitte.

Registreringene av spragleflekk igjennom vekstsesongen viser hvordan symptomene plutselig kommer til syne i en periode hvor byggplanta går over i generativ fase. Det var signifikante forskjeller mellom sorter ($p < 0,001$) og det var i stor grad byggsorten som forklarte variasjonen i angrepsgraden av spragleflekk ($R^2 = 86,05\%$). Det var Heder som hadde klart størst angrep av spragleflekk, men Tyra og Helium ble også angrepet. Dette skyldes antakelig at Heder har lavest grad av resistens mot denne sjukdommen, av sortene i forsøket (Åssveen *et. al.*, 2011). Tiril ble sterkt angrepet av byggbrunflekk og det kan være årsaken til at en så lite spragleflekk i disse rutene. *Pyrenophora teres* har større sporer enn *Ramularia collo-cygni*. *Pyrenophora teres* har også en tendens til å konkurrere ut *Ramularia collo-cygni* ved høyt smittepress (Salamati, 2010). Det var ikke signifikante forskjeller på verken grad av frøsmitte eller behandling med beisemiddel i forhold til angrepsgrad av spragleflekk i vekstsesongen. Dette kan tyde på at beisemidlene i forsøket ikke har så god effekt på frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*. Det kan også tyde på at andre smitekilder som f. eks vindbåren smitte fra naboruter og nærliggende åkre har hatt stor innvirkning på angrepsgrad av spragleflekk i feltet, siden ruter som var helt frie for frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* også hadde store angrep av spragleflekk.

Angrepsgrad av byggbrunflekk i vekstsesongen var signifikant i forhold til sort ($p < 0,001$), behandling ($p < 0,013$) og fra hvor i landet såkornet stammet fra ($p < 0,013$) ($R^2 = 92,57$). Tiril ble sterkest angrepet av byggbrunflekk, men også Tyra fikk en del angrep av denne sjukdommen. Disse resultatene stemmer godt overens med sortenes egenskaper (Åssveen *et. al.*, 2011). I disse sortene så en god effekt av beising, spesielt i såkornet fra Kvithamar, og det kan tyde på at det var en del frøsmitte av byggbrunflekk i såkornet. Frøsmitte av

byggbrunfleck kan føre til kraftige angrep på bladverket senere i sesongen (Jørgensen *et. al.*, 2004).

Angrep av grå øyeflekk opptrådte mer flekkvis i åkeren enn de andre sjukdommene, og var kun signifikant for sort ($p < 0,010$). Relativt lite av variasjonen kunne forklares ved hjelp av modellen ($R^2 = 16,67$). Det var imidlertid en tendens til at Heder var sterkere angrepet av grå øyeflekk enn de andre sortene og den er også dårligst resistens mot grå øyeflekk av sortene i forsøket (Åssveen *et. al.*, 2011).

Stråkvaliteten

Andel strå med aksknekk var signifikant i forhold til sort ($p < 0,001$) og mye av variasjonen ble forklart av modellen ($R^2 = 91,31$). Helium skilte seg ut med en lav andel knekte aks. De andre sortene hadde alle mye aksknekk. Det var lite stråknekk i feltet, men det var likevel signifikant utslag for sort ($P < 0,001$) og det var en del uforklart variasjon ($R^2 = 47,11$). Helium var sorten med minst stråknekk. Helium er den sorten med høyest stråkvalitet av sortene i forsøket (Åssveen *et. al.*, 2011), og dette gjenspeiles i resultatene i forsøket. De ubehandlede, usmittede Tiril-rutene skiller seg ut med lite aksknekk, og dette gjenspeiles i avlingsresultatene hvor disse rutene har høyere avling enn de beisede rutene med samme såkorn.

Avling

Det var relativt gode byggavlinger i forsøksfeltet selv om feltet ikke var soppsprøytet i vekstsesongen. Dette kan skyldes at feltet er lagt på et skifte hvor det tidligere har vært brukt en del husdyrgjødsel og dermed har god tilgang til fosfor og kalium. Avlingsresultatene viser at sort har gitt signifikant utslag ($p < 0,001$), men det er også en tendens til at behandling også har noe å si for avlingen i forsøket ($p = 0,550$). Tiril har gitt meget god avlingsrespons på behandling med Celest i rutene med såkorn fra Kvithamar (+56 kg), og dette skyldes antakelig bekjempelsen av byggbrunflekksmitten. Tyra har også respondert på beising og dette har antakelig også sammenheng med byggbrunflekksmitte. Smittenivå av *Ramularia* har ikke gitt signifikant utslag på avling, og dette kan skyldes at det ikke var signifikante forskjeller på angrepsgrad av spraglefleck på de usmittede og de smittede leddet. Helium er den sorten som har gitt best avling av sortene i forsøket, og var også den sorten som ble minst angrepet av soppsjukdom. Det at sorten har en god generell sjukdomsresistens (Åssveen *et. al.*, 2011), har

virket positivt i et forsøksfelt som ikke er behandlet med soppmidler. Det at den er en sen sort gir den også mulighet til å utnytte en potensielt lang vekstsesong.

Kvalitet

Hektolitervekten var signifikant i forhold til sort og kan sorteres i stigende rekkefølge Tiril < Heder < Helium < Tyra. Dette stemmer bra med sortenes egenskaper (Åssveen *et. al.*, 2011). Hektolitervekten var generelt høy i forsøket til ikke å ha vært behandlet med soppmidler i løpet av vekstsesongen.

1000 kornvekten var signifikant for sort ($p < 0,001$), behandling ($p = 0,042$) og hvor i landet såkornet stammet fra ($p = 0,013$). Sortene forklarte det aller meste av variasjonen, og kan rangeres etter 1000 kornvekt i stigende rekkefølge: Tiril < Tyra < Heder < Helium. 1000-kornvekt har vist en sammenheng med bekjempelse av sjukdommer i forsøk med soppmidler i bygg (Abrahamsen & Tandsether, 2011) så det kan være en indikator på hvor store angrep det har vært av soppsjukdommer i forsøket. Av behandlingene var det Celest som gav det tyngste kornet, mens effekten av Kinto varierte mer i mellom sortene. Leddet med såkorn fra Kvithamar var noe lettere enn såkornet fra Apelsvoll. I sorten Tyra skyldes dette antakelig mindre frøsmitte av *Pyrenophora teres*, mens i sorten Heder kan det ha en sammenheng med mindre frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, men dette er usikkert.

Andelen protein i % av tørrstoffet var signifikant for sort ($p < 0,001$), og her var det Tyra som skilte seg ut med en høyere andel protein enn de andre sortene. Dette stemmer bra med det en forventer ut ifra sortsegenskapene til Tyra (Åssveen *et. al.*, 2011). Andelen stivelse i % av tørrstoffet var signifikant for sort ($p < 0,001$) og behandling ($p = 0,039$). Av sortene hadde Heder en noe høyere stivelsesandel, men sortene var ganske like i innholdet av stivelse. I tidligere undersøkelser av stivelsesinnhold i bygg, varierer stivelsesinnholdet fra 51-64 % (Holtekjølen *et. al.*, 2006).

4.2 Nivå av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i høstet korn

Nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i alle prøvene som var tatt i det høstede kornet, kan karakteriseres som lavt (< 5 pg) (Oxley & Havis, 2010). Det er imidlertid signifikante forskjeller både mellom sorter ($p = 0,042$) og behandlingene ($p = 0,049$). Av sortene er det Helium som i snitt har høyest nivå av frøsmitte av *Ramularia*, mens Tyra har lavest nivå av

frøsmitte av *Ramularia* i det høstede kornet. Sorten Helium var minst angrepet av soppjukdommer av sortene i forsøket, og dette kan ha ført til at *Ramularia collo-cygni* har hatt gode konkurransevilkår i denne sorten. I sorten Tyra derimot, kan sterke angrep av byggbrunfleck, ha ført til at *Ramularia collo-cygni* har blitt utkonkurrert. Ser en på effekten av beisemidlene så har disse gitt en økning i innhold av *Ramularia* i forhold til ubehandlet i de fleste sortene. Unntaket er Tirils ubehandlede, usmittede ledd hvor nivået av *Ramularia* er relativt høyt. Dette kan skyldes at dette leddet var på linje med de beisede leddene i angrep av byggbrunfleck. Celest har gitt høyest innhold av *Ramularia* i det høstede kornet, i sortene Tyra, Heder og Tiril-leddet med det smittede såkornet. I sorten Helium er det imidlertid Kinto som har gitt høyest nivå av *Ramularia* i det høstede kornet. I Storbritannia har forsøk med beising mot *Ramularia* vist varierende effekt, og behandling med Celest Multi® (Fludioxonil + Flutriafol) har gitt en økning i AUDPC-verdier for spraglefleck. I samme forsøket gav Raxil® (tebuconazole + triazoxide) en reduksjon i angrepsgraden av spraglefleck (Havis *et al.*, 2009). I forsøk utført av Nyman *et al.* (2009) har beising med Raxil S® (tebuconazole + triazoxide) ikke stoppet *Ramularia* fra å bevege seg fra frøet og over i planta.

4.3 Såkornprøver i område med strobilurinresistens

Nivået av *Ramularia* i såkornet som var brukt i området med strobilurinresistens viste seg å være høyt (>5 pg) (Oxley & Havis, 2010) både i såkornet fra 2009 (11,05 pg) og fra 2010 (13,36 pg og 11,27 pg). Det var lav hektolitervekt i såkornet som var høstet i 2010 (58,5 og 60,6) og lavt stivelsesinnhold (54,82 og 55,03). Om dette skyldes høyt nivå av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* eller andre faktorer er det for lite grunnlag til å si noe sikkert om. En teori er at en kan ha fått en oppformering av strobilurinresistente populasjoner av *Ramularia collo-cygni*, som har blitt overført med såkornet. Ved å selektere for strobilurinresistente populasjoner, kan en over år ha bygget opp en populasjon av resistent *Ramularia* som kan ha ført til stor skade i åkeren. I samråd med gårdbrukeren ble det gjort endringer i plantevernstrategien. Såkornet som ble høstet i 2010 var ment å skulle brukes som såkorn i 2011, men siden det var påvist strobilurinresistente populasjoner for første gang i Norge på dette skiftet, og en vet at *Ramularia collo-cygni* smitter med såkorn, ble det anbefalt å skifte ut dette såkornet med sertifisert såkorn. Det kan være imidlertid være behov for en videre kartlegging av nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, spesielt i områder hvor sjukdommen er utbredt.

4.4 Oppsummering

Beisemidler

Beisemidlene gav ikke signifikant effekt på sjukdomsutviklingen av spragleflekk i felt, men hadde god virkning på byggbrunflekk. Det er imidlertid ikke uventet, da forsøk i Storbritannia har vist varierende effekt av beisemidler (Havis *et. al.*, 2009; Nyman, *et. al.*, 2009) på sjukdomsutviklingen av spragleflekk. Beising med Celest gav allikevel mest avling i feltforsøket i Meldal og høyest 1000-kornvekt, og dette kan skyldes at dette midlet har hatt god effekt på bekjempelsen av byggbrunflekkssoppen. Det var mest *Ramularia* i det høstede kornet fra beisede leddene og dette kan skyldes at bekjempelsen av byggbrunflekk har gjort at *Ramularia collo-cygni* har fått bedre konkurransevilkår.

Frøsmitte

Frøsmitte av *Ramularia* hadde ikke signifikant effekt på sjukdomsutviklingen av spragleflekk i felt. Dette var også erfaringen fra forsøkene i Storbritannia (Oxley & Havis, 2010), men her var det ingen av sortene som var fullstendig ren for smitte. *Ramularia* spres lett med vind og smitte fra naboruter og omkringliggende åkre kan være årsaken til at det ikke var signifikante forskjeller på det smittede og usmittede såkornet. Angrepsgraden av byggbrunflekk var imidlertid signifikant for hvor i landet såkornet kom fra, og det kan tyde på at det var mer byggbrunflekksmitte i såkornet fra Kvithamar. 1000 – kornvekten var litt høyere i ledd med såkorn fra Apelsvoll. Graden av frøsmitte av *Ramularia* i det høstede kornet viste ikke sammenheng med grad av frøsmitte i såkornet. Antakelig henger det mer sammen med smittepresset i den enkelte åker og forholdene for oppsmitting i juli, når symptomene for spragleflekk vises (Oxley & Havis, 2010).

Sortsvalg

Sortsvalg hadde signifikant effekt på sjukdomsutviklingen av spragleflekk i felt. Heder ble sterkest angrepet av spragleflekk, men også Tyra og Helium ble noe angrepet. Tiril fikk sterke angrep av byggbrunflekk, men lite angrep av spragleflekk. Sorten Helium fikk best avling og den holdt seg friskest av sortene i forsøket. Den hadde også høyest hektolitervekt og 1000-kornvekt av sortene i forsøket. Helium var imidlertid den av sortene som inneholdt høyest innhold av frøsmitte av *Ramularia* i det høstede kornet, men nivået i alle sortene kan allikevel karakteriseres som lavt (<5 pg).

5. Konklusjon

Målet med oppgaven var å finne ut hvilken betydning beising, frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, og sortsvalg har å si for sjukdomsutvikling i vekstsesongen, avling, kvalitet og grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet. Det er vanskelig å trekke noen klare konklusjoner ut fra ett forsøk, men en ser en del tendenser:

- Sortsvalg var den faktoren som hadde mest å si av faktorene i forsøket.
- Heder ble sterkest angrepet av spragleflekk.
- Tiril ble sterkest angrepet av byggbrunflekk.
- Tyra ble noe angrepet av spragleflekk og byggbrunflekk.
- Helium ble minst angrepet av sjukdom av sortene i vekstsesongen, men hadde tendenser til et noe høyere nivå av *Ramularia* i det høstede kornet.
- Helium gav høyest avling av sortene i forsøket.
- Beising førte til økt avling og økt 1000-kornvekt.
- Celest gav i snitt høyest avlingsøkning.
- Beising førte til økt innhold frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i det høstede kornet. Dette kan skyldes god bekjempelse av andre sjukdommer.
- Graden av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i såkornet brukt i forsøket, hadde liten innvirkning på resultatene i forsøket, og dette kan skyldes smitte fra andre kilder enn frøet.

Et delmål med oppgaven var å utvikle en metode i Norge for å teste grad av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* ved hjelp av real-time PCR. Konklusjonen her er at:

- Real-time PCR metoden fungerer godt og er klar til å tas i bruk i det videre arbeidet med *Ramularia collo-cygni*.

Et annet delmål med oppgaven var å kartlegge nivået av frøsmitte i område med strobilurinresistens. Konklusjonen her er at:

- Nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni* i området med strobilurinresistens viste seg å være høyt (opptil 13,4 pg *Ramularia* DNA).
- Det er behov for en videre kartlegging av nivået av frøsmitte av *Ramularia collo-cygni*, spesielt i områder hvor sjukdommen er utbredt.

6. Litteraturliste

- Abrahamsen U, Tandsether T. 2011. Forsøk med vekstregulering og soppbekjempelse i bygg. *Bioforsk FOKUS* 6 (1): 72-75.
- Balz T, von Tiedemann, A. 2004. Diagnose von *Ramularia collo-cygni*, dem Erreger der Sprenkelkrankheit der Gerste. *Mitt. BBA* 396: 127-128.
- BASF. 2008. Kinto®. *Plantevernmiddeletikett, reg.nr. 2008.66*. BASF AS.
- Braun U. 1998. A monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and allied genera (phytopathogenic Hyphomycetes). Vol. 2. IHW-Verlag, Eching bei München.
- Braun U. 2002. *Ramularia collo-cygni* (Ramularia leaf blight on barley): Taxonomy and phylogeny. *Meeting the Challenges of Barley Blights. In Proceeding of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights. 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria, 370-375.*
- CABI/EPPO. 2010. *Ramularia collo-cygni. Distribution Maps of Plant Diseases No. 1082.* CABI Head Office, Wallingford, UK.
- Cavara F. 1893. Über einige parasitische Pilze auf dem Getreide. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten* 3: 16-26.
- Christiansen A, Nistrup Jørgensen L, von Tiedemann A, Balz T, Liebermann B, Miethbauer S. 2009. Fungicide impact on yield and Ramularia leaf spot, fungal biomass and rubellins. *Aspects of Applied Biology* 92, *The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*: 33-39.
- Crous P W, Aptroot J CH, Braun U, Wingfield M. 2000. The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. *Stud. In Myc.* 45, 107-121.
- Divon H H, Razzaghian J, Udnes-Aamot H, Klemsdal S S. 2011. *Fusarium langsethiae* (Torp and Nirenberg), investigation of alternative infection routes in oats. *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 132, (1): 147-161.
- Felleskjøpet Agri. 2011. *Spire – Vårkorn 2012*. Tilgjengelig fra: http://www.felleskjopet.no/landbruk/Documents/Interne/Kraftfor_Plantekultur/S%C3%A5korn/SPIRE_Vaarkornkatalog_2012_web.pdf
- Ficke A, Abrahamsen U & Elen O. 2011. Fungicidresistens hos kornsjukdommer i Norge. *Bioforsk FOKUS*, 6 (2): s. 96.
- Formayer H, Huss H, Kromb-Kolb H. 2004. Influence of Climatic Factors on the Formation of Symptoms of *Ramularia collo-cygni*. *Meeting the Challenges of Barley Blights. In Proceeding of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights. 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria, 329-330.*

- Fountaine J M, Fraaije B A. 2009. Development of QoI resistant alleles on populations of *Ramularia collo-cygni*. *Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 123-126.
- Frei P, Gindrat D. 2000. Le champignon *Ramularia collo-cygni* provoque une forme de grillures sur les feuilles D'orge d'automne et graminées adventices. *Revue Suisse Agric.* 32: 229-233.
- Frei P, Gindro K, Richter H, Schürch S. 2007. Direct-PCR detection and epidemiology of *Ramularia collo-cygni* associated with barley necrotic leaf spots. *Journal of Phytopathology* 155:281-288.
- Frei, P. 2009. *Ramularia collo-cygni* on barley: a seed-borne disease. *Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 109-110.
- Graminor. 2011. Sortsbeskrivelse av Tyra. Tilgjengelig fra: http://graminor.no/no/sorter/bygg/bygg_tyra_torads
- Havis N D, Oxley S J P, Piper S R, Langrell S R H. 2006a. Rapid nested PCR-based detection of *Ramularia collo-cygni* direct from barley. *FEMS Microbiology Letters* 256: 217:223.
- Havis N D, Oxley S J P. 2006b. Investigating the life cycle of *Ramularia collo-cygni* using a PCR based diagnostic. *Proceedings of the first Ramularia workshop*, Göttingen, Germany, 39-44.
- Havis N D, Taylor J M G, Nyman M, Oxley S J P. 2009. Epidemiology of *Ramularia collo-cygni*. *Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 1-7.
- Heiser I, Hess M, Schmidtke K U, Vogler U, Miethbauer S, Liebermann B. 2004. Fatty acid peroxidation by rubellin B, C and D, phytotoxins produced by *Ramularia collo-cygni* (Sutton & Waller). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64: 135-143.
- Hess M, Vogler U, Heiser I. 2009. Investigating Rubellins and their role in host-parasite interaction. *Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 27-31.
- Holtekjølen A K, Uhlen A K, Brathen E, Sahlstrom S, Knutsen S H. 2006. Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin. *Food Chemistry*, 94 (3): 348-358.
- Huss, H. 2004. The biology of *Ramularia collo-cygni*. *Meeting the Challenges of Barley Blights*. In *Proceeding of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria*, 321-328.
- Justesen A F. 2010. *Personlig meddelelse av Annemarie Fejer Justesen*. University of Aarhus, Department of Agroecology – Plant Pathology and Entomology.

Jørgensen L N, Pinnschmidt H, Nielsen B J, 2004. Bygbladplet, biologi og bekæmpelse. *Grøn Viden, Markbrug* nr. 289. 12 s.

Jørstad, I. 1930. Beretning om plantesykdommer i land – og hagebruket. VI. Sykdommer på korn – og engvekster. CI-C84.

Kartdata, 2011. Europa Technologies, Google, GIS Innovatsia, Tele Atlas, GeoBasis-DE/BKG (2009)
<http://maps.google.no/maps/ms?msid=215045576477291764336.0004b12b51f9bfe5f03b1&msa=0&ll=61.689872,0.219727&spn=11.213565,43.286133>

Madden L V, Hughes H, van den Bosch F. 2007. *The study of Plant Disease Epidemics*. APS Press, St Paul, MN, 106-107.

Miethbauer S, Heiser I, Liebermann B. 2003. The phytopathogenic fungus *Ramularia collo-cygni* produces biologically active rubellins on infected barley leaves. *Journal of Phytopathology* 151: 665-668.

Miethbauer S, Haase S, Schmidtke K-U, Günther W, Heiser I, Liebermann B. 2006. Biosynthesis of photodynamically active rubellins and structure elucidation of new anthraquinone derivatives produced by *Ramularia collo-cygni*. *Phytochemistry* 67:1206-1213.

Miethbauer S, Günther W, Schmidtke K-U, Heiser I, Gräfe S, Gitter B, Liebermann B. 2008. Uredinorubellins and caeruleoramularin, novel anthraquinone derivatives produced by two species of the genus *Ramularia*. *Journal of Natural Products* 71: 1371-1375.

Miethbauer S, Gaube F, Möllmann U, Dahse H-M, Schmidtke M, Gareis M, Pickhardt M, Liebermann B. 2009. Antimicrobial, antiproliferative, cytotoxic, and TAU inhibitory activity of Rubellins and Caeruleoramularin produced by the phytopathogenic fungus *Ramularia collo-cygni*. *Planta Med* 75, 1523-1525.

Newton A C, Fitt B D L, Atkins S D, Walters D R, Daniell T J. 2010. Pathogenesis, mutualism and parasitism, in the trophic space of microbial-plant interactions. *Trends in Microbiology*, 18, 365-373.

Nyman M, Havis N D, Oxley S J P. 2009. Importance of seed-borne infection of *Ramularia collo-cygni*. *Aspects of Applied Biology* 92, *The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 91-95.

Oxley S J P, Havis N D, Sutherland K G, Nuttall M. 2002. Development of a rationale to identify the causal agent of necrotic lesions in spring barley and to identify control mechanisms. *HGCA Project Report No. 282*.

Oxley S J P, Hunter E A. 2005. Appropriate fungicide doses on winter barley: producing dose-response data for a decision guide. *HGCA Project Report No. 366*.

Oxley S J P, Havis N D, Brown J K M, Makepeace J C, Fountaine J. 2008. Impact and interactions of *Ramularia collo-cygni* and oxidative stress in barley. *HGCA Project Report No. 431*.

- Oxley S J P, Brown J, Foster V, Havis N. 2009. Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia Workshop – A new disease and challenge in barley production, Introduction, 1 s.
- Oxley S J P, Burnett F. 2010. Barley Disease Control. *Technical Note TN627*. SAC. 20 s.
- Oxley S J P, Havis N D. 2010. Managing *Ramularia collo-cygni* through varietal resistance, seed health and forecasting. *HGCA Project Report No. 463*.
- Pinnschmidt H O, Justesen A F. 2009. Methods for artificial inoculation of *Ramularia collo-cygni* on barley and quantitative assessment by real-time PCR. *Aspects of Applied Biology 92, The 2nd European Ramularia workshop – A new disease and challenge in barley production*, 49-55.
- Reitan L. 2009. Fôrverdi i bygg som funksjon av sorter og sjukdomsangrep for Midt-Norge. *Sluttrapport, regionalt prosjekt på forverdi i korn 2005-2008*. 20 s.
- Reitan L. 2011. *Personlig meddelelse av Lars Reitan. Forskningsjef korn. Graminor AS*.
- Sachs E. 2004. A "New" Leaf Spot Disease of Barley Caused by *Ramularia collo-cygni*: Description, Diagnosis and Comparison with Other Leaf Spots. *Proceedings of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights*. 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria: 365-369.
- Salamati S, Reitan L, Flataker K E. 2004. Occurrence of *Ramularia collo-cygni* on spring barley in Norway. *Proceedings of the 2nd International Workshop on Barley Leaf Blights*. 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria: 355-359.
- Salamati S, Reitan L. 2006. Spragleflekk – biologi, smittekilder og smittebetingelser. *Bioforsk FOKUS 1 (17)* 8s.
- Salamati S. 2009. Bladsykdommer på bygg i Midt-Norge. *Håndbok utgitt av Midt-Norsk Plantevern AS*. 32 s.
- Salamati S. 2010. *Personlig meddelelse av Saideh Salamati, Midt-Norsk Plantevern AS*.
- Schützendübel A, Stadler M, Wallner D, Von Tiedemann A. 2008. A hypothesis on physiological alterations during plant ontogenesis governing susceptibility of winter barley to ramularia leaf spot. *Plant Pathology 57(3)*: 518-526.
- Sprague R. 1946. Additions to the fungi imperfecti on grasses in the United States. *Mycologia*, Vol.38, No.1 (Jan – Feb, 1946), 52-64.
- Stabentheiner E, Minihofer T, Huss H. 2006. Scanning electron microscopic investigations on leaves of barley and maize infected with *Ramularia collo-cygni*. 1st European Ramularia Workshop, March 2006, Göttingen. Germany, 37.
- Stabentheiner E, Minihofer T, Huss H. 2009. Infection of Barley by *Ramularia collo-cygni*: Scanning Electron Microscopic Investigations. *Mycopathologia 168 (3)*, 135-143.

Sutton B, & Waller M. 1988. Taxonomy of *Ophiocladium hordei*, causing leaf lesions on Triticale and other Gramineae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 90, 55-61.

Syngenta. 2009. Celest Formula M®. *Plantevernmiddeletikett, reg.nr.2009.32*. Syngenta Crop Protection A/S.

Taylor J M G, Paterson L J, Havis N D. 2010. A quantitative real-time PCR assay for the detection of *Ramularia collo-cygni* from barley (*Hordeum vulgare*). *FEMS Microbiology Letters* 50 (5): 493-499.

Tschöpe O, Sachs E. 2001: Die Farbstoffbildung von *Ramularia collo-cygni* (Sutton & Waller) als Grundlage für eine Schnelldiagnose. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 53 (7), 161-164.

Zadoks J C, Chang T T & Konzak C F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 415-421.

Åssveen M, Tangsveen J, Bergjord A K, Weiseth L. 2011. Sorter og sortsprøving 2010. *Bioforsk FOKUS* 6 (1): 26-48.

7. Appendix

Registreringer av sjukdommer i feltforsøket

Registreringer av sjukdom 25. juni

Tabell 7.1 Dekning av byggbrunfleck på de tre øverste blad i % registrert den 25. juni

Byggbrunfleck % 25/6								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,33	0,00	0,67	0,33	1,67	1,00	1,67	1,44
Heder	0,33	0,67	1,33	0,78	0,33	0,33	0,67	0,44
Tyra	0,00	0,33	0,00	0,11	1,33	0,67	0,67	0,89
Helium	1,33	0,67	0,67	0,89	1,67	1,00	0,67	1,11
Gj.snitt	0,50	0,42	0,67	0,53	1,25	0,75	0,92	0,97

Tabell 7.2 Dekning av grå øyefleck på de tre øverste blad i % registrert den 25.juni

Grå øyefleck % 25/6								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,11
Heder	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,11
Tyra	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Helium	0,00	0,33	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	0,00	0,08	0,00	0,03	0,08	0,00	0,08	0,06

Spraglefleck-symptomer var enda ikke synlig den 25.juni.

Registreringer av sjukdom 6. juli

Tabell 7.3 Dekning av byggbrunfleck på de tre øverste blad i % registrert den 6. juli

Byggbrunfleck % 6/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	1,67	2,67	2,33	2,22	5,33	3,00	3,33	3,89
Heder	1,33	1,33	1,67	1,44	1,67	0,33	2,00	1,33
Tyra	0,33	0,00	0,00	0,11	2,67	0,00	1,00	1,22
Helium	0,33	0,00	1,33	0,56	0,67	0,00	0,67	0,44
Gj.snitt	0,92	1,00	1,33	1,08	2,58	0,83	1,75	1,72

Tabell 7.4 Dekning av grå øyefleck på de tre øverste blad i % registrert den 6. juli

Grå øyefleck % 6/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	1,00	1,00	2,00	1,33	0,67	2,33	1,67	1,56
Heder	3,33	3,67	0,00	2,33	1,67	1,33	3,00	2,00
Tyra	2,00	0,67	3,00	1,89	0,00	0,67	2,00	0,89
Helium	0,00	0,67	0,00	0,22	1,67	1,33	0,00	1,00
Gj.snitt	1,58	1,50	1,25	1,44	1,00	1,42	1,67	1,36

Spraglefleck-symptomer var enda ikke synlig den den 6. juli.

Registreringer av sjukdom 14. juli

Tabell 7.5 Dekning av byggbrunfleck på de tre øverste blad i % registrert den 14. juli

Byggbrunfleck % 14/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	3,00	3,33	4,00	3,44	6,00	4,33	4,67	5,00
Heder	1,33	1,67	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	2,00
Tyra	2,00	1,00	1,67	1,56	2,67	1,00	1,33	1,67
Helium	0,00	0,67	0,00	0,22	0,67	0,00	0,00	0,22
Gj.snitt	1,58	1,67	1,92	1,72	2,83	1,83	2,00	2,22

Tabell 7.6 Frekvens av naken sot % registrert den 14.juli

Naken sot % 14/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	0,33	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
Tyra	0,67	0,00	0,00	0,22	0,33	0,00	0,00	0,11
Helium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,11
Gj.snitt	0,25	0,00	0,00	0,08	0,08	0,08	0,00	0,06

Tabell 7.7 Dekning av grå øyeflekk på de tre øverste blad i % registrert den 14. juli

Grå øyeflekk % 14/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	1,67	1,67	2,00	1,78	1,33	1,67	0,67	1,22
Heder	3,00	3,67	2,00	2,89	3,00	1,33	3,33	2,56
Tyra	0,67	0,67	2,67	1,33	0,00	1,67	2,67	1,44
Helium	0,33	1,33	1,00	0,89	1,67	1,33	0,33	1,11
Gj.snitt	1,42	1,83	1,92	1,72	1,50	1,50	1,75	1,58

Tabell 7.8 Dekning av spragleflekk på de tre øverste blad i % registrert den 14. juli

Spragleflekk % 14/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	0,33	0,00	0,00	0,11	0,33	0,00	0,17	0,17
Tyra	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Helium	0,00	0,00	0,67	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	0,08	0,00	0,17	0,08	0,08	0,00	0,04	0,04

Registreringer av sjukdom 23. juli

Tabell 7.9 Dekning av byggbrunflekk på de tre øverste blad i % registrert den 23. juli.

Byggbrunflekk i % 23/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	4,00	3,33	4,33	3,89	7,00	4,67	5,67	5,78
Heder	1,33	1,67	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	2,00
Tyra	2,00	1,00	2,00	1,67	2,67	2,00	1,67	2,11
Helium	0,00	1,00	0,00	0,33	1,33	0,00	0,00	0,44
Gj.snitt	1,83	1,75	2,08	1,89	3,25	2,17	2,33	2,58

Tabell 7.10 Frekvens av naken sot i % registrert den 23. juli.

Naken sot % 23/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tyra	0,67	0,00	0,00	0,22	0,33	0,33	0,00	0,22
Helium	0,00	0,67	0,00	0,22	0,33	0,00	0,00	0,11
Gj.snitt	0,17	0,17	0,00	0,11	0,17	0,08	0,00	0,08

Tabell 7.11 Dekning av grå øyeflekk på de tre øverste blad i % registrert den 23. juli.

Grå øyeflekk % ved 23/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	2,00	3,00	2,33	2,44	2,33	1,67	0,33	1,44
Heder	3,33	4,00	3,00	3,44	2,67	2,00	2,67	2,44
Tyra	1,00	0,67	2,33	1,33	0,00	1,33	2,67	1,33
Helium	0,33	1,33	1,33	1,00	0,33	0,33	1,00	0,56
Gj.snitt	1,67	2,25	2,25	2,06	1,33	1,33	1,67	1,44

Tabell 7.12 Dekning av tyraflekk på de tre øverste blad i % registrert den 23. juli.

Tyraflekk % 23/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tyra	0,00	0,33	0,33	0,22	0,00	0,33	0,33	0,22
Helium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	0,00	0,08	0,08	0,06	0,00	0,08	0,08	0,06

Tabell 7.13 Dekning av spragleflekk på de tre øverste blad i % registrert den 23. juli.

Spragleflekk % 23/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,33	0,33	0,00	0,22	0,33	0,67	0,67	0,56
Heder	0,67	0,67	1,00	0,78	0,67	0,67	1,00	0,78
Tyra	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Helium	0,67	0,67	1,00	0,78	0,67	0,67	0,00	0,44
Gj.snitt	0,42	0,42	0,50	0,44	0,42	0,50	0,42	0,44

Registreringer av sjukdom 26. juli

Tabell 7.14 Dekning av byggbrunflekk på de tre øverste blad i % registrert den 26. juli.

Byggbrunflekk % 26/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	9,67	8,00	10,67	9,44	19,33	10,33	14,00	14,56
Heder	3,00	1,67	2,67	2,44	4,33	2,67	3,33	3,44
Tyra	5,00	2,67	3,67	3,78	4,67	3,67	4,33	4,22
Helium	0,67	1,00	1,33	1,00	1,00	0,67	1,33	1,00
Gj.snitt	4,58	3,33	4,58	4,17	7,33	4,33	5,75	5,81

Tabell 7.15 Dekning av grå øyeflekk på de tre øverste blad i % registrert den 26. juli.

Grå øyeflekk % 26/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	1,33	2,67	0,67	1,56	1,67	3,33	0,00	1,67
Heder	1,67	1,33	0,67	1,22	2,00	0,67	1,33	1,33
Tyra	0,67	1,33	1,00	1,00	0,33	2,00	0,67	1,00
Helium	1,33	0,67	2,00	1,33	1,33	0,67	0,67	0,89
Gj.snitt	1,25	1,50	1,08	1,28	1,33	1,67	0,67	1,22

Tabell 7.16 Dekning av tyraflekk på de tre øverste blad i %, registrert den 26. juli.

Tyraflekk % ved 26/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tyra	1,33	4,33	2,67	2,78	1,67	1,67	2,67	2,00
Helium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	0,33	1,08	0,67	0,69	0,42	0,42	0,67	0,50

Tabell 7.17 Dekning av andre spragleflekk på de tre øverste blad i % registrert den 26. juli.

Spragleflekk % 26/7								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	6,00	3,33	7,00	5,44	5,33	6,00	8,67	6,67
Heder	12,67	14,00	11,67	12,78	11,00	13,33	11,67	12,00
Tyra	6,00	7,00	8,33	7,11	6,33	8,33	7,00	7,22
Helium	7,00	9,33	6,33	7,56	8,00	8,00	8,00	8,00
Gj.snitt	7,92	8,42	8,33	8,22	7,67	8,92	8,83	8,47

Registreringer av sjukdom 4. august

Tabell 7.18 Dekning av byggbrunflekk på de tre øverste blad i % registrert den 4.august

Byggbrunflekk % 4/8								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	44,33	41,67	40,00	42,00	55,00	45,00	48,33	49,44
Heder	4,33	0,00	1,67	2,00	2,33	4,33	1,67	2,78
Tyra	7,67	9,00	2,67	6,44	13,33	15,00	5,67	11,33
Helium	0,00	1,67	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	14,08	13,08	11,08	12,75	17,67	16,08	13,92	15,89

Tabell 7.19 Dekning av grå øyeflekk på de tre øverste blad i % registrert den 4.august

Grå øyeflekk % ved 4/8								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	3,33	5,00	2,78	0,00	0,00	0,00	0,00
Heder	4,00	0,00	0,00	1,33	4,33	3,33	3,33	3,67
Tyra	3,67	2,00	1,33	2,33	0,00	1,33	2,67	1,33
Helium	1,67	0,00	0,67	0,78	0,67	1,00	0,00	0,56
Gj.snitt	2,33	1,33	1,75	1,81	1,25	1,42	1,50	1,39

Tabell 7.20 Dekning av spragleflekk på de tre øverste blad i %, registrert den 4.august

Spragleflekk % ved 4/8								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	1,67	0,00	0,56	0,67	1,00	1,00	0,89
Heder	21,00	18,67	21,67	20,44	20,00	21,00	18,33	19,78
Tyra	11,00	8,33	10,67	10,00	10,00	6,67	10,00	8,89
Helium	3,67	5,33	3,33	4,11	2,67	3,67	3,33	3,22
Gj.snitt	8,92	8,50	8,92	8,78	8,33	8,08	8,17	8,19

Andre registreringer den 6. september

Tabell 7.21 Lengden på strå fra jord til aks %, registrert den 6. september

Strå lengde i cm 6/9								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	85,67	86,67	89,00	87,11	86,00	84,33	85,67	85,33
Heder	86,67	86,33	85,33	86,11	81,33	85,33	80,67	82,44
Tyra	72,33	70,33	71,67	71,44	68,33	72,00	70,67	70,33
Helium	60,67	61,67	60,67	61,00	61,67	64,33	58,67	61,56
Gj.snitt	76,33	76,25	76,67	76,42	74,33	76,50	73,92	74,92

Andre analyseresultat etter høsting

Tabell 7.22 Analysert og beregnet vanninnhold i nedtørket korn

Vanninnhold i nedtørket korn %								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	11,07	11,03	10,56	10,89	10,46	10,24	10,38	10,36
Heder	10,59	10,53	11,96	11,03	11,52	11,48	10,73	11,25
Tyra	10,20	10,26	10,34	10,26	10,46	11,10	10,89	10,82
Helium	11,83	11,25	10,61	11,23	12,18	10,86	11,17	11,40
Gj.snitt	10,92	10,77	10,87	10,85	11,16	10,92	10,79	10,96

Tabell 7.23 Avling målt i kg tørrstoff/ daa

Avling kg tørrstoff / daa								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	472,76	459,61	452,06	461,48	444,79	491,98	458,22	465,00
Heder	480,67	500,30	499,75	493,57	465,02	496,59	461,09	474,24
Tyra	457,96	490,78	457,80	468,85	410,96	450,79	462,52	441,42
Helium	518,79	522,27	470,96	504,01	529,69	539,29	512,69	527,22
Gj.snitt	482,54	493,24	470,14	481,98	462,62	494,66	473,63	476,97

Tabell 7.24 Avling målt i kg nitrogen/ daa

Avling kg N i korn/ daa								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	7,91	7,81	7,45	7,72	7,77	8,35	7,85	7,99
Heder	8,26	8,49	8,42	8,39	7,78	8,33	7,47	7,86
Tyra	8,19	9,05	8,05	8,43	7,08	8,18	8,16	7,81
Helium	8,85	8,64	7,52	8,34	8,78	8,94	8,31	8,68
Gj.snitt	8,30	8,50	7,86	8,22	7,85	8,45	7,95	8,08

Tabell 7.25 Avling målt i kg protein/ daa

Avling kg protein / daa								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	49,44	48,79	46,58	48,27	48,57	52,20	49,08	49,95
Heder	51,62	53,06	52,64	52,44	48,63	52,07	46,68	49,13
Tyra	51,20	56,57	50,32	52,70	44,23	51,12	51,00	48,78
Helium	55,33	54,03	46,97	52,11	54,85	55,87	51,95	54,22
Gj.snitt	51,90	53,11	49,13	51,38	49,07	52,82	49,68	50,52

Tabell 7.26 Avling målt i kg stivelse/ daa

Avling kg stivelse / daa								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	268,16	259,22	257,52	261,63	251,46	279,07	259,85	263,46
Heder	275,00	284,26	288,35	282,54	265,69	285,08	265,87	272,21
Tyra	260,03	275,37	258,87	264,76	232,63	253,25	260,19	248,69
Helium	293,93	295,91	269,17	286,33	301,06	304,76	290,71	298,84
Gj.snitt	274,28	278,69	268,48	273,81	262,71	280,54	269,16	270,80

Tabell 7.27 Andel av rute med sein legde i %, registrert den 6. september

Sein legde % 6/9								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	0,00	0,00	0,00	0,00	1,67	0,00	0,00	0,56
Heder	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tyra	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Helium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gj.snitt	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,00	0,00	0,14

Tabell 7.28 Vanninnhold i korn ved høsting målt i %.

Vanninnhold i korn ved høsting i %								
	Usmittet såkorn fra Apelsvoll				Smittet såkorn fra Kvithamar			
	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt	Ubehandlet	Celest	Kinto	Gj.snitt
Tiril	14,63	14,05	13,83	14,17	14,44	13,95	14,24	14,21
Heder	17,91	13,34	16,02	15,76	15,07	15,25	14,39	14,90
Tyra	16,65	16,16	18,25	17,02	17,61	15,89	19,50	17,67
Helium	18,55	18,47	16,90	17,97	18,58	17,02	18,40	18,00
Gj.snitt	16,93	15,50	16,25	16,23	16,43	15,53	16,63	16,20