



Forord

Denne masteroppgaven ble skrevet ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, fakultet for veterinærmedisin og biovitenskap, ved institutt for plantevitenskap (IPV). Oppgaven er en avslutning på masterstudiet i plantevitenskap, med fordypning i plantepatologi. Oppgaven er skrevet i samarbeid med Bioforsk Plantehelsetilstand og Kimen såvarelaboratoriet AS. Laboratorieanalyser ble gjort på Kimen og Bioforsk med hjelp fra laboratoriepersonalet ved de respektive arbeidsplasser. Jeg vil takke for økonomisk støtte fra Felleskjøpet AS og Strand Unikorn, som bidro til mulig gjennomføring av flere analyser. Jeg vil også takke Yara Norge AS for et stipend på 50 000 kroner i 2013, som også har bidratt til at vi kunne gjøre flere analyser.

Jeg vil også takke min hovedveileder Anne Marte Tronsmo ved NMBU og Bioforsk, og mine medveiledere Birgitte Henriksen ved Kimen og Heidi Udnes Aamot ved Bioforsk. Med en spesiell takk til medveileder Guro Brodal ved Bioforsk for fantastisk veiledning og gode råd på veien. I tillegg vil jeg takke Torfinn Torp ved Bioforsk for hjelp med utførelse av statistiske analyser. Takk for at dere alle har svart utallige på e-poster, fulgt opp spørsmål på møter og delt av kunnskap deres.

Ås, desember 2014

Margit Oami Kim

Sammendrag

I de senere årene har spiringsfusariose forårsaket av *Fusarium*- og *Microdochium*-sopper medført mangel på norskprodusert såkorn av god kvalitet, spesielt i havre. Det er derfor behov for mer kunnskap om betydning og overlevelse av disse soppene på såkorn. Det er observert at *Fusarium* og *Microdochium* på korn kan dø relativt raskt og at dårlig spireevne har «tatt seg opp» i løpet av noen måneder på lager. Formålet med oppgaven var å kartlegge hvor raskt en slik endring eventuelt skjer og om dette kan bidra til at verdifulle såkornpartier som i utgangspunktet ikke holdt kravene til sertifisering, likevel kan bli godkjent gjennom en ny analyse etter en tids lagring. Denne oppgaven omhandler resultater fra laboratorieanalyser, felt- og veksthusforsøk gjort for å kartlegge hvordan lagring påvirker spireevnen og infeksjonsgraden av spiringsfusariose i et utvalg såkornpartier av bygg, havre og vårhvete. Oppgavens hovedhypotese var at spireevnen til såkorn med høy *Fusarium* og *Microdochium* infisering øker gjennom lagring, og at infiseringsgraden reduseres. Såkornet ble lagret i 15 måneder, hvorav en porsjon ble lagret på 5°C fra femte lagringsmåned og ut lagringsperioden, mens det resterende såkornet ble lagret på 15°C i hele perioden. Analyser ble gjennomført ved oppstart i oktober 2012, og deretter i februar-, september- og desember 2013.

I prøvene av sterkt infiserte såkornparti av bygg ble det funnet en høy gjennomsnittlig spireprosent som holdt seg stabilt over 85 % gjennom 15 måneders lagring, både i prøver lagret på 15°C og 5°C. Gjennomsnittlige smittegrad i bygg ble redusert fra 50 % ved start til 33 % etter fem måneders lagring, og til 35 % etter 15 måneder. I prøvene av havre økte gjennomsnittlig spireprosent de første fem månedene, fra 81 % ved start til 84 % etter fem måneders lagring, og til 87 % etter 15 måneder for prøver lagret på 15°C. For havreprøver lagret på 5°C var spireprosenten på samme nivå etter 15 måneders lagring, som ved start. For havre ble gjennomsnittlige smittegrad redusert fra 60 % ved start til 46 % etter fem måneders lagring, og til 27 % etter 15 måneder. I motsetning til i bygg og havre var det i vårhvete en reduksjon i gjennomsnittlig spireprosent i løpet av de fem første lagringsmånedene, fra 79 % ved start til 65 %. Det var ingen vesentlig forskjell for prøver av vårhvete lagret på 15°C og 5°C, og ingen ytterligere endring fram til siste lagringsmåned. Smittegraden i vårhvete ble kun svakt redusert fra 58 % ved start til 50 % etter 15 måneders lagring. Beising med fludioksonil hevet spireprosenten til over 85 % i de fleste partiene og analysetidspunktene for vårhvete. Vi kan konkludere med at ved å lagre infiserte såkornpartier av havre i opp mot et halvt år, er det muligheter for at spireprosenten forbedres, og dermed at en eventuell sertifisering etter en ny analyse er mulig.

Ved molekylær analyse (qPCR) for sopparter i såkornprøvene var det *M. majus* som dominerte den totale infeksjonen i bygg og vårhvete, mens *F. graminearum* dominerte i havre. *F. graminearum* var også den dominerende *Fusarium*-arten i bygg og vårhvete. Mykotoksinet deoksynivalenol (DON) ble påvist i alle partiene av bygg, havre og vårhvete, med høyest forekomst i havre, men kun i bygg var det antydning til sammenheng mellom mengde DON og spireprosent. Det var også en viss korrelasjon mellom mengde *F. graminearum* og spireprosent i bygg.

Abstract:

In recent years, *Fusarium*- and *Microdochium*-infection have led to a shortage of Norwegian seed lots with high quality seeds, especially of oats. It is a need for improved knowledge about the impact and survival of these pathogens on cereal seeds. Observations that *Fusarium*- and *Microdochium*-fungus dies relatively fast in cereal seeds has been made, and that germination rates has increased during few months of storage. Currently, few studies about this are available. The aim of this study was to find out how fast these changes might occur, and if this can contribute to saving some of the seed lots, initially not suitable for certification, through a new analysis after a period of storage. This thesis include results from laboratory analysis, field- and greenhouse experiments, performed to find out how storage affects germination- and infection rates by *Fusarium* and *Microdochium* in seeds of barley, oat and spring-wheat. The main hypothesis was that germination rates in cereal seeds with high amounts of *Fusarium* and *Microdochium* can increase during storage, and that infection levels decreases. The seeds where stored for 15 months, where one portion of the seeds were stored at 5°C from the fifth month, while the rest of the seeds where stored at 15°C for the entire experiment. Analysis was performed for the first time in October 2012, then in February-, September- and December 2013.

In the infected seed lots of barley, a high mean germination rate where visible, which stayed stable and above 85 % through 15 months of storage, both in seeds stored at 15°C or 5°C. Mean infection level in barley was reduced from 50 % at the beginning to 33 % after five months of storage, and to 35 % after 15 months. The mean germination rates for oats increased during the first five months of storage, from 81 % to 84 %, and further to 87 % after 15 months for seeds stored at 15°C. For oat seeds stored at 5°C, the mean germination rates were unchanged. Infection levels in oats were reduced from 60 % at the start to 46 % after five months of storage, and to 27 % after 15 months. In opposite to in barley and oats, the mean germination rates for spring-wheat was reduced during the five first months of storage from 79 % at the start, to 65 %, with no difference between the two temperature treatments. Mean infection levels in spring-wheat became only slightly reduced from 58 % at the start to 50 % after 15 months of storage. Chemical treatment with fludioxonil increased the mean germination rates to levels over 85 % for most of the seed lots of spring-wheat within every month of analysis. We can conclude that it is possible to improve the germination rates by storing infested seed lots of oats for about six months, which might lead to certification after a new analysis.

By molecular analysis (qPCR) for fungal species in the seed lots, *M. majus* was found to dominate the total infection in seeds of barley and spring-wheat, while *F. graminearum* dominated in oats. *F. graminearum* was also the most abundant *Fusarium*-species in barley and spring-wheat. The mycotoxin deoxynivalenol (DON) was detected in all seed lots of barley, oat and spring-wheat, with the highest levels in oats. A slight correlation between amount of DON and germination rates were only visible for barley, where also a slight correlation between the amount of *F. graminearum* and germination rates were detected.

Innholdsfortegnelse

1	Innledning.....	11
1.1	Så Kornkvalitet.....	11
1.2	Laboratorieanalyser for såkornkvalitet.....	12
1.3	Siste års utfordring med infeksjon av <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i norsk såkorn	13
1.4	Sopp sykdommer som kan skade spireevnen	14
1.4.1	<i>Fusarium spp.</i>	15
1.4.2	<i>Microdochium spp.</i>	16
1.5	Symptomer og skader forårsaket av fusarioser	17
1.6	Mykotoksiner:	18
1.7	Behandling mot frøoverførte sykdommer	19
1.8	Økt spireevne og redusert fusariose-infeksjon under lagring.....	20
1.9	Oppgavens formål:	21
2	Materiale og metoder.....	23
2.1	Såkornmaterialet.....	23
2.2	Lagringstid og tidspunkt for analyser.....	24
2.3	Spireanalyser	26
2.4	Soppanalyser	27
2.4.1	«Agarmetoden»	28
2.4.2	«Doyermetoden» (symptomer fra spireskadende sopp)	29
2.4.3	Molekylær metode for bestemmelse av sopparter i såkornet	30
a)	Prøveforberedelse:.....	30
b)	Ekstraksjon av DNA fra soppmycel	30
c)	Ekstraksjon av DNA fra såkorn.....	32
d)	Påvisning av <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> med kvantitativ PCR (qPCR).....	33
2.5	Feltforsøk	34
2.6	Veksthusforsøk.....	35
2.7	Mykotoksinanalyser	36
2.7.1	Kvantifisering av DON (deoxynivalenol)	36
2.7.2	Kvantifisering av HT-2 og T2	36
2.8	Statistiske analyser:	37
3	Resultater.....	39
3.1	Spireevne i såkorn ved lagring	39
3.1.1	Effekt av lagring på spireprosenten.....	39
3.1.2	Effekt av prøvebeising på spireprosenten.....	49
3.1.1	Spireprosent i veiledningsprøven ved start, og etter lagring i 7 måneder	52

3.2	Spireskadende sopper (<i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i>) i såkorn ved lagring.....	55
3.3	Resultater fra «Doyermetoden».....	55
3.4	«Agarmetoden»	61
3.5	Kvantifisering og identifisering av sopp i såkorn med qPCR	70
3.6	Sammenheng mellom spireevne registrert i felt og på laboratoriet.....	72
3.6.1	Sammenligning av oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn, og såkorn lagret på 5°C og 15°C sådd i felt.....	76
3.7	Sammenligning av oppspiring registrert i veksthus og på laboratoriet	76
3.7.1	Sammenligning av oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn, og såkorn lagret på 5°C og 15°C sådd i veksthus	80
3.8	Mykotoksinanalyser	80
3.8.1	Samsvar mellom spireprosent og mengde sopp eller toksin i bygg.....	82
4	Diskusjon.....	85
4.1	Endring i spireprosent ved lagring	85
4.2	Endring i smittegrad ved lagring	87
4.3	Veiledningsprøver	89
4.4	Effekt av beising på spireprosenten.....	90
4.5	Kvantifisering (qPCR) av <i>Microdochium spp.</i> og <i>Fusarium spp.</i>	91
4.6	Innhold av mykotoksiner.....	92
4.7	Oppspiring i feltforsøk	92
4.8	Oppspiring i veksthusforsøk.....	93
5	Konklusjon	94
6	Kilder.....	97
	Vedlegg 1: Spireresultater for ubeiset bygg	I
	Vedlegg 2: Spireresultater for beiset bygg	II
	Vedlegg 3: Spireresultater for ubeiset havre	III
	Vedlegg 4: Spireresultater for beiset havre	IV
	Vedlegg 5: Spireresultater for ubeiset vårhvete	V
	Vedlegg 6: Spireresultater for beiset vårhvete	VI
	Vedlegg 7: Smittegrad (% spireskader) i bygg med Doyermetoden	VII
	Vedlegg 8: Smittegrad (% spireskader) i havre med Doyermetoden	VIII
	Vedlegg 9: <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i bygg registrert med Agarmetoden	IX
	Vedlegg 10: <i>Fusarium spp.</i> i bygg registrert med Agarmetoden	X
	Vedlegg 11: <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i havre registrert med Agarmetoden.	XI
	Vedlegg 12: <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i havre registrert med Agarmetoden.	XII

Vedlegg 13: <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i vårhvete med registrert Agarmetoden.	XIII
Vedlegg 14: <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> i vårhvete med registrert Agarmetoden.	XIV
Vedlegg 15: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter i hvert enkelt parti av bygg.	XV
Vedlegg 16: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter fordelt på partier av havre.	XVI
Vedlegg 17: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter fordelt på partier av vårhvete.	XVII
Vedlegg 18: Leddliste og forsøksplan for ubeiset bygg.	XVIII
Vedlegg 19: Leddliste og forsøksplan for ubeiset havre.	XIX
Vedlegg 20: Leddliste og forsøksplan for ubeiset vårhvete.	XX
Vedlegg 21: Leddliste og forsøksplan for feltforsøk med beisete prøver.	XXI
Vedlegg 22: Oppspiring (%) for bygg fra feltforsøk.	XXII
Vedlegg 23: Oppspiring (%) for havre fra feltforsøk.	XXIII
Vedlegg 24: Oppspiring (%) for vårhvete fra feltforsøk.	XXIV
Vedlegg 25: Oppspiring (%) for bygg fra veksthus.	XXV
Vedlegg 26: Oppspiring (%) for havre fra veksthus.	XXVI
Vedlegg 27: Oppspiring (%) for vårhvete fra veksthus.	XXVII
Vedlegg 28: Tillaging av standardkurve for <i>M. majus</i> og <i>M. nivale</i>	XXVIII
Vedlegg 29: Oppsett for fortynningsplate til bruk ved påvisning av <i>Fusarium spp.</i> og <i>Microdochium spp.</i> med kvantitativ PCR (qPCR).	XXIX

1 Innledning

Såkorn er grunnleggende for all kornproduksjon, derfor er det helt nødvendig med tilgang på nok såkorn av god kvalitet. Gjennom håndtering og behandling av såkornet må det tas hensyn til at det er et levende materiale. I stortingsmelding nr 9. 2011-2012 ble det vedtatt at Norge skal ta sikte på å øke kornproduksjonen med 20 % innen 2030. Et viktig ledd for å nå dette målet er å øke norsk såkornproduksjon, både for å øke tilbudet av norsk såkorn, og for å øke det norske beredskapslageret for såkorn (Meld. St. 11 2011-2012). De siste årene har lav spireevne og høy forekomst av frøbårne sykdommer ført til at tilbudet av sertifisert norsk såkorn har vært lavere enn etterspørselen. I motsetning til dette var 2013 et godt år for norsk såkornproduksjon. Kornhøsten gav gode avlinger på grunn av godt vær, og spireskadende sopp som har vært en stor utfordring i norsk kornproduksjon de foregående årene, var ikke et stort problem (Graminor AS 2013).

Metoder for å redusere skadeomfanget av frøbårne sykdommer bidrar til fremtidig matsikkerhet. Hovedfokuset i denne oppgaven har vært å kartlegge eventuell sammenheng mellom infeksjon av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* og spireevne i såkorn av bygg (*Hordeum vulgare*), havre (*Avenae sativa*) og vårhvete (*Triticum aestivum*), og hvordan soppen overlever i såkornet gjennom lagring.

1.1 Såkornkvalitet

Produksjon og handel med såvarer er regulert i Forskrift om såvare og foregår på kontrakt med en såvareforretning (Forskrift om såvare 1999). Formålet med forskriften er å sikre tilgang på såvare av best mulig kvalitet. Sertifisert såvare som omsettes er dyrket under offentlig kontroll av Mattilsynet, som foretar en kontroll dyrking og en vekstkontroll av såvare materialet (Mattilsynet 2012). En laboratorieanalyse av såvarekvaliteten (spireevne, renhet og sunnhet) blir så gjort på Kimen såvarelaboratoriet AS (heretter kalt Kimen) på Ås. På grunnlag av resultater fra kontroll dyrking, vekstkontroll og laboratorieanalyser sertifiseres såvarepartier i henhold til fastsatte kvalitetskrav. Når såvaren er sertifisert vil det si at alle kravene som er stilt til såkornkvalitet fra det offentlige er oppfylt (Mattilsynet 2012).

Laboratorieanalysene av såvarekvalitet utføres etter metoder akkreditert av den internasjonale frøkontrollorganisasjonen International Seed Testing Association (ISTA). Såkornkvaliteten

skal alltid måles på et representativt utvalg av såkornpartiet for å få et så helhetlig bilde av situasjonen som mulig. Dette er viktig for å unngå å risikere å forkaste et godt såkornparti, eller så ut et som er dårlig. Offentlig såkornanalyse er derimot ikke lovpålagt for såkorn til privat bruk, men det anbefales at såkorn som tas fra egen produksjon også analyseres for å unngå bruk av såkorn med dårlig kvalitet (Tangerås 2005).

1.2 Laboratorieanalyser for såkornkvalitet

Laboratorieanalysene utføres under nøye kontrollerte forhold av erfarne laboratoriemedarbeidere etter standardiserte metoder og internasjonalt regelverk for analysemetodikk (International Seed Testing Association 2013a; Kimen n.d.). De tre parameterne som analyseres på laboratoriet er som følger:

1) Renhetsanalyse:

I en renhetsanalyse bestemmes såkornpartiets prosentvis andel renfrø, frø av andre arter, ugressfrø og fremmedlegemer (Kimen n.d.). Norske kvalitetskrav til renhet for ikke-økologisk såkorn som er satt av såvareforskriften er 99,2 % (Forskrift om såvare, 1999).

2) Spireanalyse:

I spireanalysen estimeres det maksimale spiringspotensialet (andelen av normale spirer og friske uspirte frø) til et såvareparti. Spireevnen blir oppgitt i prosent, og er andelen såkorn fra såkornprøven som spirer og utvikler alle plantedelene som er nødvendig for å overleve under normale forhold (Kimen n.d.). Reglene omfatter krav til spiremedium, belysning og andre forhold som påvirker spiringen. Spireevnen analyseres for både ubeiset og prøvebeiset såkorn (Kimen n.d.). Beising er behandling av såkorn med et soppdrepende preparat (fungicid), og kan, ved å drepe soppsmitte, øke spireprosenten til et nivå som er tilfredsstillende for sertifisering.

Minimumskravet til spireevne for såkorn av bygg, havre og hvete til sertifisering er 85 % (Forskrift for såvare 1999).

3) Sunnhetsanalyse:

Mange viktige kornsykdommer følger såkornet og kan forårsake dårlig spiring, bladflekker og/eller dårlig aksutvikling, og dermed redusere både mengde og kvalitet av avlingen. I sunnhetsanalysen undersøkes det om såkornet er angrepet av sykdommer. Dette inkluderer også bedømmelse av eventuelt behov for

beising/behandling av såkornet for å drepe sykdomssmitte. Behovet for beising/behandling vurderes ut fra anbefalte smitteterskler (Brodal et al 1997). Viktige frøoverførte sykdommer i Norge er spiringsfusariose (*Fusarium spp./Microdochium spp.*), stripesjuka (*Drechslera graminea*), byggbrunfleck (*Drechslera teres*), havrebrunfleck (*Drechslera avenae*), hveteaksprikk (*Stagonospora nodorum*) og naken sot i bygg (*Ustilago nuda*), naken sot i havre (*U. avenae*) og stinksot i hvete (*Tilletia caries*) (Brodal et al. 2009). Rutineanalysene inkluderer sykdommene byggbrunfleck, havrebrunfleck, hveteaksprikk og spiringsfusariose, og resultater oppgis i prosent infiserte korn.

1.3 Siste års utfordring med infeksjon av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i norsk såkorn

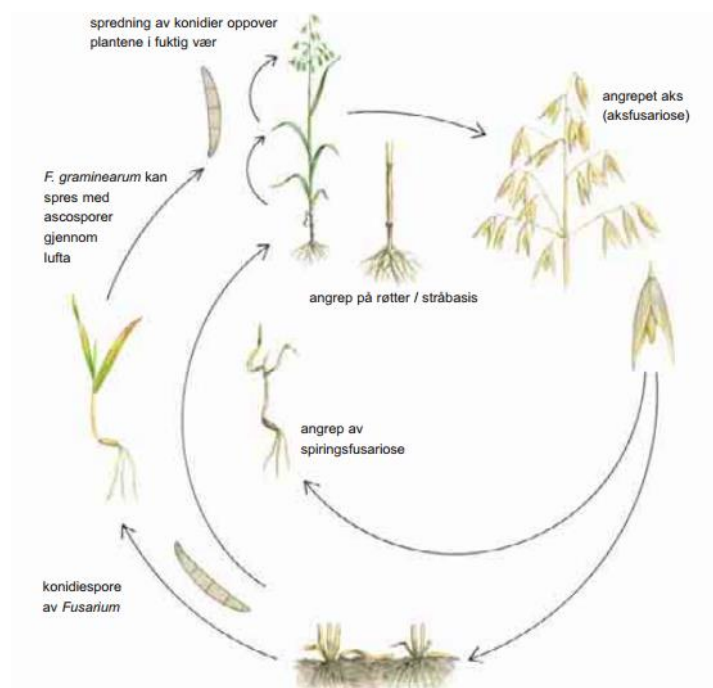
Årsaken til at det i de siste årene har vært vanskelig å skaffe nok sertifisert såkorn i Norge, da spesielt såkorn av havre, har skyldtes lav spireevne forårsaket av høy smittegrad av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* (Kimen 2011, 2012). For sertifisering må spireprosenten til såkorn være minst 85 % (Forskrift om såvare 1999). I 2011 hadde 1/3 av det norske havresåkornet en spireprosent på under 85 % som gjorde at partiene ikke kunne godkjennes som sertifisert såkorn. Når det gjaldt forskjell i smittegrad mellom de ulike sortene av havre som dyrkes i Norge, var det lite forskjell (Kimen 2011). I 2012 var smitten av *Fusarium/Microdochium* fremdeles høy i havre. Beising gav heller ikke tilfredsstillende spiring i havre fordi det ikke lykkes med å fjerne infeksjon inni kornet. Dette resulterte i at bare under halvparten av norsk havresåkorn som var produsert ble sertifisert som såvare i 2012 (Kimen 2012). For vårhvete var beisebehovet høyt i 2011 på grunn av mye *Fusarium/Microdochium*-smitte, og gjennomsnittlig økning i spireevne etter beising var fra 82 % til 89 % (Kimen 2011). I 2012 var *Fusarium*-smitten i vårhvete fremdeles høy, og beisebehovet stort. For vårhvete virket beising svært godt, og man lyktes som regel med å øke spireprosenten til et tilfredsstillende nivå (Kimen 2012). Såkorn av bygg var også relativt mye angrepet av *Fusarium/Microdochium* i 2011, også her var det lite forskjell i smittenivå mellom de ulike sortene (Kimen 2011). I 2012 var beisebehovet fremdeles stort i bygg på grunn av mye *Fusarium/Microdochium*-smitte. I 2013 var smittenivået derimot lavt på grunn av ugunstige forhold for soppen i vekstsesongen, dette gjaldt både for såkorn av bygg, havre og vårhvete.

Unntaket var for bygget i Trøndelag som fremdeles har hatt høy smitte av *Fusarium/Microdochium* (Kimen 2013).

1.4 Soppsykdommer som kan skade spireevnen

Vanlig frøbårne sykdommer som kan overføres med såkornet er som nevnt spiringsfusariose, stripesjuka, byggbrunflekk, havrebrunflekk, hveteaksprikk og sotsykdommer. Alle sykdommene kan føre til store avlingstap, enten som følge av redusert spireevne, eller i form av angrep på planten senere i sesongen (Plantevernleksikonet 2009, 2012a-e, 2013). Hvis man sår ut infiserte frø kan man risikere at sykdommen blir jevnt fordelt i åkeren, og at sykdomsutviklingen vil starte tidlig. Tiltak som pløying og vekstskifte har ingen effekt på frøsmitte, så ved bruk av såkorn med infeksjoner over smittetersklene anbefales det at disse beises/behandles mot sykdom før utsåing (Brodal et al. 1997). Er smittegraden for stor anbefales det å forkaste såkornpartiet for å unngå uheldige følger (Brodal et al. 2009). Sopper som kan skade spireevnen er hovedsakelig *Fusarium spp.*, *Microdochium spp.* og *Bipolaris sorokiniana*. Sistnevnte, *B. sorokiniana*, er ikke inkludert i denne oppgaven.

Fusarium/Microdochium overlever i planterester i jorden og på såkorn, og noen *Fusarium*-arter kan også overleve som klamydosporer i jorden. Livssyklusen til *Fusarium spp.* i havre er vist i Figur 1.1.



Figur 1.1: Livssyklus til *Fusarium* i havre. Tegning Hermod Karlsen (Brodal et al. 2009).

Spredning skjer ved at sporer frigjøres i fuktige perioder og infiserer kornplanter ved hjelp av vannsprut og vind (Bockus et al. 2010; Mathre 1997).

Ved fuktige forhold i kornets senmodningsfase kan angrep i akset føre til infeksjon av kornet som modnes. Siden såkornet ofte ser friskt ut, er en laboratorietest nødvendig for å oppdage infeksjonen.

Fusarium og *Microdochium* er soppfamilier som er patogener på korn over hele verden (Bockus et al. 2010; Mathre 1997) og er svært vanlige på såkorn av både bygg, havre og hvete i Norge (Kimen 2011, 2012, 2013). Disse artene kan forårsake spiringsfusariose, fotsjuka, stråfusariose og aksfusariose, som igjen gir dårlige avlinger og lav kornkvalitet.

1.4.1 *Fusarium* spp.

Fusarium spp. ble påvist som et patogen på korn tidlig på 1900-tallet. Soppene ble tidlig studert i Norge i forbindelse med beising for å bedre såkornkvaliteten (Funder & Vik 1919; Krosby 1926). Artene *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* og *F. sporotrichioides* ble rapportert som de vanligste *Fusarium*-artene på norsk korn i 1945 (Jørstad 1945). Tidligere har *F. culmorum* vært den *Fusarium*-arten som oftest har blitt isolert fra norsk korn, men siden 2003 har denne blitt mindre vanlig (Sundheim et al. 2013).

I varmere klimasoner er *F. graminearum* det viktigste plantepatogenet i *Fusarium*-slekten, mens i kaldere klimasoner, inkludert i Norge, har *F. culmorum*, *F. poae* og *Microdochium* spp. dominert (Parry et al. 1995). I senere år har også *F. graminearum* fått en større betydning på grunn av økt forekomst, og er i dag et viktig plantepatogen i norsk kornproduksjon (Brodal et al. 2009; Sundheim et al. 2013). Økende forekomst av *F. graminearum* i korn de siste 10 årene har og blitt dokumentert i flere andre Nordeuropeiske land, blant annet Nederland (Waalwijk et al. 2003), Sverige (Fredlund et al. 2013) og Danmark (Nielsen et al. 2011).

Fusarium-slekten tilhører Ascomycota (sekksporesopper). Ascomycota har et teleomorft stadium (kjønnet), som produserer askosporer (sekksporer), og et anamorft stadium (ukjønnet) som produserer konidier. Til eksempel er *F. graminearum* det ukjønnete stadiet av *Gibberella zeae* (Moretti 2009). *Fusarium*-artene er primært klassifisert på bakgrunn av de ukjønnete sporene, som har en distinkt banan-form.

Fusarium spp. er en soppsekt som inkluderer over 17 arter (Parry et al. 1995). *Fusarium*-epidemier kan oppstå i år med fuktige perioder under blomstring og kornfyllingsfasene. De viktigste *Fusarium*-artene som infiserer kornet er *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* og *F. poae* (Parry et al. 1995), disse i tillegg til *F. langsethiae* er også de vanligst forekommende i Norge (Plantevernleksikonet 2012b). Noen av *Fusarium*-artene kan produsere mykotoksiner i kornet (Se kapittel 1.6).

1.4.2 *Microdochium spp.*

Før 1980 var *Microdochium spp.* kjent som *Fusarium nivale*, men en nærmere undersøkelse av sporene førte til at slekten ble omdøpt til *Gerlachia nivalis* (Gams & Müller 1980), før den så ble omklassifisert til *Microdochium* i 1983 (Samuels & Hallett 1983). *Microdochium* er det anamorfe stadiet av soppen, mens det teleomorfe stadiet er *Monographella nivalis*. Basert på sporemorfologi ble arten delt i to varieteter, var. *nivale* og var. *majus* (Gerlach og Nirenberg 1982). De to varieteter fikk senere, basert på molekylær fylogenetisk analyse, status som to arter, *M. nivale* og *M. majus* (Glynn et al. 2005). Begge *Microdochium*-artene er vanlig i korn, der *M. majus* ser ut til å dominere over *M. nivale* i bygg, havre og hvete (Nielsen et al. 2013; Simpson et al. 2000).

I likhet med *Fusarium spp.* angriper *Microdochium spp.* også alle kornartene. Soppen er vanligst i kalde og tempererte områder på den nordlige halvkule, samt i New Zealand og Australia (Gerlach & Nirenberg 1982). Her til lands er soppen utbredt over hele landet (Plantevernleksikonet 2013). I tillegg til at den forårsaker dårlig vinteroverlevelse i gress (Årsvoll 1973) er den også årsaken til at høstkorn har dårlig vinteroverlevelse. Ved infeksjon forårsaker *M. majus* og *M. nivale* snømugg og spiringsfusariose. Spredning skjer ved at soppen kan overleve som mycel på såkorn og i planterester i jorden. Soppene produserer sporer ved høy luftfuktighet, som kan infisere høstkorn under langvarig snødekke. Herfra kan soppen spre seg fra plante til plante så det infiserte området øker. Senere i vekstsesongen kan sopp fra overlevende planter spres med regnsprut og vind og infisere planter under blomstring, som da fører til aksfusariose i vårkorn (Brodal et al. 2009). Til forskjell fra arter i *Fusarium*-slekten er det ikke kjent at *Microdochium spp.* produserer mykotoksiner (Parry et al. 1995; Plantevernleksikonet 2013).

1.5 Symptomer og skader forårsaket av fusarioser

Både arter fra *Fusarium*- og *Microdochium*-slektene inngår i aksfusariosekomplekset (Plantevernleksikonet 2013). Aksfusariose forårsaker store avlingstap og dårlig kornkvalitet. Kornplantene er spesielt mottakelig for smitte under blomstring, men kan bli infisert helt frem til slutten av kornfyllingsfasen (Bergstrom 1993; McBeath et al. 1993). Symptomer i en sterkt infisert åker er aldrende og bleke agner hos hvete, mens agnene gjerne blir brune for havre og bygg. Med fuktig vær kan i tillegg hvitt-rosa mycelvekst sees i basis av akset og oransje sporeklumper dannes utenpå agnene. Ved sterk infeksjon i akset blir ofte kornene små, lette og kritthvite, og infiseres plantene rett etter blomstring dannes det ingen korn (Bergstrom 1993; Brodal et al. 2009; McBeath et al. 1993; Parry et al. 1995). I mange tilfeller er likevel *Fusarium*-angrep i åkeren vanskelig å oppdage fordi det ofte ikke er noen synlige symptomer på infeksjonen (Brodal et al. 2009).

Spiringsfusarioser forårsaket av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* fører til nedsatt spireevne, og utvikling av abnorme spirer som ofte ikke overlever etter spiring. Spiren utvikler ofte brune eller misfargete røtter og koleoptil, som bidrar til å gjøre planten svak (Plantevernleksikonet 2012). Er infeksjonen svak kan begrenset forråtnelse av primærrot og frøblader forekomme, og planten kan overleve tross infeksjon (Bergstrom 1993). Soppene finnes som mycel i skallet eller på agnene, og kan være tilstede som sporer utenpå kornet. Soppen kan så infisere kimen under spiringen, ofte i forbindelse med at frøet absorberer vann (Bergstrom 1993; McBeath et al. 1993). Det er ikke nødvendigvis en sammenheng mellom såkornets vekt og mengde infisering av *Microdochium spp.*, men ved infisering av *F. culmorum* var det derimot en sammenheng mellom såkornets vekt og prosent infeksjon, hvor mengden lette såkorn økte med mengden infisering (Hare et al. 1999). Men det vil likevel alltid være mange infiserte frø som ikke bærer tegn på sykdom (Bergstrom 1993). Som et resultat av lav spireevne og dårlig overlevelse av spiren, blir etableringen av plantene svak. Selv om fortetting i åkeren skjer ved busking vil dette kun til en viss grad kompensere for tapet hvis spireevnen er kraftig redusert (Humphreys et al. 1995).

Angrepsgrad av *Fusarium spp.* infeksjon i løpet av en vekstsesong avhenger hovedsakelig av værforhold og soppens inokulumpotensial (Parry et al. 1995). Den viktigste smittekilden er infiserte planterester i jorden (Bateman 2005), men smitte overføres også med infisert såkorn (Champeil et al. 2004; Duthie & Hall 1987). Spiringsfusariose er rapportert i hovedsak å være forårsaket av frøbåren smitte av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* (Parry et al. 1995).

Sykdomsutviklingen avhenger av varm, relativt tørr jord, og en svak spire (Bergstrom 1993). Det er ikke vist at infisert såkorn er en direkte årsak til at akset blir infisert senere i sesongen, og infeksjonen har ikke nødvendigvis noen direkte effekt på kornkvaliteten til plantene som dannes av infiserte korn (Duthie & Hall 1987; Humphreys et al. 1995), men infisert såkorn vil bidra til smittepotensialet i en åker (Bergstrom 1993).

1.6 Mykotoksiner:

Mykotoksiner er giftige kjemiske forbindelser (sekundære metabolitter) som produseres av enkelte sopparter. I norsk korn er *Fusarium spp.* den viktigste produsenten av mykotoksiner (Bernhoft et al. 2013). På grunn av soppens evne til å utvikle mykotoksiner har aksfusariose blitt en av de viktigste sykdommene på hvete (McMullen et al. 1997; Miller 2008). Toksinene dannes i angrepne kornaks i løpet av kornfyllingen (Yoshida & Nakajima 2010) og kan også utvikles videre ved lagring av korn som har et vanninnhold fra 19-20 % og høyere (Birzele et al. 2000). Hvis korn som er sterkt forurenset av mykotoksiner benyttes som matkilde eller til fôr kan det gi store helserisikoer, inkludert redusert fertilitet, lavere immunforsvar og dårlig fôropptak (D'Mello et al. 1999). Siden inntak av *Fusarium*-toksiner utgjør en helserisiko for både mennesker og dyr er det satt grenseverdier for innhold av disse i korn og kornprodukter. Grenseverdiene er satt av Mattilsynet (Mattilsynet 2007), og er i henhold til EUs regelverk. Av størst betydning er trichothecenet deoxynivalenol (DON) som både blir produsert av *F. graminearum* og *F. culmorum* (Bottalico 1998). DON er det vanligste mykotoksinet vi finner i norsk korn, og forekommer i nesten alle norske kornprøver (Bernhoft et al. 2013). Toksinene HT-2 og T2 er også vanlige mykotoksiner i norsk korn og produseres blant annet av *F. langsethiae* (Thrane et al. 2004). Toksinene forekommer oftest i havre, men også i bygg (Bernhoft et al. 2013).

Produksjon av DON og andre trichothecener er ikke en nødvendighet for at soppen kan påvirke spire- og rotsykdomsutviklingen (Homdork et al. 2000; Tekle et al. 2013; Wang et al. 2006). Av norske kornarter er det havre som inneholder de største forekomstene av trichothecener, mens nivået er lavere i bygg og hvete (Bernhoft et al. 2013; Langseth & Rundberget 1999). Siden mykotoksiner er varmemestabile brytes de ikke ned ved hjelp av varmebehandling av mat. Mykotoksiner i korn fører og til andre industrielle problemer, som redusert proteinnivå og glutenkvalitet, og ekstrem skumdannelse i øl brygget på *Fusarium*-infisert korn (Parry et al. 1995).

1.7 Behandling mot frøoverførte sykdommer

Den vanligste metoden for behandling av frøoverførte sykdommer er å benytte kjemiske beisemidler. Når kjemisk behandling av frø ble oppdaget var dette et stort steg i positiv retning for plantedyrkerne. Beisemidler gjorde det mulig å sikre god etablering av plantebestanden, og økte dermed den økonomiske tryggheten til bøndene. Innen planteforedling ble det deretter mer lønnsomt å fokusere på å avle frem sorter med andre kvaliteter enn sykdomsresistens, siden bruk av beisemidler er en billig måte for bøndene og sikre avlingen (Mathre, D. E. et al. 2001). For at beisemidlene skal virke effektivt mot soppangrep må de komme i direkte kontakt med, og dekke alle såkornene. Beisemidler er som regel ikke flyktige, så kontakten må sørges for ved hjelp av god blanding. Dårlig virkning av beisemidler er som oftest resultat av ufullstendig dekking. Midler som absorberes inn i såkornet (systemiske soppmidler), kan påvirke såkornets fysiologiske prosesser og dets spireevne og levedyktighet (Smiley et al. 2002). Selv om beisemidler har vært svært effektivt som behandlingsmetode på såkorn har bruken noen negative sider. Ingen beisemidler virker mot alle patogener som såkornet kan bli utsatt for, og en må derfor velge det middelet som virker mot patogenet som forårsaker mest skade (Mathre, D. E. et al. 2001). Fludioksonil har i flere år vært det mest brukte beisemidlet på norsk såkorn (Celest®). Middelet er systemisk kontaktvirkende, og virker mot stinksot, hveteaksprikk og spiringsfusarioser (Syngenta Crop Protection AG n.d.). West et al. (2001) viste at fludioksonil virket effektivt mot frøbåren *M. nivale* infeksjon, økte oppspiringen av infiserte frø og reduserte infeksjonen av *M. nivale* i spirer og unge hvetepanter.

Et alternativ til bruk av beisemidler som såkornbehandling, er en ny teknologi kalt Thermoseed®. Et Thermoseed®-anlegg ble i 2012 for første gang tatt i bruk i Norge, hos Felleskjøpet Agri på Holstad i Ås. Ved behandling av såkorn med varm damp, dreper sopp som har infisert såkornet (Forsberg 2004). Thermoseed® er et miljøvennlig alternativ til beising, som i tillegg gir lettere håndtering av såkornet for bonden (Felleskjøpet Agri 2014).

1.8 Økt spireevne og redusert fusariose-infeksjon under lagring

Det har tidligere blitt observert at *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* infeksjon i norsk såkorn har blitt redusert samtidig som spireevnen har økt etter en periode med lagring. Dette ble blant annet erfart i «Smitteterskelprosjektet» gjennomført i Landbrukstilsynet på 1990-tallet (Brodal et al. 1997). I enkelttilfeller er det også observert i forbindelse med utvelgelse av tilsynelatende sterkt *Fusarium/Microdochium*-infriserte såkornpartier til forsøk, at soppsmitten er mer eller mindre forsvunnet og at lav spireprosent har gått opp, i løpet av noen måneder (Håkon Tangerås, pers med). Dersom dette er et vanlig «fenomen» vil det kunne bety at noen såkornpartier som i utgangspunktet ikke kan godkjennes som sertifisert såkorn, kanskje allikevel kan være gode nok etter en lagringsperiode. Det er ikke publisert mange vitenskapelig undersøkelser av denne problemstillingen i senere tid, men det finnes noen eldre studier.

For over 50 år siden, rapporterte Christensen (1963) i en amerikansk undersøkelse om en rask nedgang i smittenivå av *Fusarium spp.* i bygg, og i en oversiktsartikkel beskrev Christensen og Kaufmann (1965) at ved gode lagringsforhold vil *Fusarium* vanligvis dø i løpet av få måneder. I en undersøkelse av *Fusarium*-infeksjon i nederlandsk såkorn beskrev De Tempe (1964) at smittenivået av *Fusarium*-sopp ble mer enn halvert etter omtrent ett års lagring. I England viste Hewett (1967) at levedyktigheten hos *Fusarium*-sopper på hvete var omtrent halvert etter 5-8 måneders lagring i romtemperatur, der smittenivået av *F. avenaceum* ble noe raskere redusert enn *F. culmorum* og *F. poae*.

I en dansk undersøkelse (Jørgensen 1970) med lagring av bygg oppbevart med 19 % vanninnhold i 28 uker, ble det funnet en tilnærmet halvering av forekomsten av *Fusarium spp.*, men samtidig ble spireevnen betydelig redusert, fra 98 % til 72 %. Dette ble forklart med et relativt høyt vanninnhold, som fremmet kraftig utvikling og skader av lagersoppene *Aspergillus spp.* og *Penicillium spp.*. Bergstrom (1993) observert at spireevnen kan øke etter noen måneders lagring i såkorn som er svakt infisert av *F. graminearum*. Homdork et al. (2000) fant en uendret til liten økning i spireevnen hos *Fusarium*-infrisert hvete ved relativt varm og tørr lagring (25°C/62% relativ luftfuktighet), men at *Fusarium*-infeksjonen gikk raskt ned. Inch og Gilbert (2003) fant derimot i sin studie at *F. graminearum* overlevde og beholdt smittepotensialet (kunne produsere ascosporer) fra infiserte korn som lå på jordoverflaten i opptil to år.

1.9 Oppgavens formål:

Hovedformålet med denne oppgaven var å kartlegge hvordan spireevnen til et utvalg av såkornpartier av bygg, havre og vårhvete infisert med *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* påvirkes gjennom en lagringsperiode, samt undersøke overlevelsen av disse soppene gjennom lagringsperioden. Videre er det undersøkt om temperatur under lagring har innflytelse på spireevne og overlevelse av soppssmitte på såkorn, og om det er samsvar mellom spireprosent i laboratorieanalyser og ved oppspiring i jord. Undersøkelsene inkluderte også kvantifisering av soppssmitte med molekylærbiologisk metode, samt analyser for innhold av mykotoksiner.

Hypoteser:

- Spireevnen i såkorn av bygg, havre og hvete infisert med *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* øker ved lagring av såkorn.
- Smittegraden av *Fusarium* og *Microdochium* reduseres ved lagring av såkorn.
- Lagringstemperaturen har betydning for soppens overlevelse og såkornets spireevne.
- Spireprosent fra laboratorieanalyser er en god indikator for oppspiring i felt og i veksthus.
- Det er god sammenheng mellom smittegrad av *Fusarium* og *Microdochium* påvist ved tradisjonell morfologisk laboratorieanalyse og kvantifisering av soppene ved molekylærbiologisk analyse.

2 Materiale og metoder

For å undersøke eventuelle endringer i såkornkvalitet ved lagring ble det gjennomført laboratorieanalyser for spireevne og smittenivå av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* på prøver fra en del såkornpartier av bygg, havre og vårhvete høstet i 2012. Analysene ble gjennomført hos Kimen. Kimen er medlem av den internasjonale frøkontrollorganisasjonen ISTA (International Seed testing Association) og er akkreditert for å utføre analyser etter internasjonale standardiserte metoder, ISTA-regler (ISTA 2013 a). En prøve (såkalt veiledningsprøve) av partiene ble analysert noen få uker etter høsting (oktober 2012), og deretter ble en «produksjonsprøve» av de samme partiene analysert på tre tidspunkt, henholdsvis februar, september og desember 2013 (total lagringsperiode på ca. 15 måneder). Spireevnen for delprøver av partiene ble ved de samme tidspunktene også analysert etter prøvebeising. Såkornpartienes oppspiring i jord ble registret i felt- og veksthusforsøk.

Prøvematerialet ble i tillegg analysert hos Bioforsk Plantehelse med molekylær metode for forekomst av ulike *Fusarium*- og *Microdochium*-arter, og for innhold av mykotoksinene DON, HT-2 og T2.

2.1 Såkornmaterialet

Materialet til forsøkene ble hentet fra Kimens lager med prøver av potensielle såkornpartier dyrket på kontrakt med såvareforretningene Felleskjøpet Agri og Strand Unikorn.

Såkornpartiene til forsøkene ble valgt ut fordi de hadde høy smittegrad av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* (Vedlegg 7, 8, 16 og 17). I alt var det 11 partier bygg, 10 partier havre og 12 partier vårhvete, hvorav ett parti for hver art var et tilnærmet friskt parti, med høy spireevne (Kontroll). Sorter innen hver art og partinummer er vist i Tabell 2.1. Alle såkornpartiene var rensset, og vannprosenten i såkornet varierte mellom 13-15 %.

Den første analysen (spireevne og sunnhet) av prøvematerialet ble gjort på såkalte veiledningsprøver som såkorndyrkere sender til Kimen rett etter høsting. Det er på bakgrunn av slike veiledningsanalyser at såvareforretningen velger hvilke partier med såkorn som skal tas inn til «såkornproduksjon». Såkornet som var til overs etter veiledningsanalysene ble lagret på Kimen frem til april, da det ble gjort nye analyser av disse prøvene. Disse prøvene

var imidlertid ikke store nok til flere analyser og gjennomføring av lagringsforsøk. Analysene fra februar til desember ble derfor gjort på såkornprøver som ble tatt ut av de samme partiene og sendt inn til ny analyse, i forbindelse med potensiell sertifisering av de aktuelle partiene.

Tabell 2.1: Partinummer og sorter for såkorn av bygg, havre og vårhvete brukt i forsøkene.

Bygg		Havre		Vårhvete	
Parti	Sort	Parti	Sort	Parti	Sort
1	Edel	1	Belinda	1	Bjarne
2	Edel	2	Belinda	2	Bjarne
3	Heder	3	Belinda	3	Bjarne
4	Heder	4	Haga	4	Bjarne
5	Heder	5	Odal	5	Bjarne
6	Helium	6	Hurdal	6	Demonstrant
7	Helium	7	Hurdal	7	Demonstrant
8	Tiril	8	Haga	8	Demonstrant
9	Iron	9	Haga	9	Demonstrant
10	Tyra	10: Kontroll	Belinda	10	Zebra
11: Kontroll	Helium			11	Zebra
				12: Kontroll	Bjarne

2.2 Lagringstid og tidspunkt for analyser

Såkornprøvene ble lagret i papirposer med porsjoner på 1-2 kilo på Kimen. De første fem månedene (oktober 2012– februar 2013) ble såkornet lagret på et generelt lager, med temperatur på 15°C. Prøvene ble etter analysene i februar 2013 delt i to porsjoner, hvor en del ble lagret på 5°C og den andre på 15°C. Luftfuktigheten på 15°C lageret varierte mellom 30-40 %, mens den var på 49 % i 5°C lageret. Ved hvert prøveuttak ble en delprøve beiset med fludioksonil (Celeste®). Analysetidspunkt, lagringsperioder og prøveidentitet (ID) for forsøksmaterialet framgår av Tabell 2.2, og Tabell 2.3 viser en oversikt over analyser som ble gjort av såkornpartiene ved de ulike lagringstidene/prøveuttakene.

Tabell 2.2: Oversikt over analysetidspunkter, lagringsperioder, og prøve ID for forsøksmaterialet. u=ubeiset, b=beiset med fludioksonil.

Analyse-tidspunkt	Total lagringstid (måneder)	Lagringstid ved 15°C, (måneder)	Lagringstid ved 5°C, (måneder)	Lagrings-temperatur	Ubeiset (u) eller beiset (b)	Prøve ID
Oktober 2012	0	0	0	15°C	u og b	0u 0b
Februar 2013	5	5	0	15°C	u og b	5u 5b
September 2013	12	12	-	15°C	u og b	12u15°C 12b15°C
September 2013	12	-	7	5°C	u og b	12u5°C 12b5°C
Desember 2013	15	15	-	15°C	u og b	15u15°C 15b15°C
Desember 2013	15	-	10	5°C	u og b	15u5°C 15b5°C

Tabell 2.3: Oversikt over analyser gjennomført ved ulike lagringstider/prøveuttak på såkorn av bygg, havre og vårhvete, fra oktober 2012 til desember 2013, ved 5°C og 15°C fra februar til desember 2013, 0 = ingen lagring, 5 = 5 måneders lagring, 12 = 12 måneders lagring, 15 = 15 måneders lagring, u=ubeiset, b=beiset med fludioksonil. Beiset såkorn ble ikke analysert for soppsmitte.

Bygg												
Analyser	0		5		12 15°C		12 5°C		15 15°C		15 5°C	
	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b
Spireanalyse	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Soppanalyse (symptomer)	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Soppanalyse (på agar)	-	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Havre												
Analyser	0		5		12 15°C		12 5°C		15 15°C		15 5°C	
	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b
Spireanalyse	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Soppanalyse (symptomer)	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Soppanalyse (på agar)	-	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Vårhvete												
Analyser	0		5		12 15°C		12 5°C		15 15°C		15 5°C	
	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b	u	b
Spireanalyse	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Soppanalyse (på agar)	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-

Som allerede beskrevet ble veiledningsprøvene (VF) analysert to ganger, en gang i oktober 2012 (VF 0u og VF 0b for henholdsvis ubeiset og beiset korn) og en gang i april 2013 (VF 7u og VF 7b for henholdsvis ubeiset og beiset såkorn).

2.3 Spireanalyser

Spireanalysene ble utført av Kimen i henhold til deres analysemetoder, akkreditert i henhold til ISTA- regler (International Seed Testing Association 2013a) og ISTAs håndbok for spireanalyser (International Seed Testing Association 2009). Spireanalysen ble hver gang gjort på to paralleller av hvert parti, det vil si for hver prøve ble 2 x 100 korn analysert ubeiset. Også 2 x 100 korn av hvert parti ble analysert etter prøvebeising.

Prøvebeising ble gjort med virkestoffet fludioksonil (Celest®). Om lag 30 gram korn ble veid ut og tømt over i en liten plastflaske sammen med en lapp med journalnummeret til den gitte prøven. I henhold til vanlig dosering (2 ml beis/kg såkorn) ble beisemiddelet pipettert over i flasken ved å la middelet renne ned flaskekanten. Deretter ble flasken forseglet og det hele ristet godt ved at flasken ble plassert på en «rotasjonsmaskin» i 5 minutter.

Kornet ble lagt ut på fuktet spirepapir (30 x 50 cm). På hvert papir ble 100 korn fordelt ved bruk av en vakuomteller. Kornet ble fordelt i fem rader, med 20 frø i hver rad. Det ble så dekket av et overpapir og rullet sammen i en løs rull merket med partinummer og dato. Papirrullene med korn ble plassert stående i plastkasser og dekket over med en plastduk. Kassene ble satt i et kjølerom på 10°C i syv døgn, og deretter ved 20°C i tre døgn. Etter 10 dager ble spireevnen bedømt ved at spirer ble kategorisert i 4 grupper:

1. Normale spirer: Spirene har utviklet alle organer som er nødvendig for videre utvikling til en normal plante under gunstige forhold.
2. Abnorme spirer: Spirer som ikke passer inn under punkt 1.
3. Friske uspirte frø: Friske frø som ikke har spirt på grunn av spiretreghet i kornet.
4. Døde frø: Uspirte døde frø.

For å bedømme hvilke spirer som er abnorme må noe skjønn brukes. Kriterier for abnorme spirer var:

- Spirer som hadde synlige strukturer, men i feil proporsjon i forhold til hverandre, for eksempel primærrot som var kort i forhold til skuddet.
- Spirer som var veldig svake, for eksempel spirer med strukturer som falt av ved berøring.
- Spirer som hadde negativ geotropisme, det vil si røtter og spirer som hadde vokst i samme retning.

Uspirte frø ble delt i to med en skalpell for å se om kimen var levende eller død. Frø som var nedbrutt, dekket av soppvekst, misfarget eller myke ble klassifisert som døde. Frø med hvit kime, og normal tekstur og farge ble klassifisert som friske uspirte. Disse anses å ha potensiale til å utvikle en normal plante.

Spireprosenten for en prøve inkluderer normale spirer og friske uspirte korn.

Prosentvis gjennomsnitt av normale spirer, abnorme spirer, friske uspirte frø og døde frø ble notert på journalkortene og i Kimens datasystem. Resultatene ble oppgitt i hele prosent med en sum på 100. Normale spirer avrundes alltid opp til nærmeste heltall, prioritering etter denne er abnorme spirer, friske uspirte frø og til slutt døde frø. Avrundingen ble gjort automatisk av datasystemet. Datasystemet sjekket også at resultatet mellom 100-frøseriene var innenfor et gitt spillerom. For de prøvene som falt utenfor dette spillerommet ble analysen gjort på nytt.

2.4 Soppanalyser

Analyser av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* (spiringsfusariose) i prøvene ble utført av Kimen i henhold til deres analysemetoder og ISTA-regler for sunnhetsanalyser (International Seed Testing Association 2013a). Soppanalyser ble bare utført på ubeisete prøver.

2.4.1 «Agarmetoden»

«Agarmetoden» er en rutinemetode hos Kimen for å bestemme angrepsgrad/smitteprosent av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* på såkorn av hvete. I dette forsøket ble også såkornprøvene av bygg og havre analysert med denne metoden, for å få en oversikt over hvilken sopplesker som var tilstede også i disse kornartene, som ikke analyseres rutinemessig med denne metoden.

For å unngå forstyrrende effekt av saprofytter/sopp på overflaten av kornene ble prøvene desinfisert ved dypping i 1 % natriumhypoklorittløsning (NaOCl) i 10 minutter. Deretter ble de tørket i varmeskap i 1,5 timer ved 30°C (+/- 5°C). I et 'ren-laboratorium' ble fem og fem korn lagt med jevne mellomrom i 9 cm petriskåler med PDA (Potato dextrose agar, Difco). For analyser gjort i oktober 2012, og i april 2013 og februar 2013 ble det lagt ut to parallelle prøver på 100 korn for hver prøve. For analyser gjort i september- og desember 2013 ble det lagt ut to parallelle prøver på 50 korn for hver prøve.

Skålene ble merket med partinummer og dato. Petriskålene ble flyttet til et NUV-rom og plassert utover på benker ca. 40 cm under lampene (OSRAM L 36 W/73, Made in JP, 32x2 (Hg) UVA, bølgelengde: 315 og 400 nm) slik at alle kornene mottok like mye lys. Inkubasjonstiden var 7 døgn ved 20°C (+/-2°C), med veksling mellom 12 timer NUV-lys og 12 timer mørke.

Bedømmelsene ble utført av laboratoriepersonellet ved å se på hvert enkelt korn i stereomikroskop (6-50x). Soppene ble bedømt som *Fusarium spp.* eller *Microdochium spp.* ut fra morfologisk vekst, men det ble ikke gjort noen nærmere bedømmelse av art.

Bedømmelseskriteriene var som følger:

- *Microdochium spp.* ble bedømt på bakgrunn av den karakteristiske flate mycelveksten med en lys beige til blek-oransje farge. I flere av koloniene var oransje sporuleringer synlige på overflaten av mycelet.
- *Fusarium spp.* ble bedømt på bakgrunn av det luftige mycelet, samt luft-mycelets overside som er hvit, og går over i rød/gul, rosa, rødfiolett/gul eller rød/rødbrun på undersiden. Sporer ble av og til undersøkt i mikroskop for å bekrefte at det var *Fusarium*.

Antall korn infisert med *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* ble registrert og summert, og regnet om til smitteprosent i hver 100-frøserie. Smitteprosent av hver av de to artsgruppene

hver for seg ble også notert. Resultatene ble lagt inn i Kimens datasystem og på samme måte som for spireresultatene, sjekket at de var innenfor et gitt spillerom.

2.4.2 «Doyermetoden» (symptomer fra spireskadende sopp)

For å bestemme angrepsgrad/smitteprosent av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* på såkorn av bygg og havre, benyttes en annen metode, den såkalte Doyer-metoden (Jørgensen 1971), «oppfunnet» av den nederlandske frøpatologen Lucy Doyer (Doyer 1938). Dette er en enkel og lite arbeidskrevende analysemetode hvor korn legges ut på fuktig papir, kornet spirer og eventuelle symptomer og tegn på spirene i form av brune røtter og eventuell soppvekst på spirer, registreres etter en inkuberingsperiode på åtte døgn.

Analysen ble gjort for to paralleller på 100 korn fra hvert parti av bygg og havre. To lag med tynt filterpapir ble lagt i inkuberings-skåler (20x20 cm) og fuktet med destillert vann. I hver skål ble 100 korn lagt ut, med jevne mellomrom i 10x10 rader, med et utleggingsapparat (vakuutteller). Inkuberings-skålene ble merket med partinummer og dato, og lokket satt på. Skålene ble inkubert ved 10 +/- 2°C i 4 døgn, og deretter ved 20 +/- 2°C i 4 døgn. Det ble ikke tilført lys under inkuberingsperioden. Bedømmelsen ble gjort ved å se på spirene gjennom en lupelampe (6×). Metoden kan ikke skille mellom *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* infeksjon. Bedømmelseskriteriene var som følger:

- Brune misfargete røtter, hvor misfargingen begynner fra basis av roten.
- Abnorme spirer med soppsmitte (mycel av *Fusarium spp.* og/eller *Microdochium spp.*).
- Døde korn med soppsmitte (mycel av *Fusarium spp.* og/eller *Microdochium spp.*)

Antall frø og spirer med sykdomstegn og symptomer ble notert. Siden noe skjønn må utvises ble bedømmelsen av parallellene for hver prøve gjort av forskjellige personer. Dersom forskjellen i antallet mellom de to optellingene var større enn tillatte spillerom ble partiet lagt ut og analysert på nytt. Smittegraden i gjennomsnitt for de to parallellene ble regnet ut i prosent.

2.4.3 Molekylær metode for bestemmelse av sopparter i såkornet

a) Prøveforberedelse:

Prøver av bygg-, havre- og vårhvetepartiene som hadde vært lagret i 12 måneder på 15°C ble brukt i disse forsøkene. Fra hver prøve ble 200 gram veid ut og malt med en ZM 200 mølle med siktstørrelse 1 mm (Retsch, Tyskland). De oppmalte prøvene ble lagret i plastposer på -22°C.

b) Ekstraksjon av DNA fra soppmycel

Sopp-DNA for *Microdochium spp.* ble ekstrahert fra enkeltisolater av *M. nivale* og *M. majus* som ble hentet fra isolatsamlingen til Bioforsk Plantehelse, Ås (lagret ved -80 °C, Tabell 2.4). Soppmycel av enkeltisolatene (2mm x 2mm på PDA) ble tatt ut av fryser og podet på PDA i 9 cm petriskåler og inkubert ved romtemperatur i 10 dager. Etter 10 dager hadde isolatene dannet mycel som dekket hele petriskålen. Genomisk DNA ble ekstrahert fra soppmycelet ved hjelp av DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Tyskland). Ekstraksjonen ble gjort som beskrevet i protokollen til kittet. Mycelet ble skrapet av agaren ved bruk av en spatel, og lagt i en morter og flytende nitrogen ble helt over. Det fryste mycelet ble knust til et fint pulver ved bruk av morteren. Dette ble så overført til et 1,5 ml Eppendorfrør med 400 µl Buffer AP1, og deretter tilsatt 4 µl RNase A. Rørene ble ristet kraftig ved bruk av en MS1 Minishaker (IKA®) og inkubert i 10 minutter ved 65°C i en varmeblokk. I løpet av inkuberingsperioden ble rørene snudd opp ned en gang. Til rørene ble 130 µl Buffer AP2 tilsatt, dette ble inkubert på is i 5 minutter. Supernatanten ble overført til en QIAshredder Mini spin kolonne i et 2 ml samlingsrør, etterfulgt av sentrifugering i 2 minutter ved 16060 × g. Væsken ble overført til et nytt rør, og 1,5 volum av Buffer AP3/E ble tilsatt og det hele blandet. Av blandingen ble 650 µl overført til DNeasy kolonnen i et 2 ml oppsamlingsrør, og sentrifugert i 1 minutt ved 6082 x g. Væsken i oppsamlingsrøret ble kastet og resten av blandingen ble overført til samme DNeasy spin column satt i et nytt oppsamlingsrør, og sentrifugeringen ble gjentatt. Væsken i oppsamlingsrøret ble kastet. Deretter ble DNeasy kolonnen satt i et nytt 2 ml samlingsrør og tilsatt 500 µl Buffer AW, deretter sentrifugert i 1 minutt ved 6082 x g. Væsken i oppsamlingsrøret ble kastet. Til DNeasy spin kolonnen ble 500 µl Buffer AW tilsatt. Deretter

ble det sentrifugert i 2 minutter ved $16060 \times g$. DNeasy spin kolonnen ble så satt i et Eppendorfrør og 100 μl Buffer AE ble tilsatt. Rørene ble inkubert i 5 minutter ved romtemperatur og sentrifugert i 1 minutt ved $6082 \times g$. Væsken fra oppsamlingsrøret ble så overført tilbake til DNeasy spin kolonnen og sentrifugeringen ble gjentatt. DNeasy spin kolonnen ble så kastet og Eppendorfrøret med sopp-DNA ble lagret ved -22°C .

DNA fra *M. majus* og *M. nivale* ble tint på is, og konsentrasjon av DNA ble målt med Qubit™ dsDNA HS test (Invitrogen). Quibit™ dsDNA HS reagent (Invitrogen) ble fortynnet 1:200 i Quibit™ dsDNA HS buffer. Av denne blandingen ble 190 μl overført i to Quibit™ test tubes og tilsatt 10 μl Quibit™ standard. To Quibit™ test tubes ble tilsatt 199 μl av Quibit™ og henholdsvis 1 μl av DNA fra *M. majus* eller *M. nivale*. To andre Quibit™ test tubes ble tilsatt 195 μl av Quibit™ og henholdsvis 5 μl av DNA fra *M. majus* eller *M. nivale*. Innholdet ble kraftig ristet i 3 sekunder i MS1 Minishaker (IKA®), sentrifugert og deretter inkubert i romtemperatur i 2 minutter. Konsentrasjonen av DNA ble målt med et Quibit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen).

DNA fra *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae* og *F. poae* var på forhånd isolert og kvantifisert ved Bioforsk Plantehelse, Ås, med samme protokoll som beskrevet her. Alle isolatene ble hentet fra Bioforsk Plantehelse (Tabell 2.4). Sopp-DNA ble lagret ved -22°C , og fortynnet før bruk som beskrevet i neste avsnitt.

Tabell 2.4: Isolater av *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *M. majus* og *M. nivale* og vertsplante de var isolert fra.

Art	Isolat	Opprinnelses-år	Vertsplante
<i>F. avenaceum</i>	201081	2011	Ukjent
<i>F. culmorum</i>	201064	2003	Hvete
<i>F. graminearum</i>	200630	2006	Hvete
<i>F. langsethiae</i>	201087	2011	Havre
<i>F. poae</i>	200871	2004	Hvete
<i>M. majus</i>	200349	2003	Hvete
<i>M. nivale</i>	200265	1998	Flerårig raigras (<i>Lolium perenne</i>)

c) Ekstraksjon av DNA fra såkorn

FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Frankrike) ble brukt til ekstraksjon av DNA fra oppmalte såkornprøver av bygg, havre og vårhvete (avsnitt 2.4.3a), og standard-materiale av hver av de tre kornartene. Isoleringen inkluderer DNA fra alt som er tilstede i det oppmalte kornet, det vil si i hovedsak plante-DNA, men også DNA fra andre organismer som sopp. Standard-materiale av hvete (sort Demonstrant, prøvenummer 1458) og bygg (ukjent sort og prøvenummer) ble hentet fra Kimen. Standard-materiale for havre (sort Lena, prøvenummer 748) ble hentet fra Bioforsk Plantehelse. Disse ble valgt ut på bakgrunn av at de hadde lite til minimalt med soppsmitte, og malt opp på samme måte som beskrevet i avsnitt 2.4.3a.

Fra de oppmalte prøvene ble 0,150 g (+/-0,01 g) veid ut og overført til Lysing Matrix E rør. Rørene ble lagret på -22°C. Genomisk DNA ble ekstrahert som beskrevet i protokollen til kittet. Til røret ble det tilsatt 978 µl Natrium fosfat buffer og 122 µl MT Buffer. Dette ble homogenisert i et FastPrep®-24 instrument (MP Biomedicals, Frankrike) i 40 sekunder ved fart 6.0 m/s. Deretter ble rørene sentrifugert ved 16060 × g i 10 minutter. Supernatanten ble overført til et 2 ml mikrosentrifugerør og 250 µl Protein Precipitation Solution ble tilsatt. Dette ble blandet ved å snu rørene opp ned 10 ganger for hånd. Rørene ble så sentrifugert ved 16060 × g i 5 minutter. Væsken ble overført til et 15 ml plastrør og 1 ml Binding matrix ble tilsatt. Dette ble snudd opp ned i 2 minutter for hånd. Deretter ble rørene satt i et stativ i 3 minutter, så bunnfall ble dannet. Av væsken ble 500 µl kastet. Deretter ble rørene ristet lett for å løsne bunnfallet i den resterende væsken. Av løsningen ble 600 µl overført til et SPIN™ filter med oppsamlingsrør og sentrifugert ved 16060 × g i 1 minutt, væsken i oppsamlingsrøret ble kastet. Resten av løsningen ble så overført til samme SPIN™ filter og det hele ble igjen sentrifugert på 16060 × g i 1 minutt og væsken i oppsamlingsrøret ble kastet. Til SPIN™ filteret ble 500 µL SEWS-M tilsatt og bunnfallet ble løst opp ved å pipettere væsken inn og ut. Røret ble sentrifugert ved 16060 × g i 1 minutt, og væsken i oppsamlingsrøret ble kastet. Den filtrerte væsken inneholdt DNAet fra prøvene. DNA fra såkornprøvene ble fortynnet 1:10 ganger med Milli-Q-vann (Milli-Q® Gradient A10®, Merck Millipore), og en fortynningsplate ble laget (Vedlegg 32). Denne ble lagret ved -22°C, og brukt videre i alle testene. DNA fra standard-materialet ble lagret ved -22°C, og fortynnet før bruk som beskrevet i neste avsnitt.

d) Påvisning av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* med kvantitativ PCR (qPCR)

For alle såkornprøvene ble DNA fra *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *M. majus*, *M. nivale* og vert-plante kvantifisert med real-time kvantitativ PCR (qPCR). Probene til de ulike TaqMan-testene ble merket med følgende reporter-quencher kombinasjoner: plante-DNA/COX-test (Divon et al. 2011) med VIC-MGBNFQ (Applied Biosystems, UK), *F. graminearum*-test (Reischer et al. 2004) med HEX-BHQ1 (Sigma-Aldrich), *F. avenaceum*-test (Halstensen et al. 2006) med Cy5-BHQ3 (Sigma-Aldrich), *F. culmorum*-test (Waalwijk et al. 2004) med 6-FAM-MGBNFQ (Applied Biosystems), *F. poae*-test (Yli-Mattilaa et al. 2008) med TexasRED-BHQ2 (Sigma-Aldrich) og *F. langsethiae*-test (ikke publisert) med 6-FAM-TAMRA (Sigma-Aldrich). *M. majus* og *M. nivale* ble kvantifisert med SYBR-testene beskrevet i Nielsen et al. (2013). Alt forarbeidet til qPCR ble gjort i et PCR-kabinett der utstyret ble belyst med UVB-stråling i 20 minutter.

Kvantifisering av plante- og *F. langsethiae* DNA i såkornprøvene ble gjort i 25 µl reaksjoner bestående av 75 nM forward og reverse COX primer, 300 nM forward og reverse *F. langsethiae* primer, 100 nM probe for COX og *F. langsethiae*, 1×MQ-vann og 1×PCR iQTM Multiplex Powermix (Bio-Rad, USA) og 4 µl bestående av 1:10 fortynnet DNA ekstrakt fra såkorn. Kvantifisering av *F. avenaceum* og *F. culmorum* ble gjort i 25 µl reaksjoner bestående av 300 nM forward primer, 100 nM reverse primer, og 100 nM probe for både *F. avenaceum* og *F. culmorum*, 1×PCR iQTM Multiplex Powermix (Bio-Rad, USA) og 4 µl 1:10 fortynnet DNA fra såkornprøve. Kvantifisering av *M. majus* og *M. nivale* ble gjort i 25 µl reaksjoner bestående av 300 nM forward primer og 300 nM reverse primer for *M. majus* eller *M. nivale* i separate reaksjoner, 1×SsoAdvancedTM SYBR[®] Green Supermix (Bio-rad, USA), og 4 µl 1:10 fortynnet DNA fra såkornprøve. Kvantifisering av *F. graminearum*- og *F. poae*-DNA ble gjort i 25 µl reaksjoner bestående av 300 nM forward og reverse primer og 100 nM probe for *F. graminearum* eller *F. poae* i separate reaksjoner, 1×PCR Master Mix for Probe tester (Eurogentec, UK). Alle reaksjonene ble tilsatt 4 µl 1:10 fortynnet DNA fra såkorn, eller 4 µl standard-DNA.

Alle reaksjonene ble utført i Hard-Shell PCR Plates 96 Well WHT/CLR plater (Bio-Rad, USA) dekket med Micro Seal[®] 'B' Seals (Bio-Rad, USA). Reaksjonene ble utført i en C1000 Touch Term Cycler kombinert med et CFX96TM Real-Time System (begge fra Bio-Rad, USA). Reaksjonene der iQTM Multiplex Powermix (Bio-Rad, USA) ble benyttet, ble

gjennomført ved parameterne 95°C i 3 min, 45 sykluser med 95°C i 10 sekunder og 60°C i 30 sekunder. Reaksjonene der SsoAdvanced™ SYBR® Green Supermix (Bio-rad, USA) ble benyttet, ble gjennomført ved parameterne 98°C i 3 min, 40 sykluser med 98°C i 10 sekunder og 60°C i 30 sekunder, deretter en smeltepunkts-analyse med temperaturgradient fra 60°C til 95°C i intervall på 0,5°C, med 5 sekunder for hver temperatur. Reaksjonene der Eurogentec mmix ble benyttet, ble gjennomført ved parameterne 2 min ved 50°C, 10 min ved 95°C, fulgt av 15 sekunder ved 95°C og 1 min ved 60°C i 40 sykluser. Dataene ble analysert ved bruk av CFX Manager Software v 3.1 (Bio-Rad, USA). Alle reaksjonene ble utført i to tekniske gjentak med en forskjell i $C_q \leq 1$. For lave konsentrasjoner ($C_q \geq 35$) ble det tolerert større forskjeller i C_q mellom gjentakene. Mengde DNA i såkorn-prøvene ble kvantifisert ved bruk av en standardkurve algoritme basert på fem fortyndinger for hver sopp- og verts-art med DNA i følgende konsentrasjoner: 1 pg til 4 ng sopp DNA, 10 pg til 40 ng havre-DNA, 20 pg til 80 ng hvete-DNA, og 18 pg til 72 ng bygg-DNA.

Mengde sopp i såkornet ble kalkulert som gjennomsnittlig mengde sopp DNA per plante DNA.

2.5 Feltforsøk

Feltforsøket ble gjort hos Bioforsk Plantehelse, på Kirkejordet nord i Ås. Såkornprøvene ble sådd 7. mai 2013 og opptelling av spirer ble gjort 4. og 5. juni 2013. Feltkart er vist i Vedlegg 18, Vedlegg 19, Vedlegg 20 og Vedlegg 21

Syv parti av bygg (parti 1-6 og 11), seks parti av havre (parti 1, 2, 5, 8, 9 og 10) og syv parti av vårhvete (parti 2, 4, 5, 6, 7, 11, 12) ble valgt ut, hvorav ett parti var et «kontrollparti» for hver art (Tabell 2.1). For hvert av de utvalgte partiene ble det sådd fire gjentak, med 100 korn av materiale som hadde vært lagret på 15°C og fire gjentak à 100 korn av materiale som hadde vært lagret på 5°C siden februar. Prøver av de utvalgte partiene av bygg, havre og vårhvete fra lageret på 15°C ble prøvebeiset med fludioksonil og sådd i fire gjentak à 100 korn.

Oppsettet til feltplanen ble laget ved bruk av programmet Random Sequence Generator (<http://www.random.org/sequences>). Forsøkene ble satt opp som et randomisert blokkforsøk for hver kornart. De beisete partiene ble gjort som separate forsøk, på samme måte som de ubeisete. I hver blokk ble rader på 1 meters lengde og 3-4 cm dybde gravd ut. I hver rad ble et

parti sådd etter rekkefølge fra feltplanen, og dekket lett med jord. Hver rute ble merket med merkepinner. Etter fire uker var spirene blitt mellom 5 og 10 centimeter høye og hadde 2-3 hele blader (Zadoks 13, 20) (Zadoks et al. 1974). Antall spirer i hver rad ble talt opp og gjennomsnittlig oppspiring i prosent for ubeiset korn ble beregnet per parti fra de to temperaturlagrene og for beisete prøver. Siden busking hadde startet hos enkelte planter måtte de i noen tilfeller graves opp ved registreringen for å se hva som var enkeltplanter.

Resultatene fra feltforsøket er merket på følgende måte: Fu15°C, Fu5°C og Fb15°C (F for felt-forsøk) for henholdsvis ubeiset såkorn lagret på 15°C, ubeiset såkorn lagret på 5°C og beiset såkorn lagret på 15°C.

2.6 Veksthusforsøk

Veksthusforsøket ble utført fra 5. november til 16. desember 2013 ved Senter for klimaregulert forskning (SKP) på Norges miljø- og biovitenskapelige universitet i Ås.

De samme partiene som ble sådd i felt ble også brukt i veksthusforsøkene. Det ble gjort fire gjentak for hvert parti, med 50 korn i hver repetisjon.

Rene plastkasser (60x20x7 cm) ble fylt med 2-3 cm P-jord og frøene ble plantet partivis, i fem rader med 10 frø i hver rad. Frøene ble dekket med 2-3 cm jord. Kassene ble så flyttet til et vekst-rom med en temperatur på 10°C uten kunstig lys, og vannet. Jorden ble holdt kontinuerlig fuktig gjennom spiringen. Etter spiring ble kassene flyttet til et vekst-rom med en temperatur på 15°C og 16 timers dag med hvitt tilleggslys og 8 timer natt. Behandlingene var som følger:

- Bygg: 14 dager på 10°C, og i 3 dager på 15°C
- Havre: 15 dager på 10°C, og i 4 dager på 15°C
- Vårhvete: 17 dager på 10°C, og i 2 dager på 15°C

Antall spirer ble talt opp ved Zadoks 11-12 (Zadoks et al. 1974). På samme måte som for feltforsøket ble gjennomsnittlig oppspiring i prosent for ubeiset korn beregnet pr parti fra de to temperaturlagrene og for beisete prøver. Resultatene fra veksthusforsøket er merket på følgende måte: Vu15°C, Vu5°C og Vb15°C (V for veksthus) for henholdsvis ubeiset såkorn lagret på 15°C, ubeiset såkorn lagret på 5°C og beiset såkorn lagret på 15°C.

2.7 Mykotoksinanalyser

2.7.1 Kvantifisering av DON (deoxynivalenol)

DON kvantifisering ble gjort for alle såkornpartier av havre og vårhvete, og såkornparti 3-11 av bygg (Tabell 2.1).

Fra oppmalte såkornprøver (se kapittel 2.4.3a) ble 5 gram veid ut og overført til 5 ml plastrør. Rørene ble lagret på -22°C til analysene ble gjennomført.

AgraQuant® Deoxynivalenol (Romer Labs® Diagnostic GmbH, Østerrike) kit ble brukt til kvantifisering av DON. Testen ble gjort som beskrevet i manualen fra i kittet. Til rørene med 5 gram oppmalt prøve ble 25 ml destillert vann tilsatt. Dette tilsvarer et ekstraksjons-forhold på 1:5 (vekt:vol) av prøve og ekstraksjons-løsning. Blandingen ble ristet kraftig i 3 minutter. Deretter ble rørene sentrifugert ved $16060 \times g$ i 1 minutt. Fra supernatanten ble 1 ml overført til et nytt 5 ml rør og fortynnet med 3 ml destillert vann. I hver sin fortynningsbrønn ble 200 μl konjugert DON og 100 μl av prøve eller DON-toksin standard (konsentrasjon 0, 250, 1000, 2000 og 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) overført. Konjugatet og prøve/standard ble blandet ved å pipettere væsken opp og ned tre ganger. Fra løsningen i hver fortynningsbrønn ble 100 μl overført til mikrobrønner dekket med antistoff. Dette ble inkubert ved romtemperatur i 15 minutter. Væsken i brønnene ble tømt ut og 600 μl vaskebuffer ble tilsatt hver brønn. Dette ble igjen tømt ut, og vaskingen ble gjentatt fem ganger. Brønnene ble så tørket ved å slå platen mot en papirserviett. Til hver brønn ble 100 μl substrat tilsatt, og dette ble inkubert i 5 minutter ved romtemperatur. Deretter ble 100 μl stop solution tilsatt hver brønn. Absorbans ved 450 nm ble målt i Biochrom Asys Expert Plus Microplate Reader (Biochrom Ltd., Cambrigde, UK). Grenseverdien for deteksjon (level of detection, LOD) er 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, grenseverdi for kvantifisering er 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (level of quantification, LOQ) og område for kvantifisering fra 250 – 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Prøver med DON nivå under LOD, ble tildelt verdien 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (LOD/2).

2.7.2 Kvantifisering av HT-2 og T2

Analyse av HT-2 og T2 konsentrasjoner ble gjort for alle havrepartiene, samt bygg parti 1, 2, 3, 5, 6 og 11 (Tabell 2.1).

Fra den oppmalt såkornprøven (kapittel 2.4.3a) ble 5 gram veid ut og overført til 5 ml plastrør. Rørene ble lagret på -22°C .

AgraQuant® T-2/HT-2 Toxin (Romer Labs® Diagnostic GmbH, Østerrike) kit ble brukt til kvantifisering av HT-2 og T2 mykotoksiner. Testen ble gjort som beskrevet i manualen fra kittet. Til røret med 5 gram oppmalt prøve ble 25 ml 70 % MetOH:destillert vann (vol:vol) tilsatt. Dette tilsvarer en ekstraksjons-forhold på 1:5 (vekt:vol) av prøve og ekstraksjons-løsningen. Røret ble ristet kraftig i 3 minutter, og deretter sentrifugert ved $1811 \times g$ i 1 minutt. Fra væsken ble 0,5 ml overført til et nytt rør og tilsatt 4,5 ml destillert vann. Denne ble så fortynnet ytterligere 1:1 ganger med 7% MetOH. T-2-toksin standardene (konsentrasjon 0, 25, 100 og 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ble fortynnet 1:10 ganger med destillert vann, totalt 0,1 ml standard og 0,9 ml destillert vann. Til hver brønn i en mikroplate ble 50 μl enzym konjugert T2/H-T2 toksin og 50 μl av prøven tilsatt. Deretter ble 50 μl antistoff-løsning tilsatt. Dette ble inkubert i 10 minutter ved romtemperatur. Deretter ble væsken tømt ut og brønnene skylt fem ganger med destillert vann. Platen ble så slått mot papirservietter for å fjerne all fuktighet. Til hver brønn ble 100 μl substrat tilsatt, dette ble inkubert i 5 minutter ved romtemperatur. Det ble så tilsatt 100 μl stop solution til hver brønn. Absorpsjon ved 450 nm ble målt i Biochrom Asys Expert Plus Microplate Reader (Biochrom Ltd., Cambrigde, UK). Grenseverdien for deteksjon (LOD) er 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ og område for kvantifisering fra 150 – 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Prøver med HT-2-T2 nivå under LOD, ble tildelt verdien 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (LOD/2).

2.8 Statistiske analyser:

Alle statistiske analyser ble gjort med dataprogrammene Minitab® 17 (Minitab® 17 Statistical Software 2010) og R commander (2.15.2). For alle ledd til sammenligning av gjennomsnitt i spireanalysene og Doyermetoden ble en paired t-test blitt gjort med Minitab® 17. Testen ble gjort på et 95 % signifikansnivå med $\alpha = 0,05$. H_0 -testen var at endringen var forskjellig fra 0, både positiv og negativ endring ble registrert. For agartestene ble statistisk analyse for gjennomsnittlig total soppinfisering og *Microdochium spp.* infisering gjort med en paired t-test med samme testnivåer som for spireanalysene og Doyermetoden. For gjennomsnittlig *Fusarium spp.* infisering ble 1-veis wilcoxon test gjort. H_0 i denne testen var at median er forskjellig fra 0. Bonferroni justering ble brukt ved mål av signifikans, og sammenligningen av gruppene er foretatt ved å bruke Bonferroni justeringen av det overordnede testnivå på 0,05. Til analyse av spireanalysene, Doyermetoden og agartesten for

enkeltpartier ble en ANOVA-test (General linear model) gjort i Minitab® 17, etterfulgt av en Tukeys comparison test for signifikante forskjeller på et 95 % signifikansnivå med $\alpha = 0,05$. H_0 -testen var at endringen var forskjellig fra 0, både positiv og negativ endring ble registrert.

Normalfordeling for resultatene ble sjekket i Minitab® 17 på forhånd av utførelsen. I de fleste tilfeller var resultater normalfordelte. Der resultatene ikke var helt normalfordelte ble likevel de statistiske testene utført fordi disse er såpass robuste at resultatet fra testen vil være godt nok.

For sammenligning av resultater for enkeltpartier mellom sykdomsforekomst i veiledningsprøvene og «produksjonsprøven» i februar ble en 2-sample t-test på et 95 % signifikansnivå med $\alpha = 0,05$ utført med R commander. H_0 -testen var at endringen var forskjellig fra 0, både positiv og negativ endring ble registrert. Lik varians ble antatt for alle sammenlikningene.

Korrelasjonstestene er gjort med lineær regresjon med formelen $y = ax + b$. For hver korrelasjon ble normalfordelingen sjekket, der data ikke var normalfordelt, ble log-transformering brukt.

3 Resultater

3.1 Spireevne i såkorn ved lagring

Spireevnen i et utvalg såkornpartier av bygg, havre og vårhvete ble analysert med standard laboriemetode i oktober 2012 og februar-, september- og desember 2013. Gjennomsnittlig spireprosent for såkornpartiene av hver kornart ved hvert analysetidspunkt ble testet for eventuelle endringer i løpet av lagringsperioden. Resultater fra prøver lagret ved 5°C og 15°C ble også sammenlignet. I tillegg til en sammenligning av gjennomsnittlig spiring ved de ulike analysetidspunktene, ble også eventuelle endringer i hvert enkelt parti testet. Videre ble gjennomsnittlig spireprosent ved de ulike analysetidspunktene for ubeiset og beiset prøver av hver kornart sammenlignet. For veiledningsprøvene ble gjennomsnittlig spireprosent ved start og etter syv måneders lagring sammenlignet, både for beiset og ubeiset prøve. Gjennomsnittlig spireprosent for veiledningsprøven etter syv måneders lagring og gjennomsnittlig spireevne i såkornpartier etter fem måneders lagring ble også sammenlignet, kun for ubeiset prøve.

3.1.1 Effekt av lagring på spireprosenten

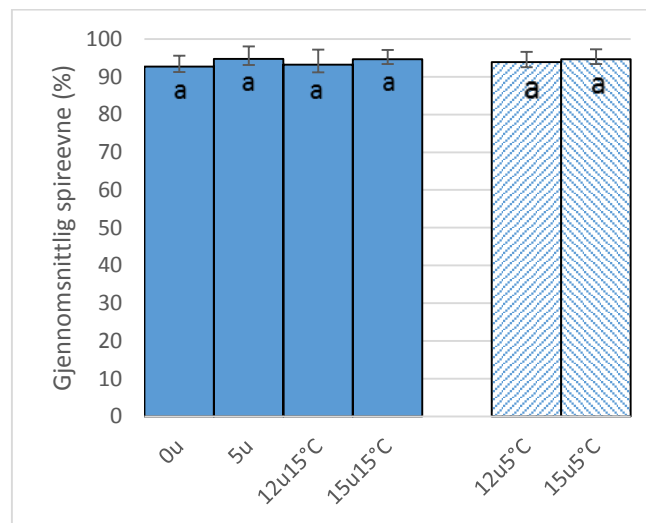
a) Bygg

Gjennomsnittlig spireprosent for 10 såkornpartier av bygg (ubeiset) analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember 2013 er vist i Figur 3-1. Spireprosent for enkeltpartier i tillegg til kontrollpartiet, er vist i Figur 3.2 og 3.3 (for prøver lagret ved henholdsvis 15°C og 5°C), samt i Vedlegg 1.

Fra første spireanalyse i oktober 2012 (0u) til siste analyse i desember 2013 (15u15°C, 15u5°C) var det en tendens til økning i gjennomsnittlig spireprosent for prøver, lagret ved både 15°C og 5°C, men forskjellen var ikke signifikant ved $P < 0,05$ (Figur 3-1). Den største endringen skjedde fra oktober 2012 (92,7%) til februar 2013 (94,8%), endringen hadde en P-

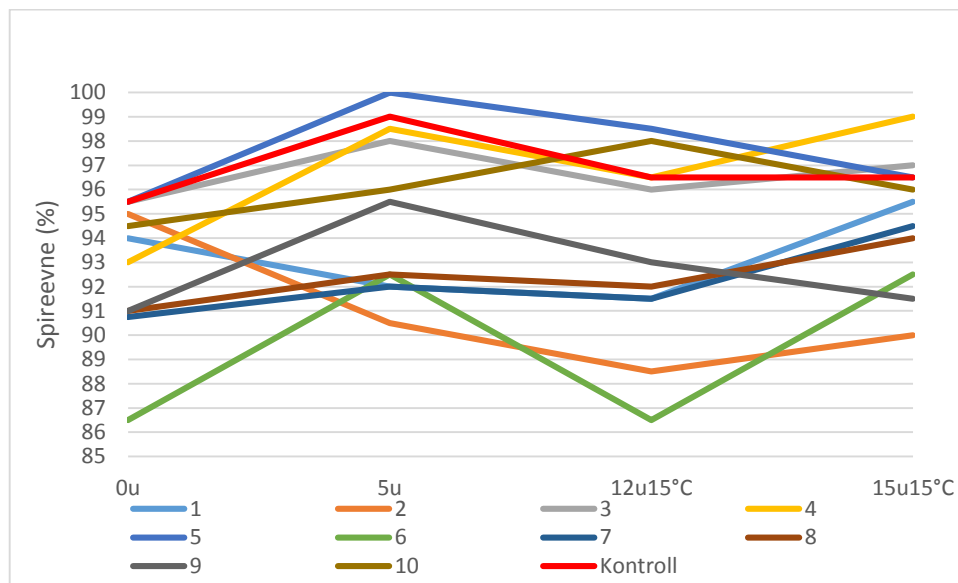
verdi på 0,051. Kontrollpartiet av bygg hadde en spireprosent som varierte fra 95,5 i oktober 2012 til 99 % i februar 2013

Det var ikke signifikante endringer i gjennomsnittlig spireprosent hos bygg lagret fra februar 2013 til september (12u) eller til desember (15u) ved de to temperaturene 5°C og 15°C. Det var heller ingen trend som pekte på at lagringstemperaturene påvirker spireevnen i bygg i en spesiell retning (Figur 3-1).



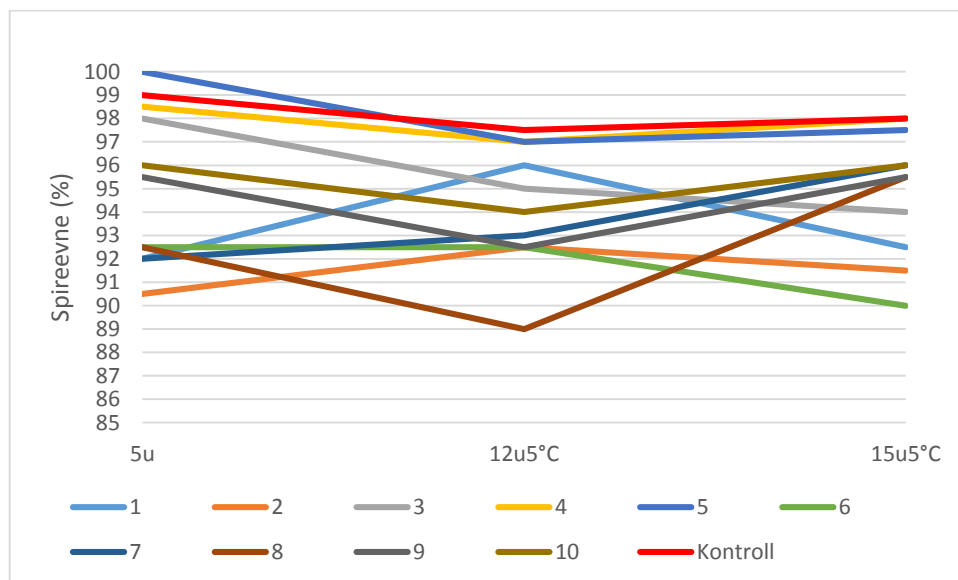
Figur 3-1: Gjennomsnittlig spireprosent for såkornprøver av bygg (parti 1-10, ubeiset), analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u). Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav betyr at det ikke er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

Spireprosenten ved start for ubeiset såkorn av bygg varierte fra 86,5 % til 95,5 % i de 10 såkornpartiene. Alle såkornpartiene av bygg lagret på 15°C hadde en spireprosent på over 85 % gjennom hele lagringsperioden. I parti 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 og i kontrollpartiet av bygg var det en tendens med økning i spireprosent de fem første månedene, mens spireprosenten ble redusert i parti 1 og 2. I parti 8 var spireprosenten relativt stabil gjennom hele lagringsperioden. Det var ingen signifikante forskjeller i spireprosent ved $P < 0,05$ for noen av såkornpartiene av bygg lagret på 15°C gjennom lagringsperioden (Figur 3-2).



Figur 3-2: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av bygg (parti 1-10, og kontrollpartiet) lagret ved 15°C, analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u15°C) og desember 2013 (15u15°C).

Spireprosenten for såkorn av bygg lagret på 5°C fra februar 2013 (5u) til desember 2013 (15u5°C) var relativt stabil for de fleste såkornpartiene. Alle såkornpartiene av bygg hadde en spirprosent på over 85 % etter lagring på 5°C fra februar 2013 til både september (12u5°C) og desember (15u5°C) (Figur 3-3). For parti 5 var det en signifikant reduksjon i spireprosent ($P = 0,010$) fra februar (5u) til september (12u5°C) og desember (15u5°C), og for parti 8 var det en signifikant økning i spireprosent ($P = 0,017$) fra september (12u5°C) til desember (15u5°C).



Figur 3-3: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av bygg (parti 1-10, og kontrollpartiet) lagret ved 5°C, analysert i februar 2013 (5u), september 2013 (12u5°C) og desember 2013 (15u5°C).

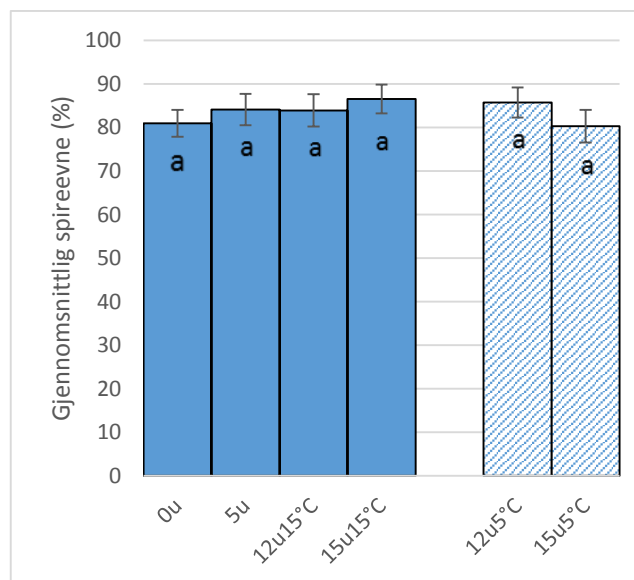
Det var ingen signifikant forskjell i spireprosent mellom såkorn av bygg lagret på 15°C og 5°C ved $P < 0,05$, verken fra februar 2013 til september (12u) eller til desember (15u) for noen partier (en t-test for parti 10 av bygg ved 12u kunne ikke utføres på grunn av like verdier i hver parallell).

b) Havre

Gjennomsnittlig spireprosent for ni såkornpartier av havre (ubeiset) analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember 2013 (15u) er vist i Figur 3-4. Spireprosent for enkeltpartier, i tillegg til kontrollpartiet er vist i Figur 3-5 og Figur 3-6 (for prøver lagret ved henholdsvis 15°C og 5°C), samt i Vedlegg 3.

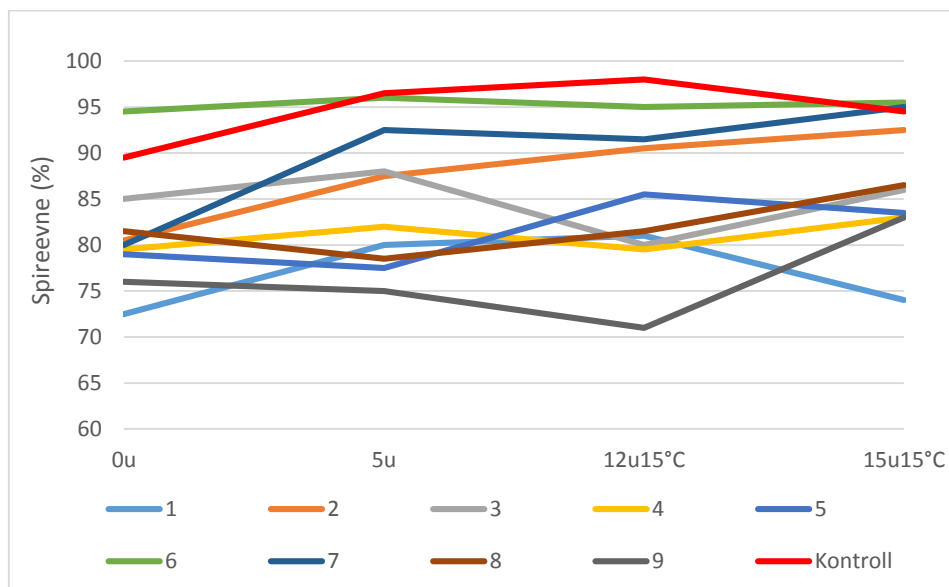
Fra første spireanalyse i oktober 2012 (0u) til siste analyse i desember 2013 var det en tendens til økt gjennomsnittlig spireprosent (fra 81 % til 86,6 %) for prøver lagret ved 15°C, men økningen var ikke signifikant (Figur 3-4). Forskjell i spireprosent mellom 0u og 15u15°C hadde en P-verdi på 0,009. Kontrollpartiet av havre hadde en spireprosent som varierte mellom 89,5-98 % gjennom lagringsperioden.

Det var ingen signifikant forskjell i gjennomsnittlig spireprosent hos havre lagret ved 15°C og 5°C, verken etter syv eller 10 måneders lagring. Men den gjennomsnittlige spireprosenten var 86,6 % for prøver lagret på 15°C og 80,3 % for prøver lagret på 5°C i desember (P = 0,024) (Figur 3-4).



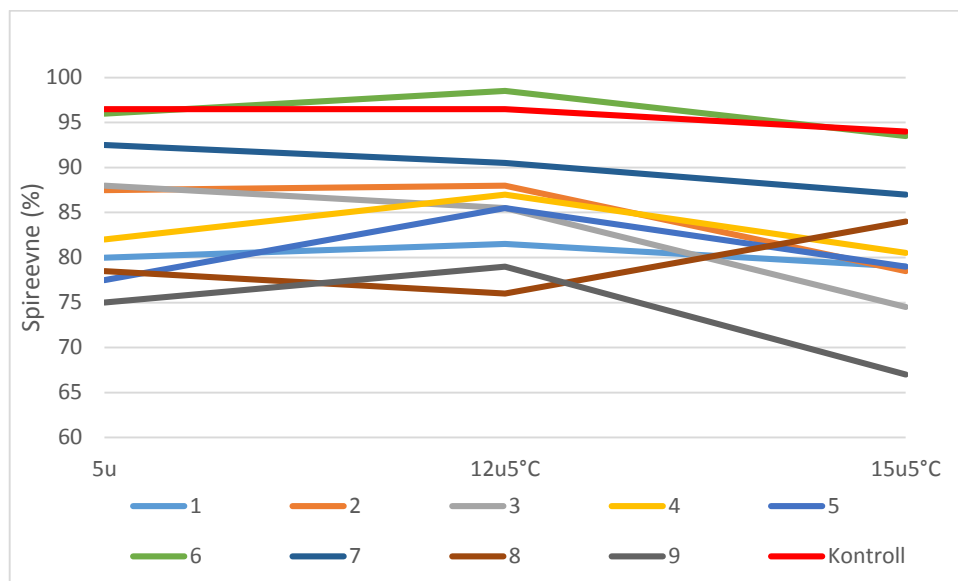
Figur 3-4: Gjennomsnittlig spireprosent i såkornprøver av havre (parti 1-9, ubeiset) analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u). Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav betyr at det ikke er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

Spireevnen ved start for ubeiset såkorn av havre varierte fra 72,5 % til 94,5 % i de ni såkornpartiene. Det var en trend for økende spireevne gjennom lagringsperioden i såkornpartiene av havre lagret på 15°C. Parti 6 hadde den høyeste spireevnen gjennom hele lagringsperioden (utenom kontrollpartiet) (Figur 3-5). Økningen i spireevne fra 0u til 15u15°C var signifikant for parti 2 og 7 (henholdsvis $P = 0,002$ og $0,027$), mens det var en signifikant økning mellom 12u15°C og 15u15°C i parti 9 ($P = 0,021$) ved $P < 0,05$.



Figur 3-5: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av havre (parti 1-9, og kontrollpartiet) lagret ved 15°C, analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u15°C) og desember 2013 (15u15°C).

Ved lagring av såkorn av havre på 5°C økte spireevnen i parti 2 signifikant fra februar (5u) til desember (15u5°C) ($P = 0,014$) ved $P < 0,05$, og parti 5 hadde en signifikant økning fra februar (5u) til september (12u5°C) ($P = 0,037$), men økningen var ikke vedvarende til desember (15u5°C). I parti 3 ble spireprosenten signifikant redusert mellom februar (5u) og desember (15u5°C) ($P = 0,047$) og i parti 9 fra september (12u5°C) til desember (15u5°C).



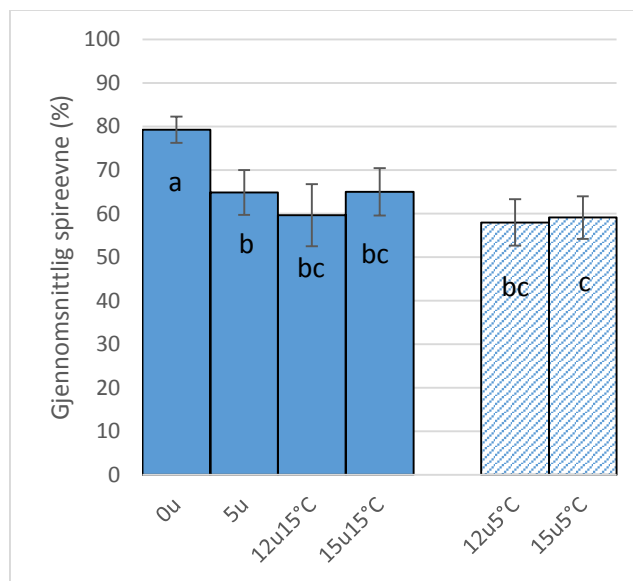
Figur 3-6: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av havre (parti 1-9, og kontrollpartiet) lagret ved 5°C, analysert i februar 2013 (5u), september 2013 (12u5°C) og desember 2013 (15u5°C).

I september 2013 (12u) var det ingen signifikante forskjeller i spireevne mellom såkorn av havre lagret på 15°C og 5°C for noen partier. I desember 2013 (15u) var spireevnen signifikant høyere ved lagring på 15°C enn 5°C i såkornparti 2 og 4 (henholdsvis $P = 0,013$ og $0,038$), mens det var signifikant høyere spireevne etter lagring på 5°C enn 15°C for parti 1 ($P = 0,038$). Parti 7 og 9 hadde en tendens til høyere spireevne ved lagring på 15°C enn ved 5°C, med P -verdier på henholdsvis $0,057$ og $0,065$ ved 15u.

c) Vårhvete

Gjennomsnittlig spireprosent for 11 såkornpartier av vårhvete (ubeiset) analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember- 2013 er vist i Figur 3-7. Gjennomsnittlig spireprosent for enkeltpartier, i tillegg til kontrollen er vist i Figur 3-8 og Figur 3-9 (for prøver lagret ved henholdsvis 15°C og 5°C), samt i Vedlegg 5.

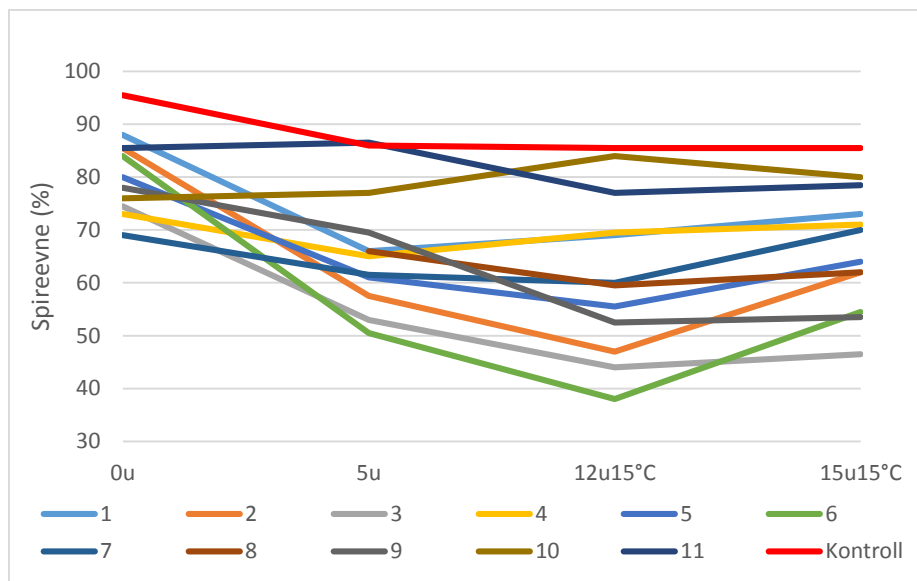
Gjennomsnittlig spireprosent for såkorn av vårhvete ble signifikant redusert fra oktober 2012 (0u) til desember 2013 i begge temperaturlagrene (15u15°C, 15u5°C) ved $P < 0,05$ (Figur 3-7). Reduksjonen var størst fra oktober 2012 (79,3%) til februar 2013 (64,9%). For såkorn lagret på 5°C ble spireprosenten signifikant redusert fra februar (5u) til desember (15u5°C) Kontrollpartiet av vårhvete hadde en spireprosent som varierte mellom 86-96 % gjennom lagringsperioden.



Figur 3-7: Gjennomsnittlig spireprosent i såkornprøver av vårhvete (parti 1-11, ubeiset) analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u). Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper er resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav betyr at det ikke er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

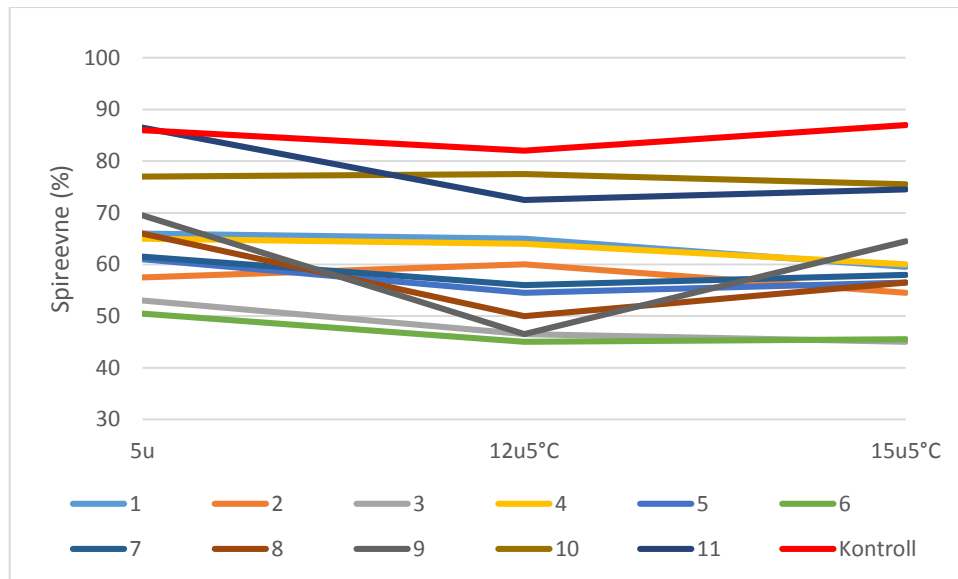
Det var ikke signifikant forskjell i gjennomsnittlig spireprosent mellom såkorn av vårhvete lagret på 5°C og 15°C, verken i september (12u) eller i desember (15u) (Figur 3-7). Det var en trend for høyere spireevne ved lagring av vårhvete ved 15°C enn ved lagring ved 5°C i desember (15u).

Spireprosenten ved start for ubeiset såkorn av vårhvete varierte fra 69 % til 88 % i de 11 såkornpartiene av vårhvete. Spireevnen var høyest for parti 10 og 11 av vårhvete lagret ved 15°C, og lavest for parti 2, 3 og 6 gjennom lagringsperioden (Figur 3-8). Det var en signifikant reduksjon ($P = 0,021$) i spireevne for parti 1 av vårhvete fra 0u til 5u og 12u15°C ved $P < 0,05$. Parti 2 hadde en signifikant reduksjon ($P = 0,001$) i spireevne fra 0u til 15u15°C, selv om spireprosenten for parti 2 hadde en ikke signifikant økning mellom 12u15°C og 15u15°C. Parti 3 og 6 hadde en signifikant reduksjon (henholdsvis $P = 0,002$ og $0,001$) i spireprosent fra 0u til alle senere analysetidspunkt ved $P < 0,05$, men i parti 6 var det i tillegg en signifikant økning mellom 12u15°C og 15u15°C ($P = 0,001$). Parti 5 hadde en signifikant reduksjon ($P = 0,02$) i spireevne fra 0u til 5u og fra 0u til 12u. I parti 8 og 9 ble spireevnen signifikant redusert fra 0u til både 12u15°C og 15u15°C. I parti 4, 7, 10 og 11 var det ingen signifikante endringer i spireprosent. Totalt var det en trend for redusert spireevne i vårhvete (Figur 3-8). Det var ingen signifikant endring i spireevne for kontrollpartiet av vårhvete.



Figur 3-8: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av vårhvete (parti 1-11, og kontrollpartiet) lagret ved 15°C, analysert i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u15°C) og desember 2013 (15u15°C).

Ved lagring av såkorn av vårhvete på 5°C var spireevnen høyest for parti 10 og 11 av vårhvete, og lavest for parti 3 og 6. I likhet med ved lagring på 15°C hadde parti 8 og 9 en redusert spireevne fra 5u til 12u5°C, deretter økte spireevnen igjen frem til 15u5°C (Figur 3-9). Endringen mellom 5u og 12u5°C var signifikant ($P = 0,028$) for parti 8 ved $P < 0,05$, men ikke for parti 9.



Figur 3-9: Spireprosent for ubeisete såkornprøver av vårhvete (parti 1-11, og kontrollpartiet) lagret ved 5°C, analysert i februar 2013 (5u), september 2013 (12u5°C) og desember 2013 (15u5°C).

Åtte av 11 partier (utenom kontrollen) hadde tendens til høyere spireevne etter lagring på 15°C enn etter lagring på 5°C ved 12u, og ved 15u. Forskjellen var signifikant for parti 4 ved 12u ($P = 0,039$) og for parti 4, 5 og 7 (henholdsvis $P = 0,039$, $0,022$ og $0,027$) ved 15u.

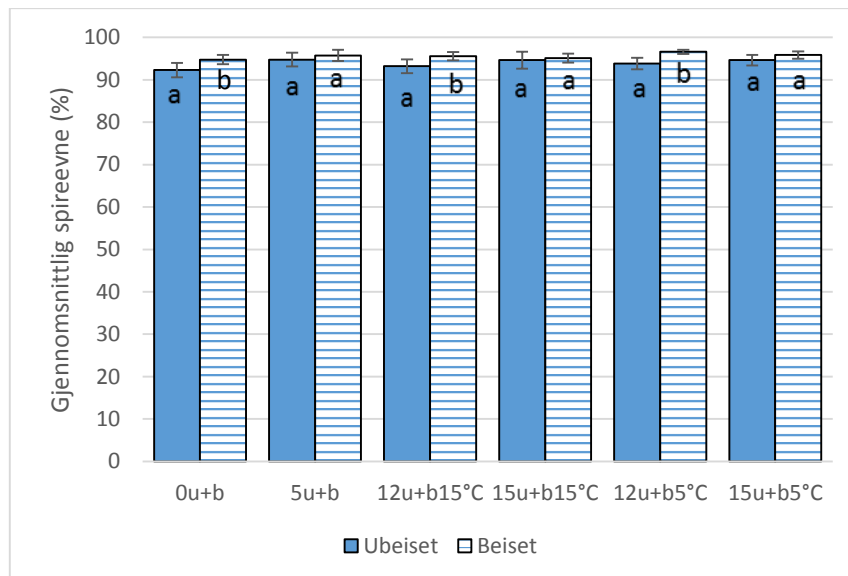
3.1.2 Effekt av prøvebeising på spireprosenten

a) Bygg

Gjennomsnittlig spireprosent for prøver av 10 såkornpartier av bygg, ubeiset og prøvebeiset, analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember 2013 er vist i Figur 3-10.

Resultater for enkeltpartier er vist i Vedlegg 1 og Vedlegg 2.

Det var signifikant forskjell i spireprosenten mellom ubeiset og prøvebeiset såkorn av bygg ved tre analysetidspunkt. Ved oktober 2012 (0u+b), september 2013 ved 15°C (12u+b15°C) og september 2013 ved 5°C (12u+b5°C) var spireprosenten signifikant høyere etter prøvebeising ved $P < 0,05$ (Figur 3-10). Ved alle øvrige analysetidspunkt var det en tendens til en høyere gjennomsnittlig spireprosent etter prøvebeising. Det var ikke forskjell i gjennomsnittlig spireprosent for kontrollpartiet etter prøvebeising ved noen av analysetidspunktene (Vedlegg 2).



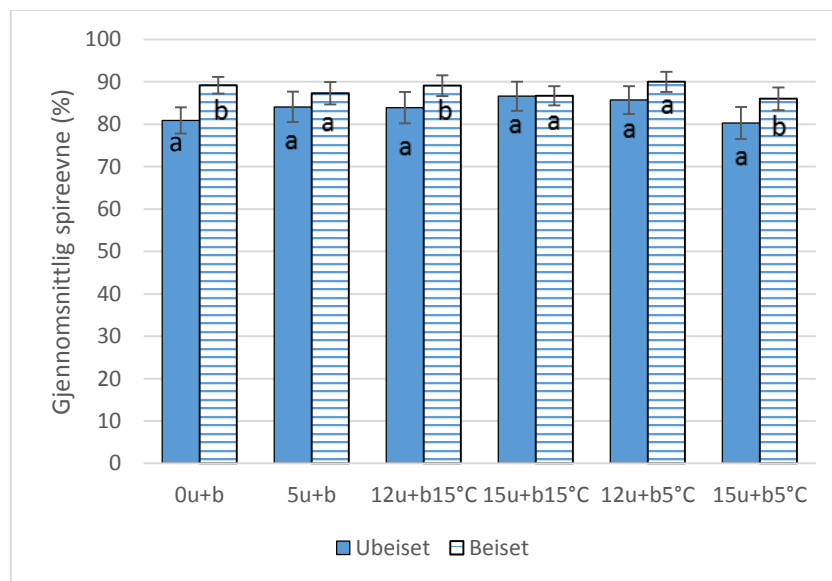
Figur 3-10: Gjennomsnittlig spireprosent for såkornprøver av bygg (parti 1-10) ubeiset og etter prøvebeising med fludioksonil, analysert i oktober 2012 (0u+b), februar 2013 (5u+b), september 2013 (12u+b) og desember 2013 (15u+b). Ulik bokstav innad i hvert analysetidspunkt betyr at det er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$ mellom behandlingene. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

b) Havre

Gjennomsnittlig spireprosent for prøver av ni såkornpartier av havre, ubeiset og prøvebeiset, analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember 2013 er vist i Figur 3-11.

Resultater for enkeltpartier er vist i Vedlegg 3 og Vedlegg 4.

Det var signifikant forskjell i spireprosenten mellom ubeiset og prøvebeiset såkorn av havre ved tre analysetidspunkt. For oktober 2012 (0u+b), september ved 15°C (12u+b15°C) og desember ved 5°C (15u+b5°C) var spireprosenten signifikant høyere for prøvebeiset såkorn ved $P < 0,05$ (Figur 3-11). Ved alle øvrige analysetidspunkt var det en tendens til en høyere gjennomsnittlig spireprosent etter prøvebeising. Det var ikke forskjell i gjennomsnittlig spireprosent for kontrollpartiet etter prøvebeising ved noen av analysetidspunktene (Vedlegg 4).

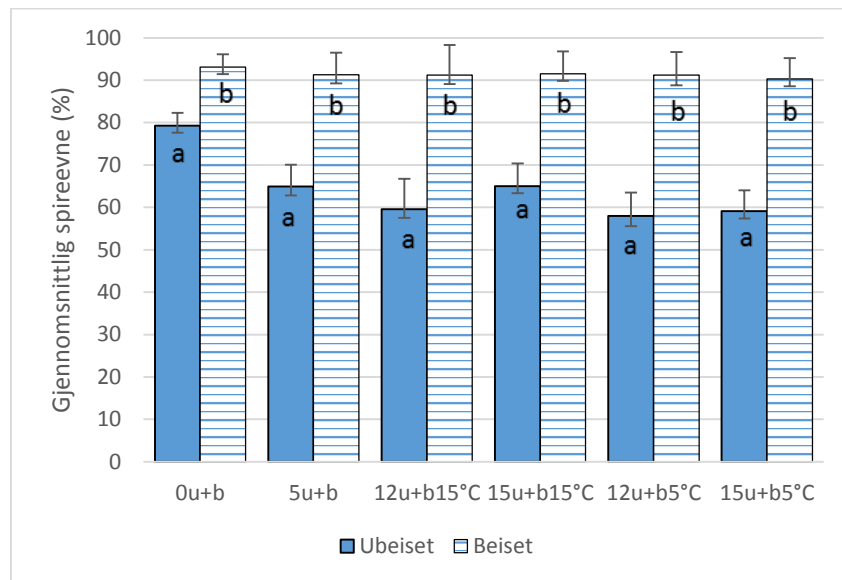


Figur 3-11: Gjennomsnittlig spireprosent for såkornprøver av havre (parti 1-9) ubeiset og etter prøvebeising med fludioksonil, analysert i oktober 2012 (0u+b), februar 2013 (5u+b), september 2013 (12u+b) og desember 2013 (15u+b). Ulik bokstav innad i hvert analysetidspunkt betyr at det er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$ mellom behandlingene. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

c) Vårhvet

Gjennomsnittlig spireprosent for prøver av 11 såkornpartier av vårhvet, ubeiset og prøvebeiset, analysert i oktober 2012 og februar, september og desember 2013 er vist i Figur 3-12. Resultater for enkeltpartier er vist i Vedlegg 5 og Vedlegg 6.

Ved alle analysetidspunktene fra oktober 2012 (0u+b) til desember 2013 (15u+b15°C, 15u+b5°C) førte prøvebeising til signifikant høyere spireprosent i såkorn av vårhvet sammenlignet med ubeiset såkorn $P < 0,05$ (Figur 3-11). Prøvebeising gav også noe høyere spireprosent i kontrollpartiet av vårhvet (Vedlegg 6).

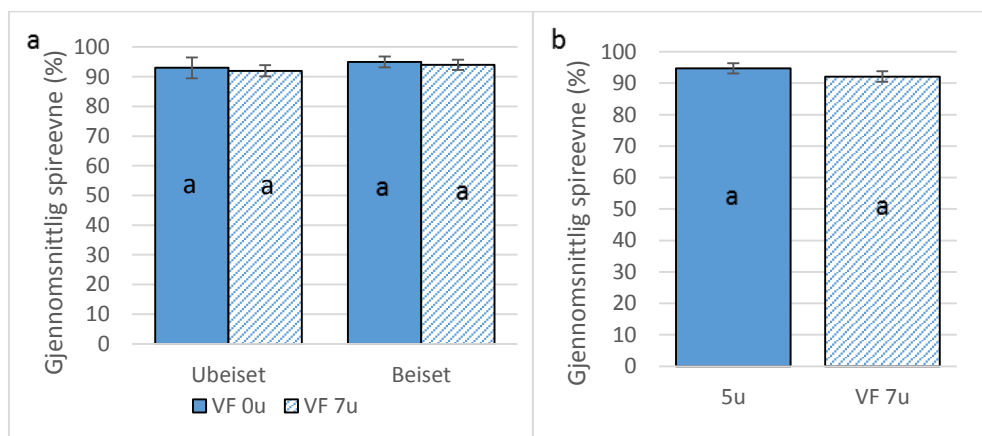


Figur 3-12: Gjennomsnittlig spireprosent for såkornprøver av vårhvet (parti 1-11) ubeiset og etter prøvebeising med fludioksonil, analysert i oktober 2012 (0u+b), februar 2013 (5u+b), september 2013 (12u+b) og desember 2013 (15u+b). Ulik bokstav innad i hvert analysetidspunkt betyr at det er signifikant forskjell i spireprosent ved $P < 0,05$ mellom behandlingene ved hvert analysetidspunkt. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

3.1.1 Spireprosent i veiledningsprøven ved start, og etter lagring i 7 måneder

a) Bygg

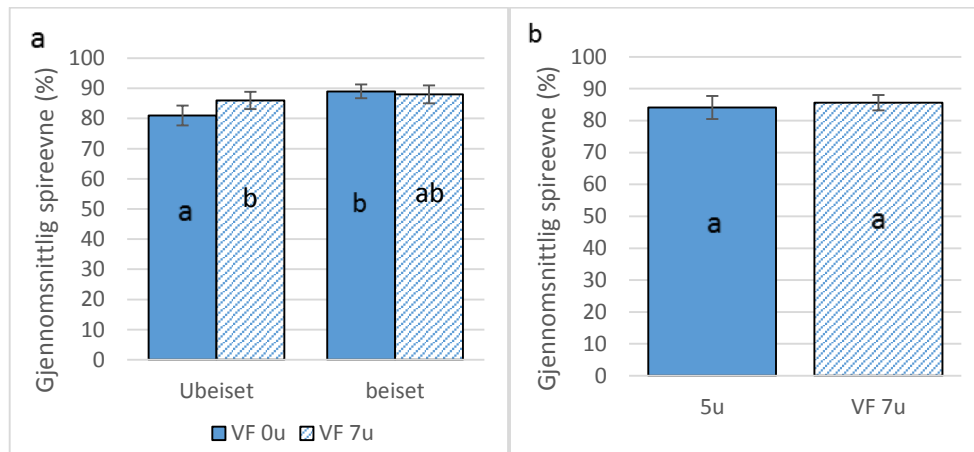
Spireprosenten i veiledningsprøven for såkorn av bygg var ikke signifikant forskjellig fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) (Figur 3.13 a). Ved prøvebeising var det ingen signifikant forskjell i spireprosent av disse partiene ved noen av analysetidspunktene. Kontrollpartiet hadde en spireprosent på 96 % både for ubeiset og 97,5 % for prøvebeiset prøve i april (Vedlegg 1 og Vedlegg 2). Det var heller ingen signifikant forskjell i spireprosent mellom veiledningsprøven lagret i syv måneder (VF 7u) og «produksjonsprøven» lagret i fem måneder (5u) av bygg (Figur 3.13 b).



Figur 3.13: Gjennomsnittlig spireprosent for a) veiledningsprøvene av bygg (parti 1-10) analysert i oktober 2012 (VF 0u, helfargete stolper) og april 2013 (VF 7u, skraverete stolper), og etter prøvebeising ved hvert analysetidspunkt, og b) prøve av bygg (parti 1-10) analysert i februar 2013 (5u, helfargete stolper) og veiledningsprøven av bygg (parti 1-10) april 2013 (VF 7u, skraverete stolper). Stolper med minst en lik bokstav er ikke signifikant forskjellige ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

b) Havre

Spireprosenten for veiledningsprøvene av havre økte signifikant fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) ved $P < 0,05$. For analysene i oktober gav prøvebeising en signifikant høyere spireprosent sammenlignet med ubeiset såkorn i oktober, mens det i april ikke var noen økning i spireprosenten etter prøvebeising (Figur 3.14 a). Kontrollpartiet hadde en spireprosent på 93,5 % ubeiset og 95,5 % etter prøvebeising i april (Vedlegg 3 og Vedlegg 4). Det var heller ingen signifikant forskjell i spireprosent mellom veiledningsprøven lagret i syv måneder (VF 7u) og «produksjonsprøven» lagret i fem måneder (5u) av havre (Figur 3.14 b).

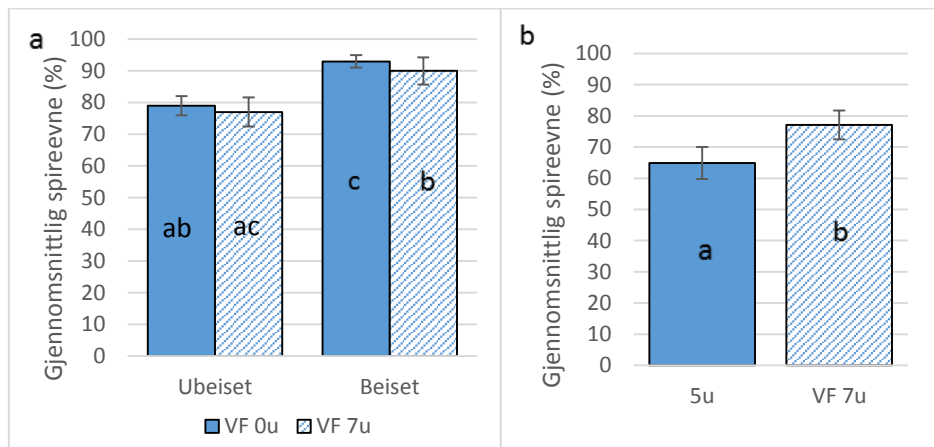


Figur 3.14: Gjennomsnittlig spireprosent for a) veiledningsprøvene av havre (parti 1-9) analysert i oktober 2012 (VF 0u, helfargete stolper) og april 2013 (VF 7u, skraverete stolper), og etter prøvebeising for hvert analysetidspunkt, og b) prøve av havre (parti 1-9) analysert i februar 2013 (5u, helfargete stolper) og veiledningsprøven av havre (parti 1-9) april 2013 (VF 7u, skraverete stolper). Stolper med minst en lik bokstav er ikke signifikant forskjellige ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

c) Vårhvete

Spireprosenten for veiledningsprøven av vårhvete var ikke signifikant endret fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) ved $P < 0,05$ (Figur 3.15 a). Men ved begge analysetidspunktene førte prøvebeising til en signifikant økning i spireprosent sammenlignet med ubeiset såkorn ($P < 0,05$). Kontrollpartiet hadde en spireprosent på 97 % ubeiset og 97,5 % etter prøvebeiset prøve i april (Vedlegg 5 og Vedlegg 6).

Det var signifikant høyere gjennomsnittlig spireprosent i veiledningsprøven lagret i syv måneder (VF 7u) enn i «produksjonsprøven» lagret i fem måneder (5u) for vårhvete (Figur 3.15 b).



Figur 3.15: Gjennomsnittlig spireprosent for a) veiledningsprøvene av vårhvete (parti 1-11) analysert i oktober 2012 (VF 0u, helfargete stolper) og april 2013 (VF 7u, skraverte stolper), og etter prøvebeising for hvert analysetidspunkt, og b) prøve av vårhvete (parti 1-11) analysert i februar 2013 (5u, helfargete stolper) og veiledningsprøven av vårhvete (parti 1-11) april 2013 (VF 7u, skraverte stolper). Stolper med minst en lik bokstav er ikke signifikant forskjellige ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

3.2 Spireskadende sopper (*Fusarium spp.* og *Microdochium spp.*) i såkorn ved lagring

Prosent infeksjon av spireskadende sopper (*Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*) i såkornpartiene ble analysert ved to ulike metoder. Prøvene av bygg og havre ble ved alle prøveuttakene analysert med en metode som viser symptomer på spireskader og andre tegn på infeksjon av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* («Doyermetoden»). Prøver av vårhvetepartiene ble analysert med en metode hvor vekst av soppene registreres på agar (PDA, «Agarmetoden»). I tillegg ble prøvene av bygg og havre fra uttakene i februar, september og desember også analysert med «agarmetoden». Gjennomsnittlig smitteprosent for såkornpartiene av hver kornart ved hvert analysetidspunkt ble sammenlignet, inkludert resultater fra materiale lagret ved 5°C og 15°C. De samme sammenligningene ble også gjort for enkeltpartiene av hver kornart. Resultater for de to analysemetodene presenteres hver for seg. For veiledningsprøvene ble smitteprosent ved start og etter syv måneders lagring sammenlignet. I tillegg ble smitteprosenten analysert med Doyertesten i enkeltpartier av veiledningsprøvene i april sammenlignet med smitteprosenten i enkeltpartiene av «produksjonsprøven» i februar.

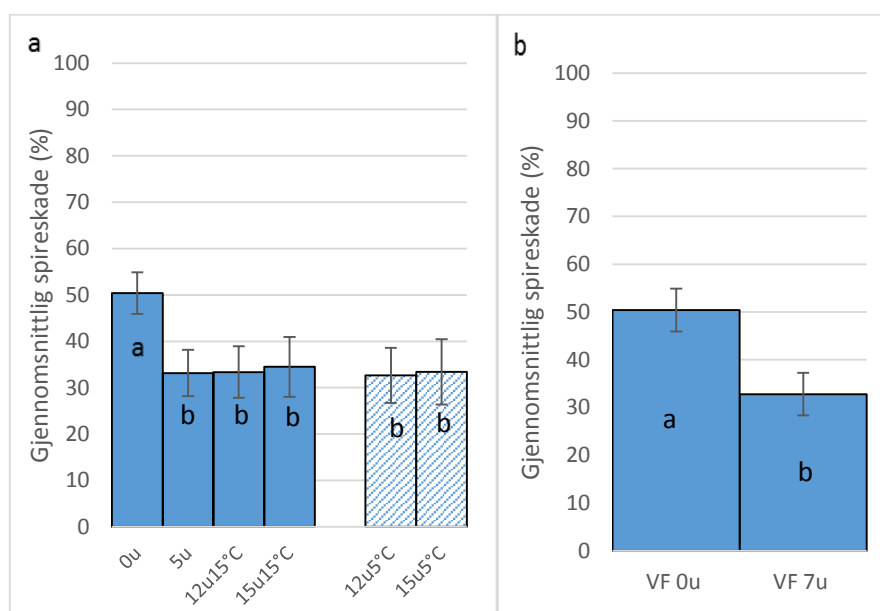
Kvantifisering og identifisering av sopparter i såkornet ble gjort ved bruk av qPCR. SoppDNA/planteDNA ble kartlagt for alle såkornpartiene.

3.3 Resultater fra «Doyermetoden»

a) Bygg

Gjennomsnittlig smitteprosent for 10 såkornpartier av bygg analysert i oktober 2012 og februar-, september- og desember- 2013 er vist i Figur 3-16b. Smitteprosent for enkeltpartier, i tillegg til i kontrollpartiet er vist i Figur 3-17 a og b (for prøver lagret ved henholdsvis 15°C og 5°C), samt i Vedlegg 7. Sammenligning av gjennomsnittlig spireprosent ved start og etter syv måneders lagring er vist i Figur 3-16. Smitteprosent for de 10 veiledningsprøvene i tillegg til kontrollen analysert i april 2013 sammenlignet med smitteprosent i de 10 såkornpartiene i tillegg til kontrollen analysert i februar 2013 er vist i Figur 3-18.

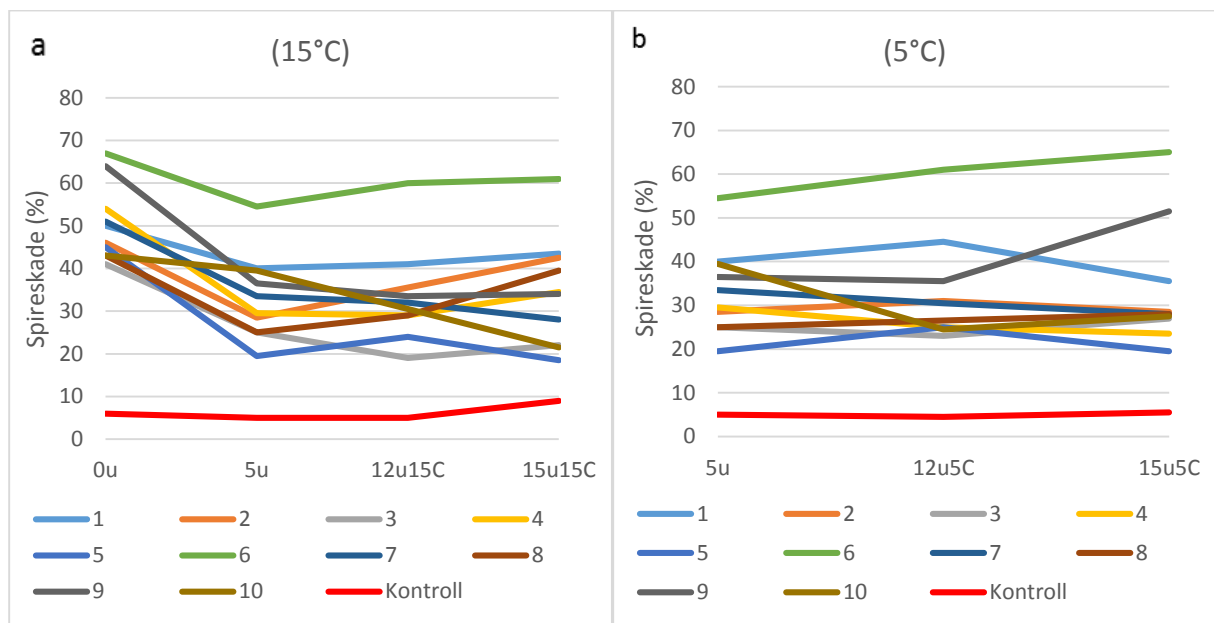
Gjennomsnittlig andel såkorn av bygg med spireskader var signifikant redusert fra oktober 2012 (0u) til desember 2013 (15u15°C, 15u5°C) i begge temperaturlagrene ved $P < 0,05$, reduksjonen fant sted i løpet av de fem første lagringsmånedene (Figur 3-16). Det var ingen forskjell i gjennomsnittlig andel spireskader mellom såkorn lagret på 15°C og 5°C (Figur 3-16). I kontrollpartiet varierte andel såkorn med spireskader fra 5-9 % (Vedlegg 7).



Figur 3-16: Gjennomsnittlig smitteprosent (% spireskade) i såkornprøver av bygg (parti 1-10) analysert med Doyermetoden a) i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u), og b) i veiledningsprøven i oktober 2012 (VF 0u) og april 2013 (VF 7u). Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav vil si at det ikke er signifikant forskjell ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

I veiledningsprøven ble andel såkorn av bygg med spireskader signifikant redusert fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) (Figur 3-16b). Reduksjonen var på 17 % over en lagringsperiode på syv måneder. I kontrollpartiet var andel spireskadete såkorn i april 36 % (Vedlegg 7).

For de fleste av såkornpartiene av bygg lagret på 15°C ble gjennomsnittlig smitteprosent redusert fra 0u til 5u (Figur 3-17). Mellom 5u og 15u15°C var derimot smitteprosenten stabil. Parti 6 hadde høyest andel smitteprosent gjennom hele lagringsperioden. Endring i smitteprosent var kun signifikant ved $P < 0,05$ for parti 2, der prosenten økte fra 5u til 15u15°C (Figur 3-17 a). Det var ikke mulig å utføre en Tukey comparison test fra 0u til senere analysetidspunkt, fordi det ikke ble målt paralleller ved 0u.

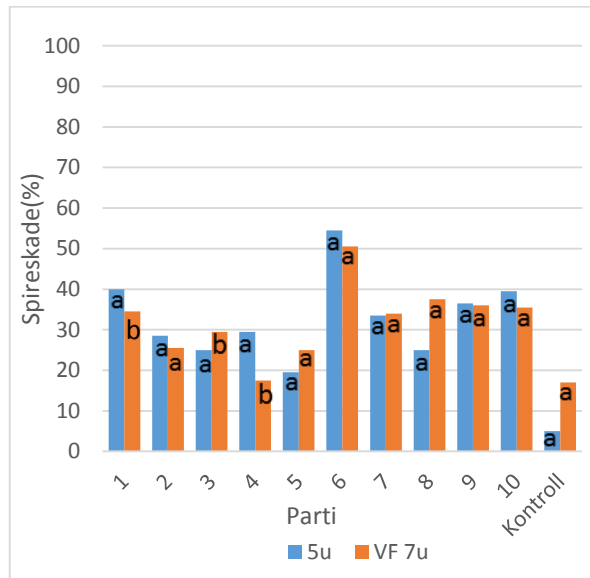


Figur 3-17: Smitteprosent (% spireskade) i såkornprøver fra parti 1-10 og prøve av kontrollpartiet av bygg analysert med Doyermetoden a) i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u15C) og desember 2013 (15u15C), b) februar 2013 (5u), september 2013 (12u5C) og desember 2013 (15u5C).

For såkorn av bygg lagret på 5°C var det også høyest smitteprosent i parti 6 (Figur 3-17 b). Den eneste signifikante forskjellen var i parti 9, der smitteprosenten økte signifikant fra 5u til 15u5°C.

Mellom de to temperaturlagrene var det ingen signifikante forskjeller i smitteprosent for noen partiene av bygg.

Det var signifikant forskjell mellom smitteprosent i såkornprøvene fra februar (5u) og i veiledningsprøven i april (VF 7u) for parti 1, 3 og 4 av bygg ved $P < 0,05$. Parti 1 og 4 hadde signifikant høyere spireprosent ved 5u enn i 7u, mens det var motsatt for parti 3 (Figur 3-18).

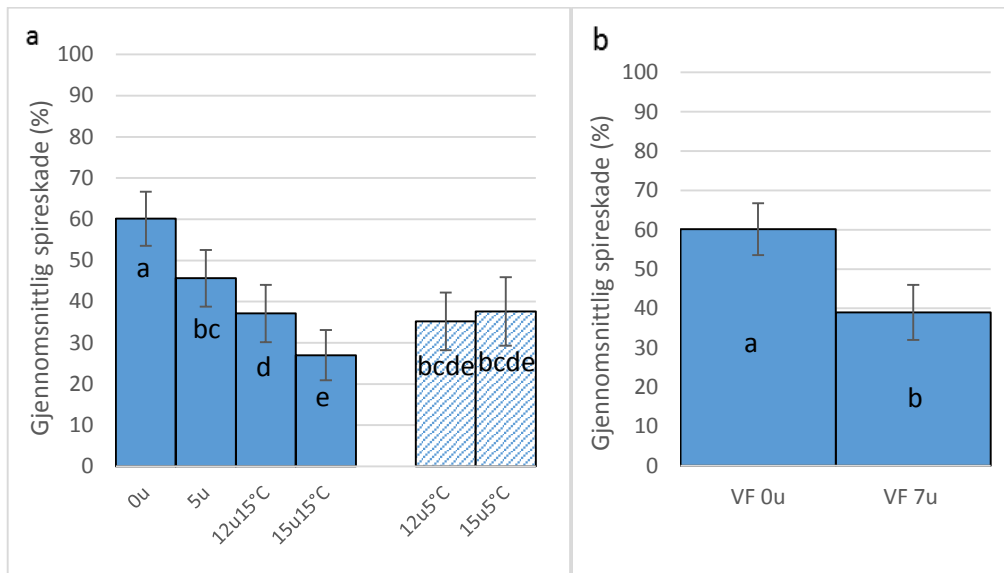


Figur 3-18: Smitteprosent (% spireskade) i såkornprøver fra parti 1-10 og prøve av kontrollpartiet av bygg analysert med Doyermetoden, i februar 2013 (5u) og for veiledningsprøven i april 2013 (VF 7u). Minst en lik bokstav betyr signifikant forskjell i spireprosent for hvert parti mellom analysetidspunktene.

b) Havre

Gjennomsnittlig smitteprosent for de ni såkornpartiene av havre analysert i oktober 2012 og februar, september og desember 2013 er vist i Figur 3-19. Smitteprosent for enkeltpartier, i tillegg til i kontrollpartiet er vist i Figur 3-20 a og b (for prøver lagret ved henholdsvis 15°C og 5°C), samt i Vedlegg 8. Smitteprosent for de ni veiledningsprøvene i tillegg til kontrollen av havre analysert i april 2013 sammenlignet med smitteprosent i de ni såkornpartiene i tillegg til kontrollen analysert i februar 2013 er vist i Figur 3-21.

Det var en signifikant reduksjon i gjennomsnittlig andel såkorn av havre med spireskader etter 15 måneders lagring ved $P < 0,05$ (Figur 3-19). Reduksjonen var signifikant fra oktober 2012 til februar 2013 (5u), fra februar til september (12u15°C), og fra september til desember (15u15°C) på 15°C lageret (Figur 3-19). Reduksjonen var størst i løpet av de fem første lagringsmånedene. I kontrollpartiet varierte andel såkorn av havre med spireskader fra 11-25,5 % (Figur 3-20).



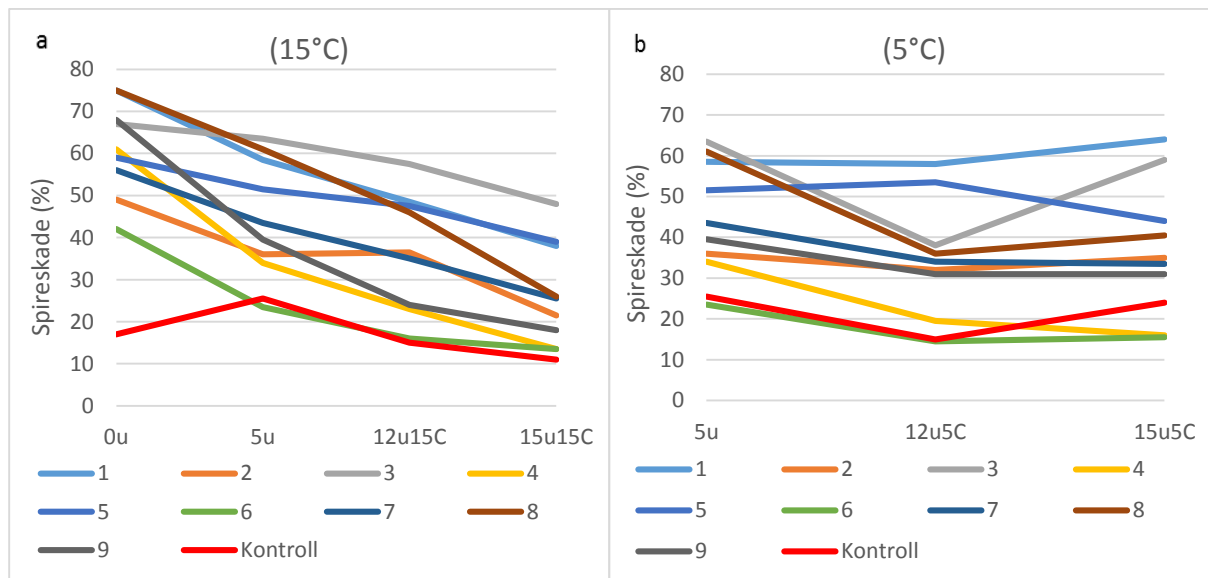
Figur 3-19: Gjennomsnittlig smitteprosent (% spireskade) i såkornprøver av havre (parti 1-9) analysert med Doyermethoden a) i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u), og b) i veiledningsprøven i oktober 2012 (VF 0u) og april 2013 (VF 7u). Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav vil si at det ikke er signifikant forskjell ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

I veiledningsprøven ble andel såkorn av havre med spireskader signifikant redusert fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) (Figur 3-19b). Reduksjonen var på 16 % over en lagringstid på syv måneder. I kontrollpartiet var andel spireskadete såkorn i april 21 % (Vedlegg 8).

For parti 5, 8 og 9 av havre ble smitteprosenten signifikant redusert (henholdsvis $P = 0,029$, $0,022$ og $0,020$) fra 5u til 15u15°C ved $P < 0,05$, det samme gjaldt for parti 2 mellom 12u15°C og 15u15°C (Figur 3-20 a).

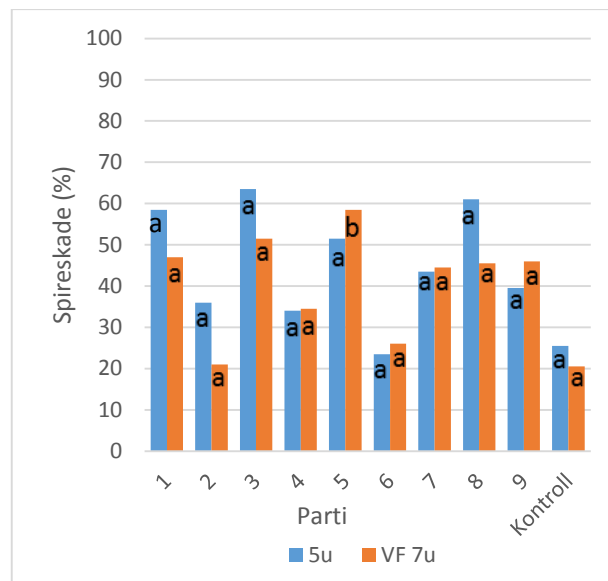
Ved lagring av havre på 5°C var gjennomsnittlig smitteprosent mer stabil enn ved 15°C. (Figur 3-20 b). Parti 7 og 8 hadde en signifikant reduksjon (henholdsvis $P = 0,028$ og $0,009$) i smitteprosent fra 5u til 12u5°C og 15u5°C ved $P < 0,05$.

Smitteprosenten var signifikant høyere ved lagring på 15°C enn 5°C for parti 3 og 8 av havre ved 12u (henholdsvis $P = 0,04$ og $0,01$). Det var en høyere smitteprosent for alle såkornpartiene av havre ved 5°C enn ved 15°C ved 15u, forskjellen var signifikant for parti 1, 3 og i kontrollen (henholdsvis P verdier på $0,044$, $0,039$ og $0,011$).



Figur 3-20: Smitteprosent (% spireskade) i såkornprøver fra parti 1-9 og prøve av kontrollpartiet av havre analysert med Doyermethoden a) i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u15°C) og desember 2013 (15u15°C), og b) i februar 2013 (5u), september 2013 (12u5°C) og desember 2013 (15u5°C).

Det var signifikant høyere i smitteprosent ved VF 7u enn ved 5u for parti 5 av havre ($P = 0,047$) ved $P < 0,05$, for de resterende partier var det ingen signifikante forskjeller (Figur 3-21).



Figur 3-21: Smitteprosent (% spirekskade) i såkornprøver fra parti 1-9 og kontrollpartiet av havre analysert med Doyermethoden, i februar 2013 (5u) og for veiledningsprøven i april 2013 (VF 7u). Minst en lik bokstav betyr signifikant forskjell i spireprosent for hvert parti mellom analysetidspunktene.

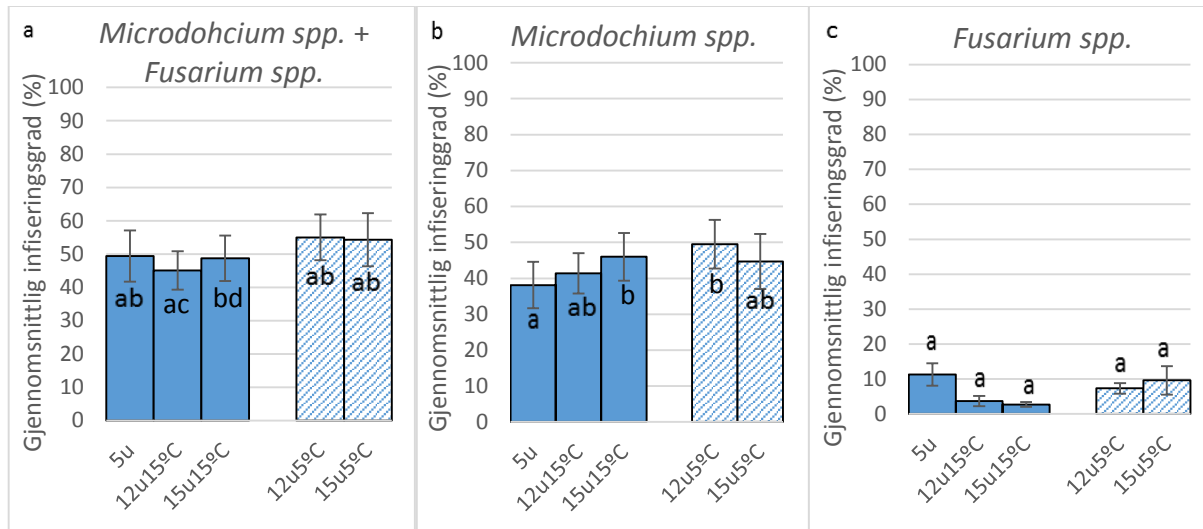
3.4 «Agarmetoden»

a) Bygg

Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.*, og *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* hver for seg, for de 10 såkornpartiene av bygg analysert i februar-, september- og desember 2013, er vist i Figur 3-22 a, b og c. Resultater for enkeltpartiene er vist i Figur 3-23 a og b, samt i Vedlegg 9 og Vedlegg 10.

Ved lagring på 15°C fra februar (5u) til desember (15u) 15°C var andel såkorn av bygg infisert med *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* relativt stabil. Ved lagring på 5°C (15u) 5°C var det en tendens til økning i andel såkorn med soppinfisering gjennom lagringsperioden (Figur 3-22a).

Agar-analysene viste at det hovedsakelig var smitte av *Microdochium spp.* i prøvene, og relativt lite *Fusarium spp.* Andel såkorn infisert med *Microdochium spp.* hadde en signifikant økning fra februar (5u) til desember (15u15°C) i såkorn lagret på 15°C, og fra februar til september (12u5°C) i såkorn lagret på 5°C (Figur 3-22b).



Figur 3-22: Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* i såkornprøver av bygg (parti 1-10) analysert med agarmetoden (PDA) i februar (5u), september (12u) og desember (15u) a) sum infisering av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*, b) infisering av *Microdochium spp.* og c) infisering av *Fusarium spp.* Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav vil si at det ikke er signifikant forskjell i mengde sopp ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

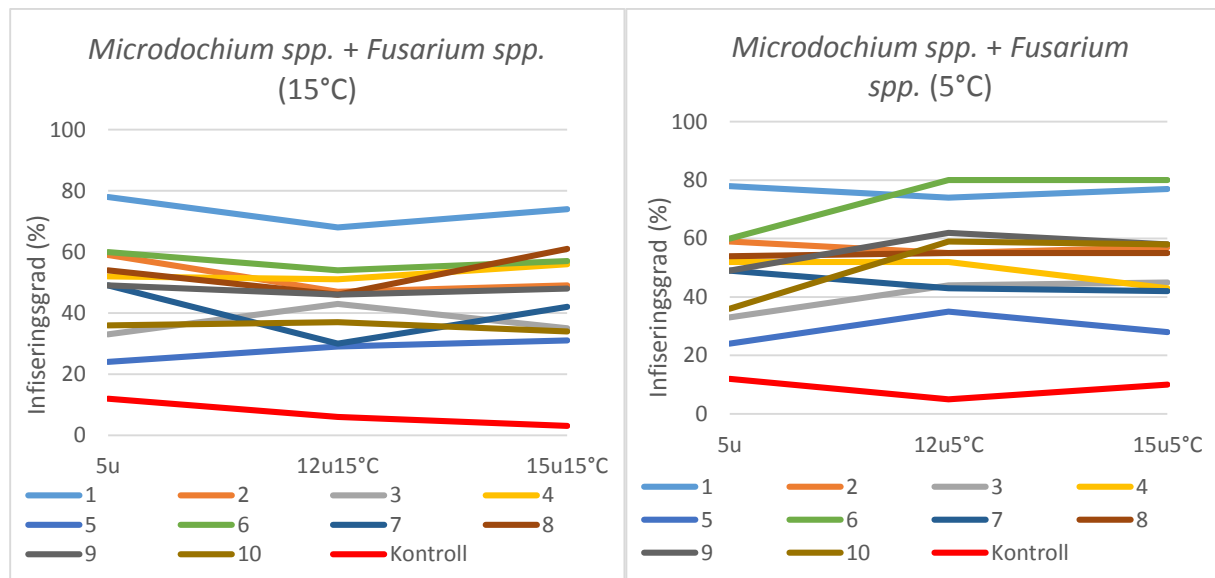
Andel såkorn infisert med *Fusarium spp.* hadde en tendens til reduksjon fra februar (5u) til desember (15u15°C) ved lagring på 15°C (Figur 3-22c). For såkornet lagret på 5°C var andel såkorn infisert med *Fusarium spp.* relativt stabil. I kontrollpartiet varierte infisering med *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* fra 3-12 % (Vedlegg 9).

Agar testen viste at parti 1 av bygg hadde høyest infiseringsnivå (Figur 3-23a).

Infiseringsnivået i parti 7 ble signifikant redusert ($P = 0,024$) fra 5u til 12u15°C ved $P < 0,05$, men økte igjen mot 15u15°C. For parti 8 økte infiseringsnivået signifikant ($P = 0,033$) fra 12u15°C til 15u15°C ved $P < 0,05$.

For såkorn av bygg lagret på 5°C hadde parti 1 og 6 høyest infiseringsnivå, mens parti 5 hadde det laveste nivået (Figur 3-23b). I parti 10 var det en signifikant økning i infiseringsnivået fra 5u til 12u5°C og 15u5°C ($P < 0,05$).

Det var en trend for høyere infiseringsnivå i 5°C- enn i 15°C lageret. Parti 9 hadde signifikant høyere infiseringsgrad i 5°C lageret enn 15°C lageret ved 12u, ved 15u hadde parti 3, 6 og 10 signifikant høyere infisering ved lagring på 5°C (henholdsvis $P = 0,019$, $0,030$ og $0,033$).



Figur 3-23: Smitteprosent av *Microdochium* spp. og *Fusarium* spp. i såkornprøver fra parti 1-10 + kontrollpartiet av bygg analysert med agarmetoden (PDA) i februar (5u), september (12u) og desember (15u) ved a) lagring på 15°C og b) lagring på 5°C.

b) Havre

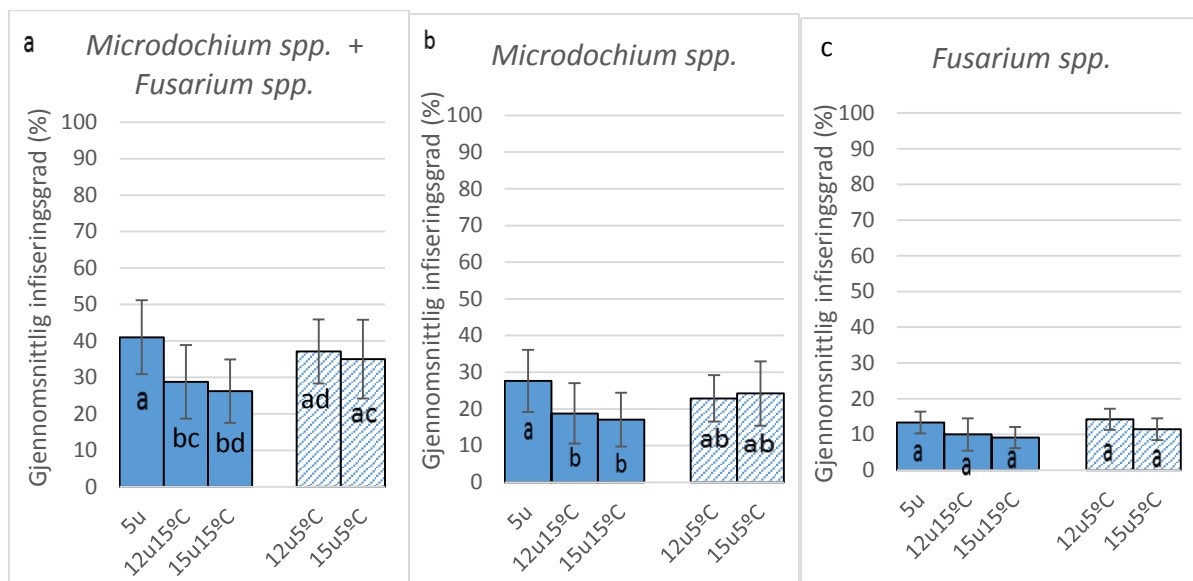
Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.*, og *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* hver for seg, for de ni såkornpartiene av havre analysert i februar-, september- og desember 2013, er vist i Figur 3-24 a, b og c. Resultater for enkeltpartiene er vist i Figur 3-25 a og b, samt i Vedlegg 11 og Vedlegg 12.

Det var en signifikant reduksjon i andel såkorn av havre med *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* fra februar (5u) til september (12u 15°C) og til desember (15u15°C) lagret på 15°C ved $P < 0,05$ (Figur 3-24a). For såkorn lagret på 5°C var det ingen signifikant endring i smitteprosent gjennom lagringsperioden, og dermed var det signifikant høyere smitteprosent i prøver fra 5°C lageret sammenlignet med 15°C lageret i både september og desember (Figur 3-24a).

Agar-analysene viste at det var mer smitte av *Microdochium spp.* enn *Fusarium spp.* i prøvene av havre. Andel *Microdochium spp.* infisering i såkorn av havre ble signifikant redusert fra februar (5u) frem til desember (15u15°C) i 15°C lageret ved $P < 0,05$, med størst reduksjon fra februar til september (12u15°C). For såkorn lagret på 5°C var det ingen endring i andel såkorn infisert med *Microdochium spp.* (Figur 3-24 b).

Det var ingen signifikant endring i smitteprosent av *Fusarium spp.* i havre gjennom lagringsperioden, og heller ingen forskjell i smitteprosent av soppene i prøver lagret ved 15°C og 5°C (Figur 3-24 c).

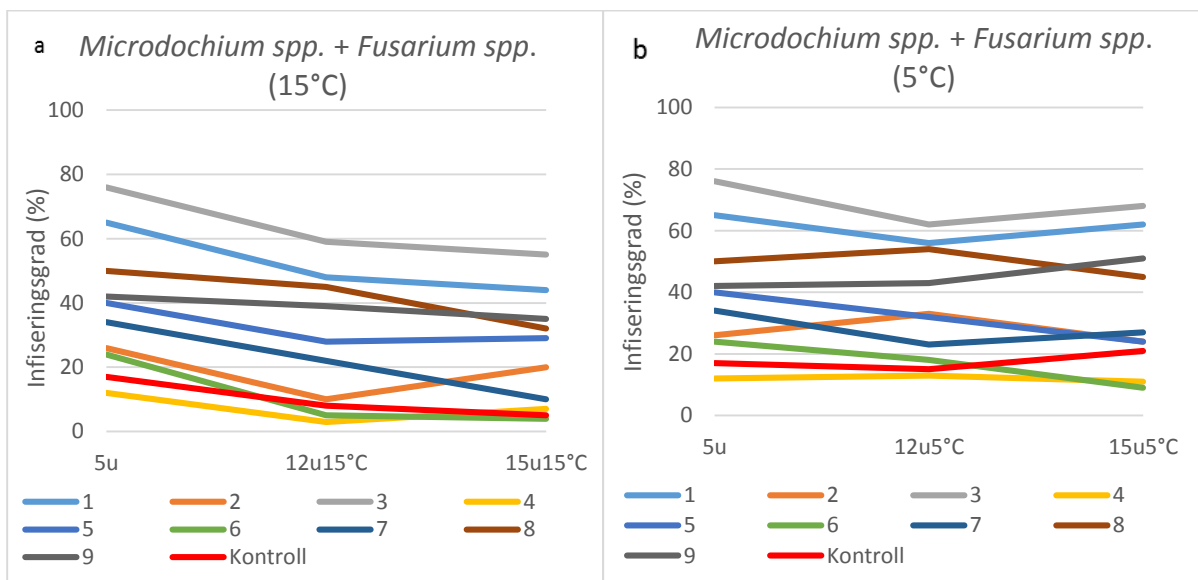
Smitteprosent av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* i kontrollpartiet varierte fra 17% i oktober 2012 til 25,5% i februar 2013 og 11% i desember 2013 i 15°C lageret, og var oppe i 24 % i 5°C lageret i desember (Vedlegg 11).



Figur 3-24: Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* i såkornprøver av havre (parti 1-9) analysert med agarmetoden (PDA) i februar (5u), september (12u) og desember (15u) a) sum infisering av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*, b) infisering av *Microdochium spp.* og c) infisering av *Fusarium spp.* Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav vil si at det ikke er signifikant forskjell i mengde sopp ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

Agartesten viste tendens til redusert infiseringsgrad fra februar (5u) til desember (15u) i 15°C lageret for alle såkornpartiene av havre (Figur 3-25), men reduksjonen var signifikant kun for parti 3 og 7 ($P = 0,012$ og $0,004$). Det var også signifikant reduksjon i smitteprosent i kontrollpartiet av havre fra 5u til 12u15°C ($P = 0,004$). I 5°C lageret var det signifikant endring kun i parti 7 ($P = 0,026$), hvor infiseringsgraden ble redusert fra 5u til 12u5°C.

Infiseringsgraden mellom partiene lagret på 5°C og 15°C var signifikant høyere etter lagring på 5°C for parti 2, 6 og kontrollpartiet ved 12u (henholdsvis $P = 0,016$, $0,028$ og $0,20$). Ved 15u var det signifikant høyere infiseringsgrad etter lagring på 5°C i parti 3, 7 og 8 av havre (henholdsvis $P = 0,028$, $0,017$ og $0,28$). Ved både 12u og 15u var det en trend for høyere infiseringsgrad etter lagring på 5°C enn etter lagring på 15°C for såkornpartiene av havre.



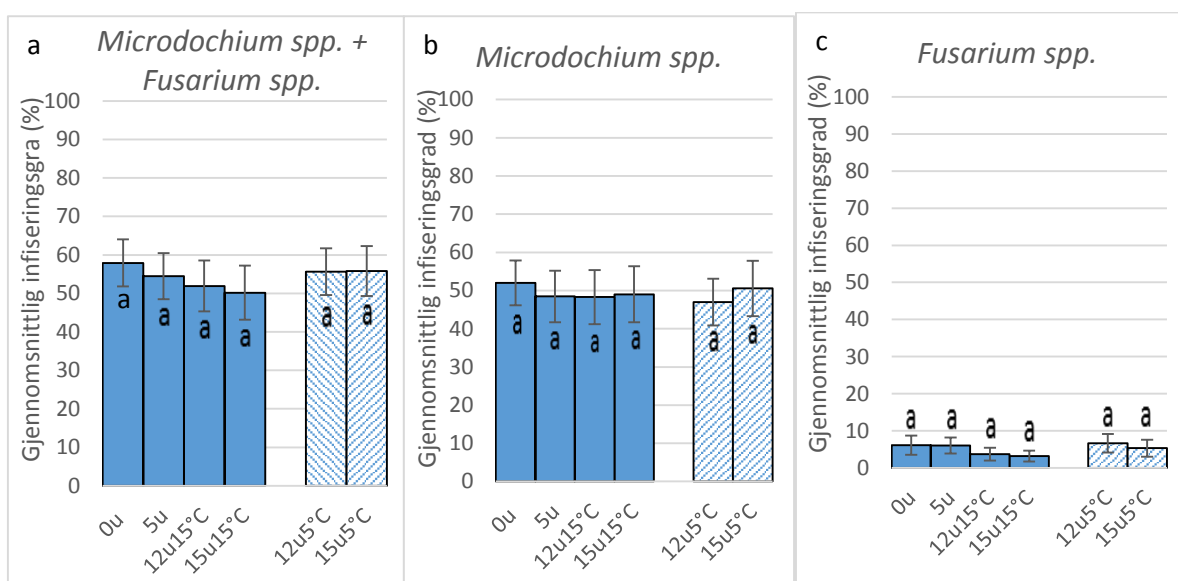
Figur 3-25: Smitteprosent av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* i såkornprøver fra parti 1-9 og prøve av kontrollpartiet av havre analysert med agarmetoden (PDA) i februar (5u), september (12u) og desember (15u) ved a) lagring på 15°C og b) lagring på 5°C.

c) Vårhvete

Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.*, og *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* hver for seg, for de 11 såkornpartiene av vårhvete analysert i oktober 2012, og februar, september og desember 2013, er vist i Figur 3-26, og for veiledningsprøven i Figur 3-27. Resultater for enkeltpartiene er vist i Figur 3-28, og i Vedlegg 13 og Vedlegg 14.

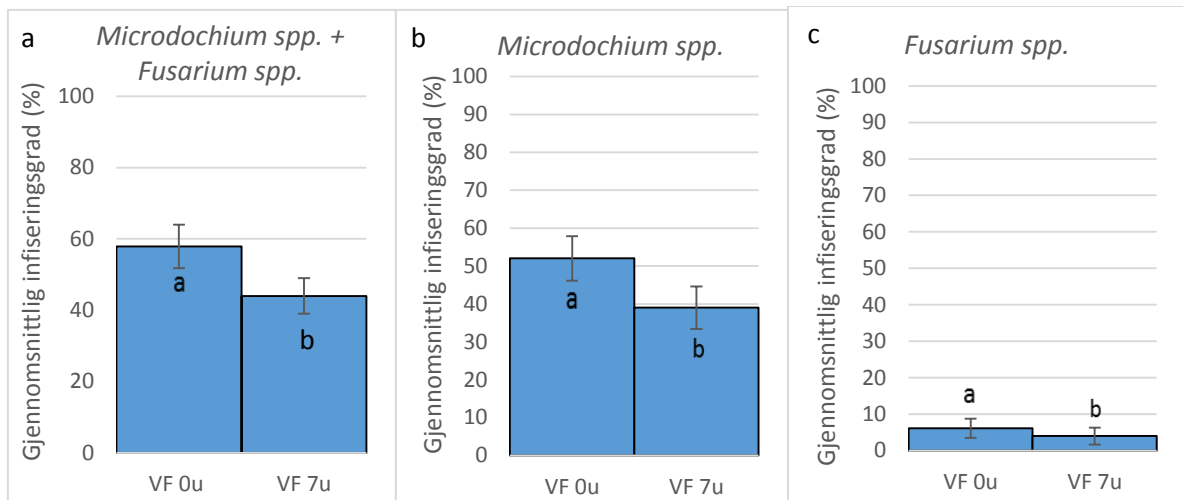
Agartesten viste at det hovedsakelig var smitte av *Microdochium spp.* også i prøvene av vårhvete, og relativt lite *Fusarium spp.* Det var ingen signifikant endring i andel såkorn av vårhvete med soppinfisering i løpet av lagringsperioden, hverken for *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.*, eller for *Microdochium spp.* eller *Fusarium spp.* hver for seg ved $P < 0,05$ (Figur 3-26a, b, c). Det var heller ingen forskjell i smitteprosent i prøver lagret ved 15°C og 5°C, men det var en tendens til reduksjon i smittegrad i prøver lagret på 15°C (Figur 3-26a).

Smittegrad av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* i kontrollpartiet varierte fra 10-20 % i løpet av lagringsperioden (Vedlegg 13).



Figur 3-26: Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* i såkornprøver av vårhvete (parti 1-11) analysert med agarmetoden (PDA) i oktober 2012, februar (5u), september (12u) og desember (15u) 2013 a) sum infisering av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*, b) infisering av *Microdochium spp.* og c) infisering av *Fusarium spp.* Helfargete stolper representerer resultater fra 15°C lageret og skraverte stolper resultater fra 5°C lageret. Minst en lik bokstav vil si at det ikke er signifikant forskjell i mengde sopp ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

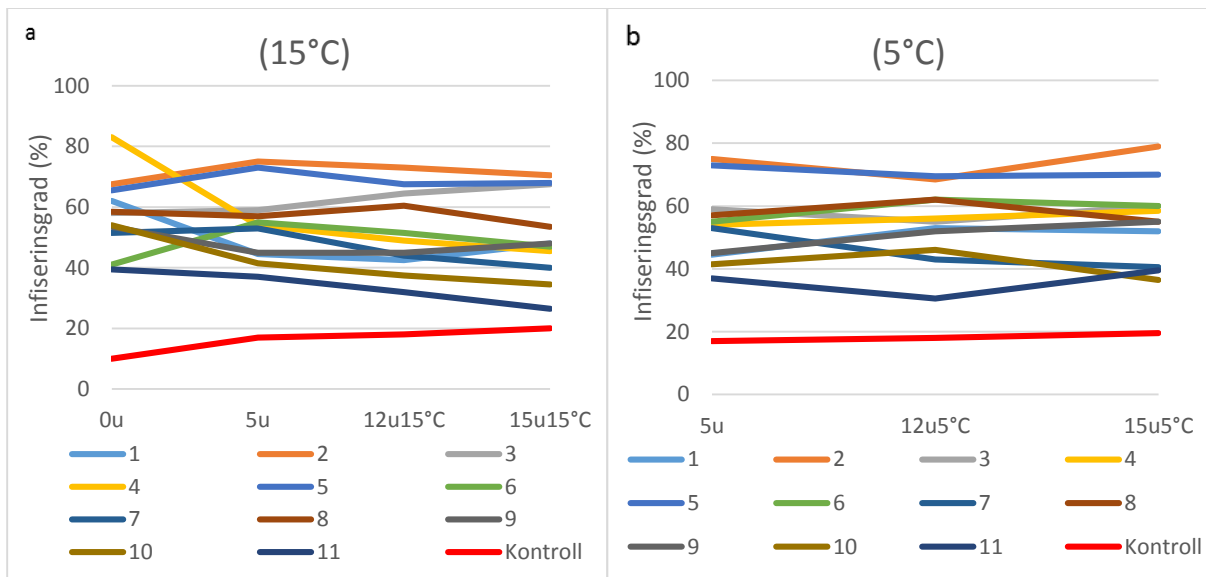
For veiledningsprøvene av vårhvetepartiene var det en signifikant reduksjon i smittegrad av *Microdochium spp.* + *Fusarium spp.* og for soppsektene hver for seg fra oktober (VF 0u) til april (VF 7u) ved $P < 0,05$ (Figur 3-27a, b og c). I kontrollpartiet var smitteprosent (10 %) uendret fra oktober til april (Vedlegg 13).



Figur 3-27: Gjennomsnittlig smitteprosent av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* i veiledningsprøven av vårhvete (parti 1-11) fra oktober 2012 (VF 0u) til april 2013 (VF 7u) for såkornparti 1-11 av vårhvete (veiledningsprøven) i a) såkorn med soppinfisering b) *Microdochium spp.* infisering og c) *Fusarium spp.* infisering. Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell i infeksjonsprosent fra oktober til april ved $P < 0,05$. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

Infiseringsgraden var høyest i parti 2 og 5 av vårhvete lagret på 15°C, og lavest i parti 11 (Figur 3-28 a). I parti 4 ble infiseringsgraden signifikant redusert fra oktober 2012 (0u) til desember 2013 (15u15°C) ($P < 0,003$), med størst reduksjon mellom 0u og 5u. I parti 6 økte infiseringsgraden med 10 % fra oktober 2012 (0u) til februar 2013 (5u), men deretter var det en reduksjon frem mot desember 2012 (15u15°C). For såkorn lagret på 5°C var infiseringsgraden relativt stabil fra februar (5u) til desember (15u5°C).

Infiseringsgraden mellom partiene lagret på 5°C og 15°C var signifikant høyere etter lagring på 5°C for parti 1 ved september (12u) og parti 4 ved desember (15u) (henholdsvis $P = 0,028$ og $0,036$). Det var en trend for høyere infiseringsgrad i såkornpartiene av vårhvete lagret ved 5°C enn ved 15°C.



Figur 3-28: Smitteprosent av *Microdochium* spp. og *Fusarium* spp. i såkornprøver fra parti 1-11 + kontroll av vårhvete analysert med agarmetoden (PDA) i oktober 2012 (0u), februar 2013 (5u), september 2013 (12u) og desember 2013 (15u) ved a) lagring på 15°C og b) lagring på 5°C.

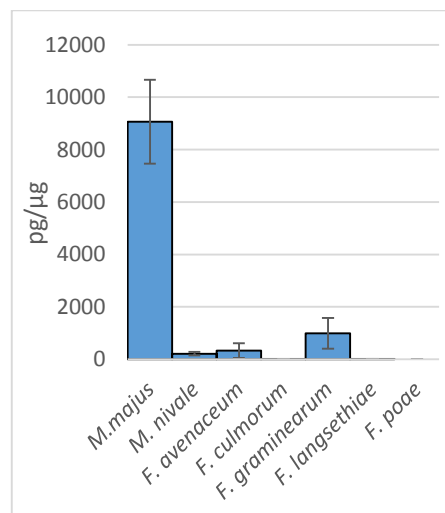
3.5 Kvantifisering og identifisering av sopp i såkorn med qPCR

a) Bygg

Gjennomsnittlig mengde *M. majus*, *M. nivale*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* og *F. poae* i de 10 såkornpartiene av bygg analysert i desember 2013, er vist i Figur 3-29. Resultater for enkeltpartiene er vist i Vedlegg 15.

qPCR analysene viser at såkornet av bygg hovedsakelig var kontaminert av *M. majus* med gjennomsnittlig mengde i såkornparti 1-10 av bygg på 9061 pg/ μ g *M. majus*-DNA/bygg-DNA. Kun lave nivåer av *M. nivale* ble detektert (Figur 3-29). Sammenlagt var det 92 752 pg/ μ g *Microdochium spp.*-DNA/bygg-DNA, som utgjorde 87 % av sopp DNAet i prøvene (Vedlegg 15). Av *Fusarium*-artene var det høyest forekomst av *F. graminearum*, med en mengde på 993 pg/ μ g DNA/bygg-DNA, etterfulgt av *F. avenaceum* og *F. langsethiae*.

I kontrollpartiet av bygg ble det totalt detektert 1508 pg/ μ g Sopp-DNA/bygg-DNA. Dette var hovedsakelig DNA fra *F. graminearum*, *M. majus* og *F. avenaceum* (Vedlegg 15).



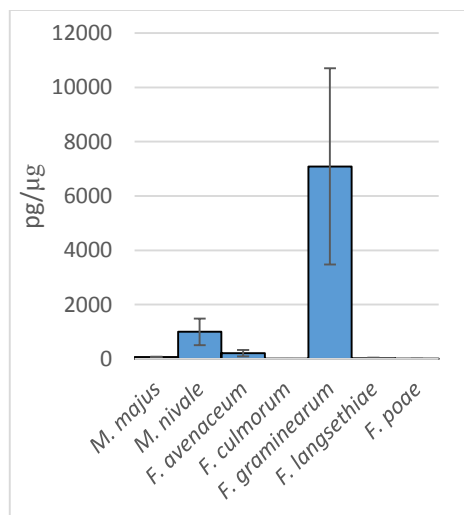
Figur 3-29: Gjennomsnittlig soppDNA/planteDNA (pg/ μ g) i såkornparti 1-10 av bygg lagret på 15°C. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

b) Havre

Gjennomsnittlig mengde *M. majus*, *M. nivale*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* og *F. poae* i de ni såkornpartiene av havre analysert i desember 2013, er vist i Figur 3-30. Resultater for enkeltpartiene er vist i Vedlegg 16.

I såkorn av havre ble det kvantifisert mest DNA fra *F. graminearum*, med et gjennomsnitt for såkornparti 1-9 på 7089 pg/ μ g *F. graminearum*-DNA/havre-DNA, etterfulgt av *F. avenaceum* og *F. langsethiae*. Variasjonen i mengde *F. graminearum* mellom såkornparti 1-9 var stor (Vedlegg 16). Av *Microdochium*-artene dominerte *M. nivale*, med gjennomsnittlig mengde på 998 pg/ μ g *M. nivale*-DNA/havre-DNA (Figur 3-30). Sammenlagt var det 9600 pg/ μ g *Microdochium*-DNA/bygg-DNA, som utgjorde 13 % av sopp DNAet i prøvene (Vedlegg 16).

I kontrollpartiet av havre ble det kvantifisert 415 pg/ μ g sopp-DNA/havre-DNA, hovedsakelig fra *F. graminearum* og *M. nivale* (Vedlegg 16).



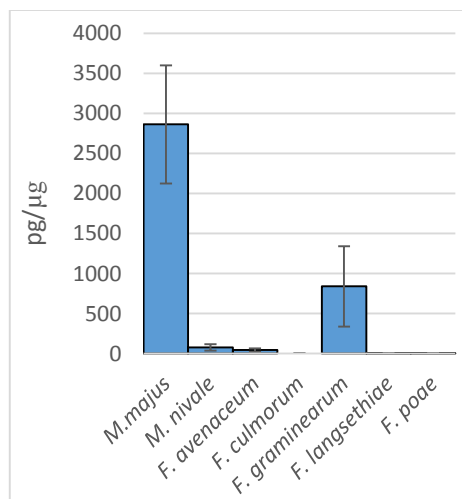
Figur 3-30: Gjennomsnittlig mengde soppDNA/planteDNA (pg/ μ g) i såkornparti 1-9 av havre lagret på 15°C. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

c) Vårhvete

Gjennomsnittlig mengde *M. majus*, *M. nivale*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* og *F. poae* i de 11 såkornpartiene av vårhvete analysert i desember 2013, er vist i Figur 3-31. Resultater for enkeltpartiene er vist i Vedlegg 17.

I såkorn av vårhvete ble det kvantifisert mest DNA av *M. majus* med et gjennomsnitt for såkornparti 1-11 på 2864 pg/ μ g *M. majus*-DNA/vårhvete-DNA (Figur 3-31), mens kun lavere nivåer av *M. nivale* ble detektert. Sammenlagt var det 32 351 pg/ μ g *Microdochium*-DNA/vårhvete-DNA, som utgjorde 77 % av sopp-DNAet i prøvene (Vedlegg 17). Av *Fusarium*-artene var det høyest forekomst av *F. graminearum* med et gjennomsnitt på 840 pg/ μ g *F. graminearum*-DNA/vårhvete-DNA, etterfulgt av *F. avenaceum*.

I kontrollpartiet av vårhvete ble det kvantifisert 620 pg/ μ g sopp-DNA/vårhvete-DNA, hovedsakelig fra *F. graminearum* og *M. majus* (Vedlegg 17).



Figur 3-31: Gjennomsnittlig soppDNA/planteDNA (pg/ μ g) i såkornparti 1-11 av vårhvete lagret på 15°C. Standardavviket for hver analyse er vist i figuren.

3.6 Sammenheng mellom spireevne registrert i felt og på laboratoriet

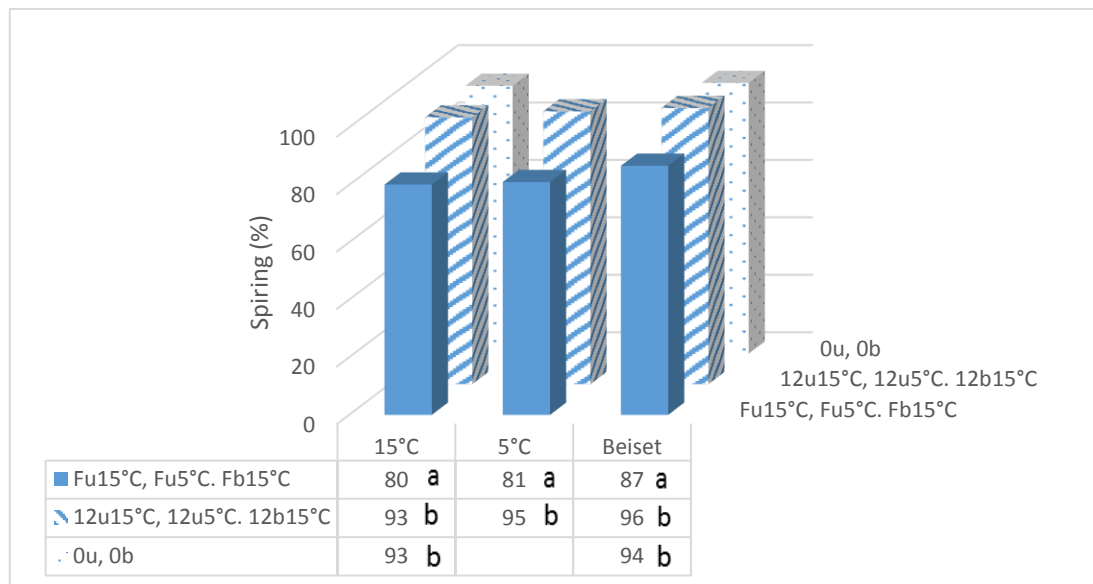
Et feltforsøk ble gjort for å kartlegge oppspiring av et utvalg av såkornprøvene i felt.

Resultatene fra feltforsøket ble sammenlignet med resultatene fra spireanalysene i laboratoriet fra oktober 2012 og september 2013. En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiring i felt mellom temperaturlagrene og mellom ubeiset og beiset såkorn ble også gjort.

a) Bygg

Gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøk for seks såkornpartier av bygg og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet i oktober 2012 og september 2013 er vist i Figur 3-32. Oppspiring i felt for enkeltpartier er vist i Vedlegg 22.

Det var signifikant lavere gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøket (Fu15°C, Fb15°C) enn spireprosent i laboratorieanalysene i oktober 2012 (0u, 0b) (Figur 3-32). Gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøket var også signifikant lavere enn gjennomsnittlig spireprosent fra laboratorieanalysene i september 2013 (12u15°C, 12u5°C og 12b15°C) for alle tre behandlingene ved $P < 0,05$ (Figur 3-32). Kontrollpartiet hadde en gjennomsnittlig oppspiring på 91 % for Fu15°C, 92 % for Fu5°C og 92 % for Fb15°C (Vedlegg 22).

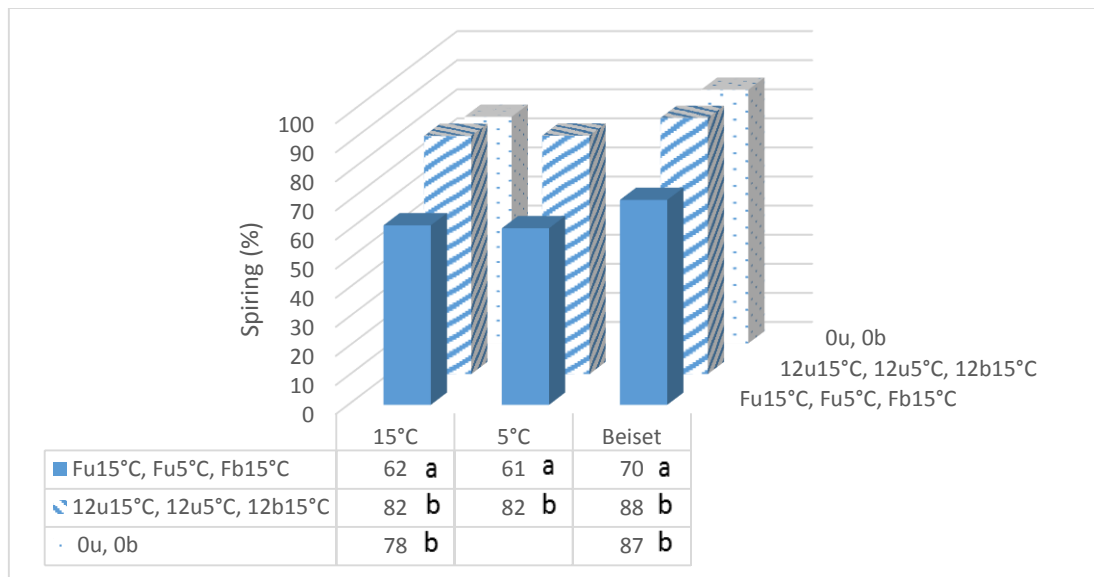


Figur 3-32: Gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 1-6 av bygg i felt i mai 2013 (Fu15°C, Fu5°C og Fb15°C), spireprosenten fra laboratorieanalysene i oktober 2012 (0u og 0b) og i september 2013 (12u15°C, 12u5°C og 12b15°C). Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i feltforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

b) Havre

Gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøk for fem såkornpartier av havre og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet fra oktober 2012 og september 2013 er vist i Figur 3-33. Oppspiring i felt for enkeltpartier er vist i Vedlegg 23.

Det var signifikant lavere gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøket (Fu15°C, Fu5°C og Fb15°C) enn i laboratorieanalysene i både oktober 2012 (0u, 0b) og september 2013 (12u15°C, 12u5°C og 12b15°C) ved $P < 0,05$ (Figur 3-33). Spireprosenten i kontrollpartiet hadde en gjennomsnittlig oppspiring på 80 % for Fu15°C, 81 % for Fu5°C og 85 % for Fb15°C (Vedlegg 23).



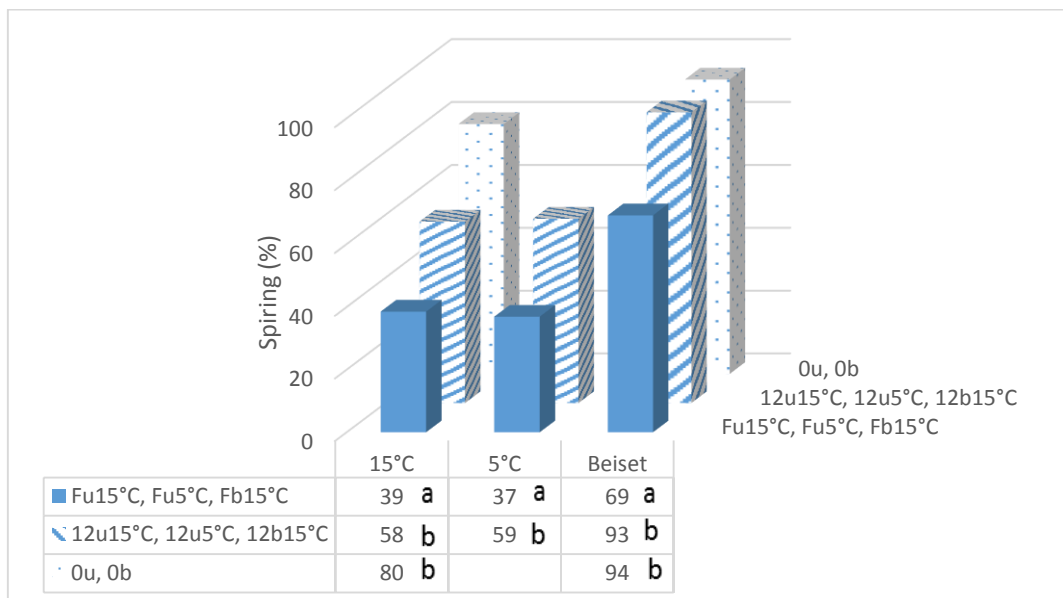
Figur 3-33: Gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 1, 2, 5, 8 og 9 av havre i felt i mai 2013 (Fu15°C, Fu5°C og Fb15°C), spireprosenten fra laboratorieanalysene i oktober 2012 (0u og 0b) og i september 2013 (12u15°C, 12u5°C og 12b15°C). Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i feltforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

c) Vårhvet

Gjennomsnittlig oppspiring i feltforsøk for seks såkornpartier av vårhvet og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet fra oktober 2012 og september 2013 er vist i Figur 3-34. Oppspiring i felt for enkeltpartier er vist i Vedlegg 24.

Gjennomsnittlig oppspiring av ubeiset og beiset såkorn i felt (Fu15°C, Fu5°C, Fb15°C) var signifikant lavere enn gjennomsnittlig spireprosent fra spireanalysene både fra oktober 2012 (Ou, Ob) og september 2013 (12u15°C, 12u5°C, 12b15°C) ved $P < 0,05$ (Figur 3-34).

Gjennomsnittlig oppspiring i kontrollpartiet var på 59 % for Fu15°C, 55 % for Fu5°C og 71 % for Fb15°C (Vedlegg 24).



Figur 3-34: Gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 2, 4, 5, 6, 7 og 11 av vårhvet registrert i felt i mai 2013 (Fu15°C, Fu5°C og Fb15°C), på laboratoriet i oktober 2012 (Ou og Ob) og i september 2013 (12u15°C, 12u5°C og 12b15°C). Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i feltforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

3.6.1 Sammenligning av oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn, og såkorn lagret på 5°C og 15°C sådd i felt

En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiring fra såkornparti 1-6 av bygg sådd i felt viste at lagring av såkorn ved ulike temperaturer ikke gav en signifikant forskjell ved $P < 0,05$.

Beising førte til en signifikant økning i gjennomsnittlig oppspiring sammenlignet med ubeiset såkorn sådd i felt ved $P < 0,05$ (Tabell 3.1).

Det var ikke signifikant forskjell i gjennomsnittlig oppspiring mellom såkorn av havre lagret på 5°C og 15°C sådd i felt ved $P < 0,05$. Men beising førte til en signifikant økning i gjennomsnittlig oppspiring sammenlignet med ubeiset såkorn sådd i felt ved $P < 0,05$ (Tabell 3.1).

Det var ikke signifikant forskjell i oppspiring mellom såkorn av vårhvete lagret på 5°C og 15°C sådd i felt ved $P < 0,05$. Men beising førte til en signifikant økning i gjennomsnittlig oppspiring sammenlignet med ubeiset såkorn sådd i felt ved $P < 0,05$ (Tabell 3.1).

Tabell 3.1: Forskjell i gjennomsnittlig oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn av bygg (parti 1-6), havre (parti 1, 2, 5, 8 og 9) og vårhvete (parti 2, 4, 5, 6, 7 og 11) sådd i felt. Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring av ubeiset og beiset såkorn.

Prøve ID/Kornart	Bygg	Havre	Vårhvete
Fu15°C	80 % a	62 % a	39 % a
Fb15°C	87 % b	70 % b	69 % b

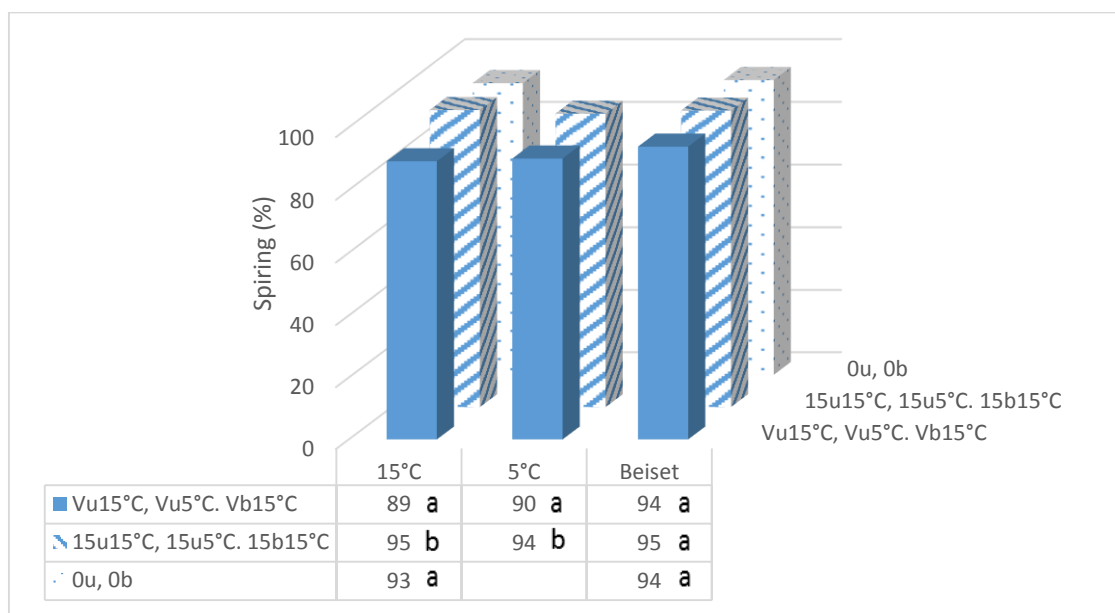
3.7 Sammenligning av oppspiring registrert i veksthus og på laboratoriet

Et veksthusforsøk ble gjort for å kartlegge såkornets oppspiring i veksthus. Resultatene fra veksthuset ble sammenlignet med resultatene fra spireanalysene i laboratoriet fra oktober 2012 og desember 2013. En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiring i veksthus mellom temperaturlagrene og ubeiset og beiset såkorn ble også gjort.

a) Bygg

Gjennomsnittlig oppspiring i veksthusforsøk for seks såkornpartier av bygg og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet fra oktober 2012 og desember 2013 er vist i Figur 3-35. Oppspiring i veksthus for enkeltpartier er vist i Vedlegg 25.

Gjennomsnittlig oppspiring for ubeiset såkorn i veksthus i desember (Vu15°C, Vu5°C) var signifikant lavere enn gjennomsnittlig spireprosent fra laboratorieanalysene i desember (15u15°C, 15u,5°C), for begge temperaturlagrene ved $P < 0,05$ (Figur 3-35). For beiset såkorn var det ikke signifikant forskjell i samme periode. Mellom gjennomsnittlig oppspiring for ubeiset og beiset såkorn i veksthuset (Vu15°C, Vb15°C) og gjennomsnittlig spireprosenten fra laboratorieanalyser fra oktober 2012 (0u, 0b) var det ikke signifikant forskjell ved $P < 0,05$. Gjennomsnittlig oppspiring i kontrollpartiet var 97 % for Vu15°C, 94 % for Vu5°C og 96 % for Vb15°C (Vedlegg 25).

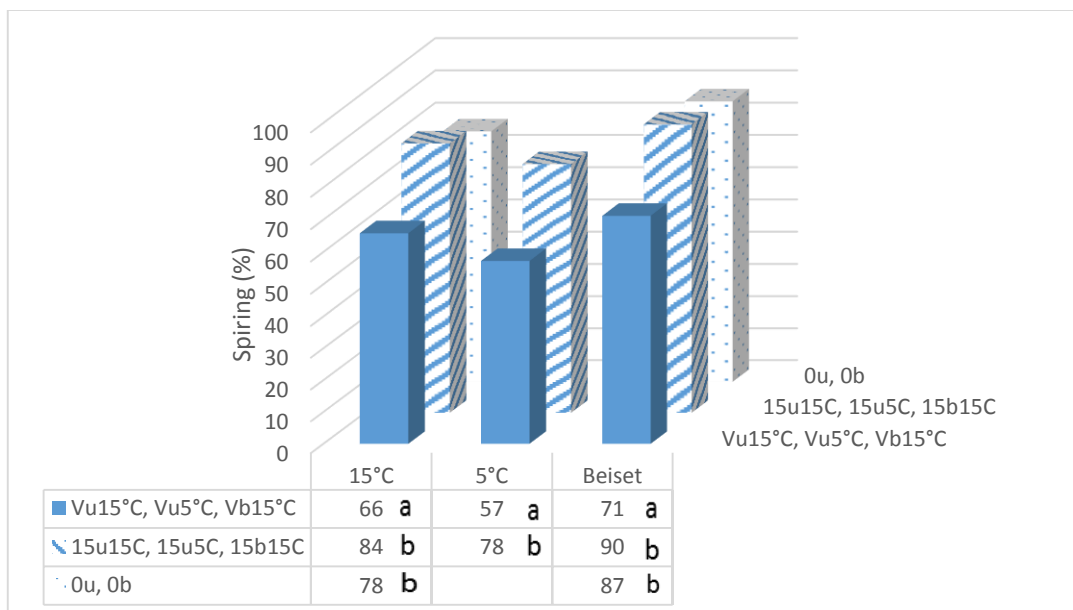


Figur 3-35: Gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 1-6 av bygg registrert i veksthus i desember 2013 (Vu15°C, Vu5°C og Vb15°C), spireprosent for spireanalyser fra laboratoriet i desember 2013 (15u15°C, 15u,5°C og 15b15°C) og i oktober 2012 (0u og 0b). Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i veksthusforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

b) Havre

Gjennomsnittlig oppspiring i veksthusforsøk for fem såkornpartier av havre og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet fra oktober 2012 og desember 2013 er vist i Figur 3-36. Oppspiring i veksthus for enkeltpartier er vist i Vedlegg 26.

Gjennomsnittlig oppspiringen for ubeiset og beiset såkorn sådd i veksthus i desember (Vu15°C, Vu5°C, Vb15°C) var signifikant lavere enn spireprosenten for såkornet analysert på laboratoriet i desember (12u15°C, 12u5°C, 12b15°C). Gjennomsnittlig oppspiringen for ubeiset og beiset såkorn sådd i veksthus (Vu15°C, Vb15°C) var også signifikant lavere enn spireprosenten fra i spireanalysene i oktober 2012 (0u, 0b) ved $P < 0,05$ (Figur 3-36). Gjennomsnittlig oppspiring i kontrollpartiet var 94 % for Vu15°C, 82 % for Vu5°C og 92 % for Vb15°C (Vedlegg 26).

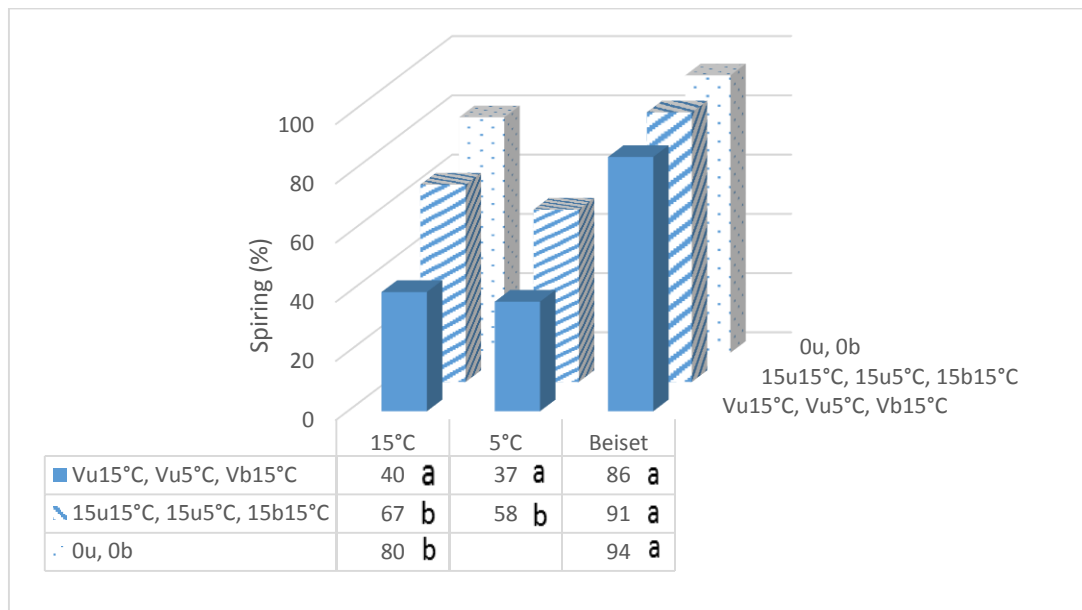


Figur 3-36: Gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 1,2,5,8 og 9 av havre registrert i veksthus i desember 2013 (Vu15°C, Vu5°C og Vb15°C), spireprosent for spireanalyser i desember 2013 (15u15°C, 15u5°C og 15b15°C) og i oktober 2012 (0u og 0b). Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i veksthusforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

c) Vårhvete

Gjennomsnittlig oppspiring i veksthusforsøk for seks såkornpartier av vårhvete og gjennomsnittlig spireprosent analysert på laboratoriet fra oktober 2012 og desember 2013 er vist i Figur 3-37. Oppspiring i veksthus for enkeltpartier er vist i Vedlegg 27.

Det var signifikant lavere gjennomsnittlig oppspiring for ubeiset såkorn i veksthuset (Vu15°C) enn gjennomsnittlig spireprosent fra laboratorieanalysene i oktober 2012 (0u) ved $P < 0,05$, det var ikke signifikant forskjell mellom beiset såkorn (Vb15°C, 0b). Mellom veksthusresultatene og spireanalysene i desember (15u15°C, 15u5°C) var det en signifikant forskjell for ubeiset såkornet fra begge temperaturlagrene, i begge tilfeller var spireprosenten fra laboratorieanalysene høyere enn oppspiringen i veksthusforsøket. For beiset såkorn (Vb15°C, 15b15°C) var spireprosenten ikke signifikant forskjellig. Gjennomsnittlig oppspiring i kontrollpartiet var 75 % for Vu15°C, 70 % for Vu5°C og 92 % for Vb15°C (Vedlegg 27).



Figur 3-37: Gjennomsnittlig oppspiring for såkorn fra parti 2,4,5,6,7 og 11 av vårhvete registrert i veksthus i desember 2013 (Vu15°C, Vu5°C og Vb15°C), spireprosent fra desember 2013 (15u15°C, 15u5°C og 15b15°C), og oktober 2012 (0u og 0b) fra laboratoriet. Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring i veksthusforsøket og spireprosent i laboratorieanalysene innad i hver såkornbehandling ved $P < 0,05$. Det ble ikke lagret såkorn ved 5°C i oktober 2012.

3.7.1 Sammenligning av oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn, og såkorn lagret på 5°C og 15°C sådd i veksthus

Det var ikke signifikant forskjell i gjennomsnittlig oppspiring mellom såkornparti 1-6 av bygg lagret ved 5°C og 15°C ved $P < 0,05$. En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiring mellom ubeiset og beiset av bygg viste at det var signifikant høyere oppspiring i veksthusforsøket etter beising ved $P < 0,05$ (Tabell 3.2).

Det var ikke signifikant forskjell mellom gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 1, 2, 5, 8 og 9 av havre lagret ved 5°C og 15°C ved $P < 0,05$. En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiringen mellom ubeiset og beiset såkorn av havre viste at det var signifikant høyere oppspiring i veksthusforsøket etter beising ved $P < 0,05$ (Tabell 3.2).

Det var ikke signifikant forskjell i gjennomsnittlig oppspiring for såkornparti 2, 4, 5, 6, 7 og 11 av vårhvete lagret ved 15°C og 5°C ved $P < 0,05$. En sammenligning av gjennomsnittlig oppspiringen mellom ubeiset og beiset såkorn av vårhvete viste at det var signifikant høyere oppspiring i veksthusforsøket etter beising ved $P < 0,05$ (Tabell 3.2).

Tabell 3.2: Forskjell i gjennomsnittlig oppspiring mellom ubeiset og beiset såkorn av bygg (parti 1-6), havre (parti 1, 2, 5, 8 og 9) og vårhvete (parti 2, 4, 5, 6, 7 og 11) sådd i veksthus.

Ulik bokstav vil si at det er signifikant forskjell mellom oppspiring av ubeiset og beiset såkorn.

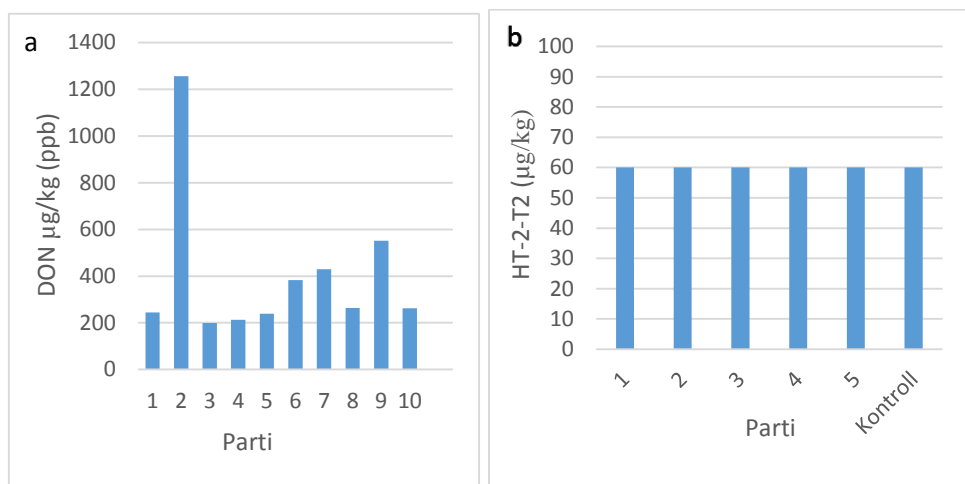
Prøve ID/Kornart	Bygg	Havre	Vårhvete
Vu15°C	89 % a	70 % a	40 % a
Vb15°C	94 % b	71 % b	86 % b

3.8 Mykotoksinanalyser

En ELISA test ble utført på oppmalte prøver av såkornpartiene for å kartlegge innhold av DON. Innhold av HT-2 og T2 ble kartlagt for utvalgte prøver av bygg og havre, men ikke for vårhvete. Korrelasjonstester mellom nivå av mykotoksin og spireprosent, og mellom soppartene og spireprosenten ble gjort for alle kornartene. Det ble også gjort en korrelasjonstest mellom nivå av DON og *F. graminearum*.

a) Bygg

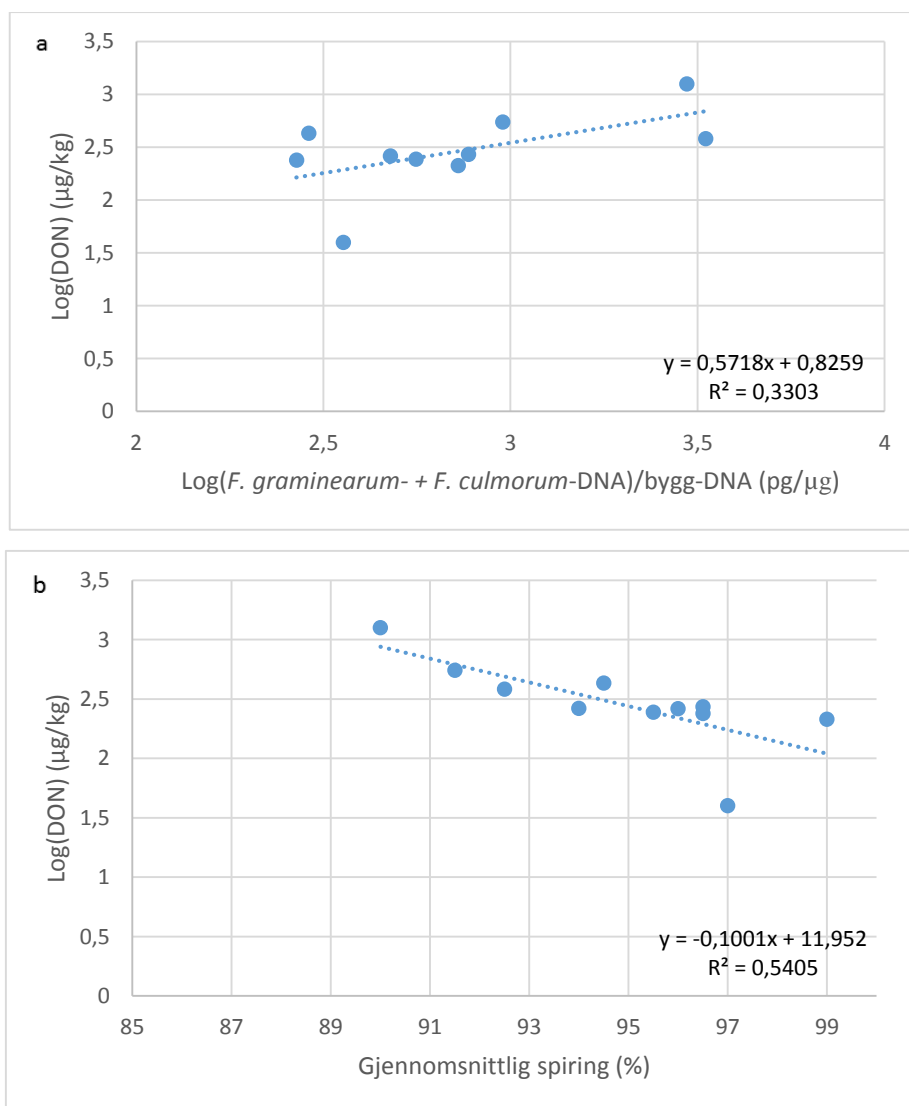
I parti 2 og 4-10 av bygg ble det detektert mer enn 200 mg/kg DON. Såkornparti 2 av bygg hadde høyest innhold av DON med 1256 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Figur 3-38a). HT-2 og T2 i de testede såkornpartiene av bygg hadde i alle prøvene nivåer under deteksjonsgrensen. I kontrollpartiet ble det detektert 271 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON, mens mengden HT-2 og T2 var under deteksjonsgrensen (Figur 3-38).



Figur 3-38: a) Mengde DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) såkornspart 3-10 og kontroll av bygg, og b) mengde HT-2 og T2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) i såkornparti 1-5 og kontroll av bygg.

3.8.1 Samsvar mellom spireprosent og mengde sopp eller toksin i bygg

Det var en negativ korrelasjon mellom spireprosenten og DON-innhold i såkornpartiene av bygg, med R^2 på 0,5404 (Figur 3-39 b), og ingen korrelasjon mellom spireprosenten og mengde *F. graminearum* + *F. culmorum* (Figur ikke vist). I sistnevnte korrelasjon ble parti 8 tatt ut på grunner av uvanlige resultater. Det var ingen sammenheng mellom spireprosent i såkorn av bygg og mengde soppDNA for de andre artene av *Fusarium* eller av *Microdochium* som ble kvantifisert, eller for totalt mengde soppDNA i kornet og spireprosent.

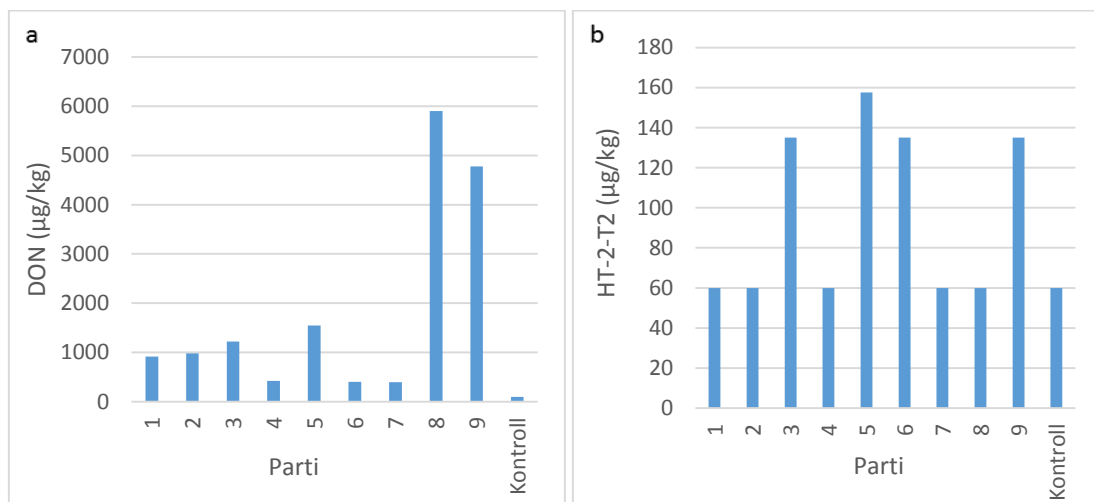


Figur 3-39: a) Korrelasjon mellom spireprosent i bygg og mengde *F. graminearum* + *F. culmorum* i såkornparti 1 -10 + kontrollen og b) korrelasjon mellom spireprosent i bygg og DON konsentrasjonen per såkornparti (parti1-10 + kontrollen). Figurene viser ligning og R^2 for trendlinjen.

Det var svak negativ korrelasjon mellom mengde DON og mengde *F. graminearum* i såkornparti 1-7 + 9-10 av bygg, med $R = 0,3303$ (Figur 3-39 b) (Parti 8 ble utelatt på grunn av ekstreme verdier).

b) Havre

Det var stor variasjon i mengde DON mellom parti 1-9 av havre. Det ble detektert høyest nivå av DON i parti 8 og 9, med henholdsvis 5896 $\mu\text{g}/\text{kg}$ og 4777 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON (Figur 3-40a). Det var totalt mest DON i havre sammenlignet med resultater fra bygg og vårhvete (Figur 3-38, Figur 3-41). Det var mest HT-2 og T2 i såkornparti 3, 5, 6 og 9 av havre med verdier mellom 135 til 157 $\mu\text{g}/\text{kg}$ HT-2 og T2. Parti 1, 2, 4, 7 og 8 hadde verdier lavere enn deteksjonsgrensen. I kontrollpartiet var det 219 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON, mens mengden HT-2 og T2 var under deteksjonsgrensen (Figur 3-40).

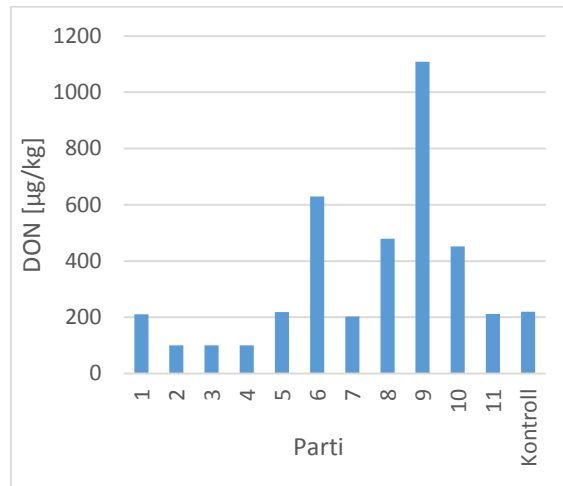


Figur 3-40: a) Mengde DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) i såkornparti 1-9 og kontroll av havre, b) mengde HT-2 og T2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) i såkornparti 1-9 og kontroll av havre.

Det var ingen sammenheng mellom spireprosent i såkorn av havre og mengde soppDNA for arter av *Fusarium* eller av *Microdochium* som ble kvantifisert, eller for totalt mengde soppDNA i korne. Men det var en positiv korrelasjon mellom mengde *F. graminearum* + *F. culmorum* i såkorn av havre og mengde DON, med R^2 på 0,8448 (Figur ikke vist).

c) Vårhvete

Det ble detektert DON i alle såkornpartier av vårhvete. Mengden varierte mellom partiene, høyeste nivå av DON ble detektert i parti 9 av vårhvete med 1108 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON. I kontrollpartiet var det 219 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON (Figur 3-41).



Figur 3-41: Mengde DON i $\mu\text{g}/\text{kg}$ i såkornparti 1-11 og kontroll av vårhvete.

Det var ingen korrelasjon mellom spireprosent i såkorn av vårhvete og mengde soppDNA for arter av *Fusarium* eller av *Microdochium* som ble kvantifisert, eller for totalt mengde soppDNA i kornet. Men det var en svak positiv korrelasjon mellom mengde *F. graminearum*- + *F. culmorum* DNA i såkorn av vårhvete og mengde DON, med R^2 på 0,425 (Figur ikke vist).

4 Diskusjon

Spireprosenten i såkornpartiene av havre infisert med *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* økte fra 81 % til 86 % i løpet av 15 måneders lagring på 15°C, der mesteparten av økningen allerede skjedde i løpet av de fem første lagringsmånedene. For bygg holdt spireprosenten seg relativt stabil over hele lagringsperioden, med et gjennomsnitt på over 90 %. Verken for havre eller bygg var det noen signifikante endringer. For vårhvete ble derimot spireprosenten signifikant redusert i de infiserte såkornpartiene i løpet av samme lagringsperiode. Imidlertid hadde prøvebeising god effekt i alle vårhvetepartiene.

Andel spireskader i bygg og havre som følge av soppinfeksjon ble redusert i løpet av lagringsperioden, også her skjedde mesteparten av endringen i løpet av de fem første lagringsmånedene. For vårhvete var det en tendens til reduksjon i andel såkorn infisert med *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*, i løpet av lagringsperioden men reduksjonen var svak og ikke signifikant.

4.1 Endring i spireprosent ved lagring

Etter 15 måneders lagring hadde partiene av bygg infisert med *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* en vedvarende høy spireprosent, godt over 85 % som er minstekravet for sertifisering av såkorn (Forskrift om såvare 1999). I enkeltpartiene kunne vi se at det var en tendens til økning i spireprosent for såkornpartiene av bygg, spesielt i løpet av de fem første lagringsmånedene. Parti 6 som hadde den mest uvanlige utviklingen i spireprosent, og som også var et av partiene med lavest spireprosent, var også det partiet av bygg der det ble registrert høyest grad av soppsmitte i Doyertesten.

For såkornpartiene av havre var det en tendensen til økning i spireprosent gjennom lagringsperioden. Spireprosenten økte til over 85 % i tre av de syv partiene som hadde spireprosent under 85 % ved start. For enkeltpartiene av havre hadde parti 6 høyest spireevne, og var også et av partiene med lavest registrert smitteprosenten. Mens parti 7 som hadde den største økningen i spireprosent etter 15 måneders lagring, hadde middels med smitte. Disse resultatene stemmer overens med observasjoner av Bergstrom (1993) og av Gilbert og Tekauz (1995) om at spireprosenten i lettere *Fusarium*-infiserte såkorn økte etter en lagringsperiode. Bergstrom (1993) antydte at årsaken til økt spireprosent kunne skyldes at soppen var blitt

svekket gjennom lagring. Det samme bekrefter også observasjoner i forbindelse med utvelgelse av såkornpartier med lav spireevne til beiseforsøk, hvor spireprosenten har gått opp i løpet av vinteren (Håkon Tangerås, pers med).

For vårhvete ble den gjennomsnittlige spireprosenten derimot signifikant redusert i løpet av lagringsperioden, fra 79,3 % ved starten, til 64,9 % i februar, og endte opp på 65 % etter 15 måneders lagring. Grunnen til at spireprosenten i ubeiset vårhvete hadde blitt redusert, i motsetning til i enkelte av bygg- og havre partiene, kan være at soppene av en eller annen grunn overlever bedre i vårhvete enn i bygg og havre. Dette kan ha sammenheng med hvetekornets fysiologi. Hvetekorn er ikke dekket av et skall, slik som såkorn av bygg og havre, det er dermed mulig at soppen lettere infiserer kimen og ødelegger spireevnen i hvete. Det kan igjen ha sammenheng med at soppen har god tilgang på kornets opplagsnæring, og derfor utarmer spiren før såkornet såes.

I enkeltpartiene av vårhvete så vi en tendens til en reduksjon i spireprosent etter 15 måneder med lagring på 15°C, der reduksjonen var signifikant for flere av partiene. En økning i spireprosent fra september til desember ble også registrert i flere av partiene der spireprosenten hadde hatt en tydelig reduksjon de første 10 lagringsmånedene. Ved lagring på 5°C holdt spireprosenten seg relativt stabil fra februar til desember i majoriteten av partiene.

Det var ingen signifikante forskjeller i gjennomsnittlig spireprosent i prøver fra de to temperaturlagrene for noen av kornartene, og det er derfor vanskelig å si om lagringstemperatur påvirker spireevnen i den ene eller andre retningen. Men det var en tendens til noe nedgang i spireprosent i havre lagret i 10 måneder på 5°C i forhold til 15°C lageret. Den noe lavere spireprosent i 5°C lageret i forhold til 15°C lageret i desember kan skyldes at soppene overlever bedre ved lave temperaturer, samtidig som såkornet kan ha blitt svekket av den lave temperaturen.

Av enkeltresultatene ser vi i tillegg at såkornpartienes innad i hver kornart hadde ulik utvikling over tid, både når det gjaldt spireevne og infiseringsgrad. Dette kan blant annet skyldes at det var sortsforskjeller mellom partiene. Det er også sannsynlig at det er forskjeller fordi utgangspunktet for infiseringsgrad og spireevne ikke var lik for hvert parti.

4.2 Endring i smittegrad ved lagring

Vi ville undersøke om økningen i spireprosent kunne skyldes at *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* overlever dårlig i såkorn over tid. Både en analyse av spireskadede sopp i såkornet (heretter kalt Doyertest) og en soppanalyse av såkornet på agar (heretter kalt agartest) ble gjort for å undersøke smittegraden i bygg og havre, mens kun en agartest ble gjort for vårhvete.

I såkornpartiene av bygg ble gjennomsnittlig smittegrad registrert med Doyertesten signifikant redusert fra 50,4 % til 33,2 %, fra oktober 2012 til februar 2013. Fra februar og ut lagringsperioden viste både Doyertesten og agartesten en stabil gjennomsnittlig andel sopp registrert i partiene av bygg fra februar til desember 2013. I alle partiene var det en reduksjon i andel registrert sopp fra oktober 2012 til februar 2013, mens andelen deretter var relativt stabil ut resten av lagringsperioden. Agartesten viste også en nokså stabil infiseringsgrad fra februar til desember i 15°C lageret, mens det var en trend for høyere infiseringsgrad ved lagring på 5°C enn på 15°C lageret.

I likhet med i bygget, ble gjennomsnittlig smittegrad i havre registrert med Doyertesten signifikant redusert fra oktober 2012 til februar 2013. Ytterligere reduksjon i smittenivå ble registrert i løpet av lagringsperioden i havre, både med Doyertesten og agartesten. For enkeltpartiene av havre hadde samtlige partier en reduksjon i smittegrad og infiseringsgrad over 15 måneder ved lagring på 15°C. I både Doyer- og agartesten var det en trend for høyere infiseringsgrad ved lagring på 5°C enn på 15°C lageret.

Resultatene fra agartesten på vårhvete viste at det var en liten tendens til reduksjon i gjennomsnittlig andel infisert såkorn, som endret seg fra 58 % i oktober 2012 til 50 % i desember 2013 i 15°C lageret. Av enkeltpartiene var det fire av de 11 partiene av vårhvete som stod for mesteparten av reduksjonen i smittegrad. Det var også en trend for høyere infiseringsgrad i såkornpartiene av vårhvete lagret ved 5°C enn ved 15°C.

At total smittegrad ble redusert i bygg og havre kan være et tegn på at soppen blir utkonkurrert av annen lagringsopp. I vårt studie ble det ikke gjort tester for tilstedeværelse av annen lagringsopp i såkornet. Imidlertid dokumenterte Homdork et al. (2000) utkonkurrering av *Fusarium spp.* av lagersoppene *Aspergillus spp.* og *Penicillium spp.* i såkorn av hvete. Resultatene fra våre forsøk av bygg og havre stemmer overens med de observasjoner som er gjort av Brodal et al. (1997), samt en del eldre studier som viste at *Fusarium*-infiserte

kornpartier hadde betydelig lavere smittenivå etter en periode på lager (Christensen 1963; De Tempe 1964; Christensen og Kaufmann 1965; Jørgensen 1970). Hewett et al. (1967) rapporterte også at *F. culmorum*, *F. avenaceum* og *F. poae* infeksjon i hvetekorn ble kraftig redusert i løpet av ett års lagring i romtemperatur. Reduksjon i *Fusarium spp.* infeksjon ble også observert av Homdork et al. (2000) under et lagringsforsøk med infisert såkorn av hvete, hvor reduksjonen var tydeligst ved 25°C lagring og ved lav relativ luftfuktighet. Homdork et al. (2000) observerte også at spireevnen i infiserte hvetekorn økte, selv i såkornpartier hvor soppinfiseringen hadde økt gjennom lagring. Disse resultatene stemmer overens med det vi registrerte i havre, mens i vårhveten var derimot dette ikke tilfelle. Vi lyktes dessverre ikke med å finne studier gjort på endring i smittegrad i bygg og havre.

I agartesten ble også andel infisering av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* registrert hver for seg. I bygget økte *Microdochium spp.* infiseringen signifikant fra februar til desember, mens den i havre derimot ble signifikant redusert i samme periode, og i vårhete var den mer eller mindre stabil. *Fusarium spp.* infisering, ble derimot redusert i alle tre kornartene i løpet av 10 måneder (15 måneder for vårhete). I agartesten ble det registrert høyere grad av *Microdochium spp.* infisering enn *Fusarium spp.* infisering for alle kornartene. Dette kan ha en viss sammenheng med at temperaturen på 20°C som blir brukt i agartesten favoriserer vekst av *Microdochium spp.* (Parry et al. 1995). I våre analyser overlevde *Microdochium spp.* godt i korn av både bygg og vårhete, mens det var en dårligere overlevelse i havre. Når mengden soppinfisering i et korn er liten, vil ikke dette alltid vises i en analyse, vekst av soppen i enkelte korn kan dermed være årsaken til at smittegraden av *Microdochium spp.* økte i bygget i løpet av de 10 siste lagringsmånedene. Det kan se ut som *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* oppfører seg noe ulikt i såkornet. Studier har tidligere vist at *Microdochium spp.* kan virke hemmende på mykotoksinproduksjon av *F. culmorum*, og at det dermed ikke er nyttig å sprøyte mot *Microdochium spp.* alene (Hare et al. 1999). Vårt forsøk antyder at *M. majus* og *M. nivale* overlever bedre i såkornet enn *Fusarium spp.*, men at spireevnen likevel blir beholdt for havre og bygg.

Agartesten viste også en trend med høyere smittegrad av *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i 5°C lageret enn på 15°C lageret i både 12. og 15. lagringsmåned for alle kornartene. Doyertesten viste kun denne tendensen for havre i 15. lagringsmåned. Dette kan tyde på at både *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* overlever bedre i såkorn lagret ved lave temperaturer. Resultatene fra Doyertesten reflekterer i tillegg resultatene fra spireanalysen, der det var lav spireprosent for havre i 5°C lageret i desember, er det også høyere andel

spireskader. En faktor som kan ha påvirket resultatene er at luftfuktigheten var høyere i 5°C lageret enn i 15°C lageret, det er mulig at høyere luftfuktighet kan ha hatt en positiv effekt på soppens overlevelse i kornet.

4.3 Veiledningsprøver

Veiledningsprøven er første såkornprøve som sendes inn til analyse etter høsting og benyttes av såvareforretningene som grunnlag for utvelgelse av såkornpartier til sertifisering.

For bygg og havre fulgte spireprosent for veiledningsprøven fra oktober 2012 til april 2013 samme trend som de øvrige spireanalysene for kornartene, noe som styrker inntrykket av at veiledningsprøven er representativ for disse såkornpartiene. For vårhvete så det derimot ut til at spireprosenten var mer stabil i veiledningsprøven enn i «produksjonsprøven» av såkornpartiene. Av enkeltresultatene for veiledningsprøven av vårhvete lagret i syv måneder så vi at spireprosenten var signifikant høyere i veiledningsprøven i lagret i syv måneder, enn i «produksjonsprøven» lagret i fem måneder. Det kan derfor stilles spørsmål til om veiledningsprøven i alle tilfeller er en god indikator for kvaliteten såkornpartiene av vårhvete. Dette kan blant annet skyldes utvelgelse av såkorn til veiledningsprøven.

Når det gjelder smittegrad i veiledningsprøven for bygg og havre viste Doyertesten en signifikant reduksjon i smittegrad i løpet av syv måneders lagring, som er i tråd med de øvrige resultatene. Resultatene fra veiledningsprøvene av vårhvete viste en større tendens til reduksjon i soppinfisering i vårhvete i løpet av syv måneders lagring enn i de øvrige prøvene. Dette kan ha sammenheng med at veiledningsprøven ser ut til å oppføre seg ulikt enn såkornprøvene som senere er tatt ut, både når det gjelder smittegrad og spireprosent. Dette øker inntrykket av at veiledningsprøven ikke i alle tilfeller er representativ for det respektive såkornpartiet for vårhvete.

Om veiledningsprøven er representativ nok for såkornpartiet til å benyttes som en første analyse i forsøksserien er også et spørsmål som er verdt å stille. Veiledningsprøven skal være representativ for det gitte partiet, men det kan likevel virke som dette ikke alltid stemmer med virkeligheten. Siden prosessen ved utvelgelse av såkornpartier til sertifisering begynner med denne veiledningsprøven, er det i dette studiet tatt en beslutning om at denne skulle bli tatt med som en startanalyse for partiene.

4.4 Effekt av beising på spireprosenten

Beising benyttes for å drepe soppsmitte i infiserte såkornpartier, og kan bidra til å øke spireprosenten til et nivå som er tilfredsstillende for sertifisering. I våre forsøk gav prøvebeising av bygg- og havrepartiene signifikant høyere spireprosent ved tre tilfeller for begge kornartene. For havre inkluderte dette første analyse, hvor spireprosenten var på det laveste gjennom hele forsøket, og også siste analyse for såkornet lagret på 5°C i 10 måneder der spireprosenten igjen var redusert. Rapporter om såkornkvalitet fra Kimen (2011, 2012, 2013) viser at beising ikke har hatt stor effekt på spireprosenten til såkorn av verken bygg eller havre.

Prøvebeising av såkornpartiene av vårhvete gav derimot en signifikant økning i spireprosent ved alle analysetidspunktene. I alle tilfeller førte prøvebeising til at spireprosenten økte til et nivå over minstekravet for sertifisering på 85 %. Glynn et al. (2008) gjorde in vitro studier på vinterhvete infisert med *Microdochium spp.* som viste at disse patogenene var sensitive ovenfor fludioksonil. Også studier gjort på hvete i felt har vist at fludioksonil er effektivt som beisemiddel mot *Microdochium spp.* (West et al. 2001). Jørgensen et al. (2011) testet også effekten av fludioksonil i et feltforsøk på vinterhvete, som viste at beisemiddelet ikke gav signifikant høyere oppspiring for såkorn med 5-45 % smittegrad. Fra spireanalysene gjennom mange år i Norge er det kjent at prøvebeising som regel ikke har stor effekt i bygg (Brodal & Tangerås 1996) det vil si at til tross for en del smitte av *Fusarium* og *Microdochium* har bygg som regel høy spireevne og lite behov for bekjempelse spireskadende sopper. I de årene det har vært sterke angrep av *Fusarium* og *Microdochium*, og dermed relativt lav spireevne i havre, har det vært varierende effekter ved den rutinemessige prøvebeisingen. I senere år, unntatt siste år (såkorn produsert 2013), har det vært problemer med å få god effekt av beising i havre, som resulterte i at det ikke har vært nok såkorn av denne kornarten. Såkorn av hvete har ofte en noe lavere spireevne enn bygg og havre, men beising har som regel god effekt (Brodal & Tangerås 1996). En mulig forklaring kan være at beisemiddelet kommer bedre i kontakt med soppen i hvetekornene enn det gjør for bygg og havre, fordi hvetekornet ikke har skall, slik som havren og bygget.

4.5 Kvantifisering (qPCR) av *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.*

Ved kvantifisering ble *M. nivale*, *M. majus*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. langsethiae* og *F. poae* detektert i ett eller flere partier av bygg, havre og vårhvete. Alle partiene i hver kornart innehold DNA fra både *M. nivale* og *M. majus*. Mengden av *Microdochium spp.* var størst i bygget, der 87 % av soppDNAet var av *Microdochium spp.*, mens det var 77 % i vårhveten og 13 % i havren. Både bygg og vårhvete var hovedsakelig infisert av *M. majus*, i havre var det derimot høyere mengde *M. nivale* enn *M. majus*. Nielsen et al. (2013) viste at *M. majus* og *M. nivale* sameksisterer i bygg, og fant en større mengde *M. majus* enn *M. nivale* i både bygg og hvete. Dette er i samsvar med det Parry et al. (1995) rapporterte, hvor 93 % av *Microdochium spp.* infeksjonen i hvetekorn var *M. majus*, og 7 % var *M. nivale*. Nielsen et al. (2013) fant også mer *M. majus* enn *M. nivale* i havre, det samme ble òg observert i et forsøk fra Storbritannia med havrekorn lagret på 15°C (Simpson et al. 2000), i motsetning til våre resultater med mer *M. nivale* enn *M. majus* i havre. Resultatene våre samsvarer derimot med resultatene fra en masteroppgaven (daværende hovedoppgave) til Hageskal (2000) som viste at *M. majus* hadde dårlig evne til å angripe havre.

Mens det var *M. majus* som dominerte den totale infeksjonen i bygg og vårhvete, var det *F. graminearum* som dominerte i havren. Resultatene fra agartesten viser derimot en dobbel så høy andel *Microdochium spp.* infisering i havrekornet enn *Fusarium spp.* Siden kvantifisering vil detektere DNA fra dødt materiale, kan årsaken til denne forskjellen være at *F. graminearum* allerede hadde dødd ut før agartesten ble gjort, og eventuelt at *Microdochium spp.* utkonkurrerer og undertrykker *F. graminearum* i såkornet. Som tidligere nevnt favoriserer også temperaturen under agartesten vekst av *Microdochium spp.*, noe som kan føre til en feilberegning av andel av hver soppsekt.

I bygg og vårhvete var det også *F. graminearum* som dominerte av *Fusarium*-artene, *F. avenaceum* var også representert i alle kornartene mens det var mindre forekomster av *F. langsethiae* i bygget og havren. Nielsen et al (2013) viste at *F. graminearum* og *F. avenaceum* sameksisterer i korn, noe som stemmer overens med funnet i dette forsøket. *F. culmorum* og *F. poae* var derimot så godt som ikke representert i noen av prøvene. Det var ikke korrelasjon mellom mengde sopp og spireprosenten i noen av kornartene.

4.6 Innhold av mykotoksiner

I alle kornartene ble det gjort en test for DON, og i bygg og havre ble også HT-2 og T2 nivået testet. DON ble detektert i alle partier av bygg, havre og vårhvete. Det var høyest forekomst av DON i havre, som også var kornarten med høyest innhold av *F. graminearum*. At det var høyest forekomst av DON i havre av de tre kornartene var også tilfelle i studie til Langseth og Rundberget (1999), som var markant høyere enn i de resterende partiene av hver kornart. Det ble kun registrert forekomst av HT-2 og T2 ved nivåer under deteksjonsgrensen i bygg, mens i havre ble det detektert forekomster nivåer av HT-2 og T2 over deteksjonsgrensen i fire av partiene. Forekomsten av DON i såkornet er mest sannsynlig produsert av *F. graminearum*, og i havre og vårhvete var det også korrelasjon mellom mengde DON og *F. graminearum* DNA, mens denne sammenhengen ikke var tilstede for bygg. Kun i bygg var det antydning til sammenheng mellom mengde DON og spireprosent, og det var også en viss korrelasjon mellom mengde *F. graminearum* og spireprosent. Tekle et al (2013) fant heller ikke noen tydelig sammenheng mellom DON forekomst og spiring av havre, og foreslo derfor at infiseringsgraden av *Fusarium spp.* spiller størst rolle for spireprosenten til havresåcorn. Homdork et al. (2000) fant heller ikke en sammenheng mellom DON forekomst og spiring av hvete, som og stemmer overens med resultatene fra vårt forsøk. Viktige kilder til HT-2 og T2 toksiner i havre er *F. poae*, *F. langsethiae* og *F. sporotrichioides*. Av disse ble kun *F. poae* og *F. langsethiae* tatt med i kvantifisering testen, og det ble funnet svært lave nivåer av DNA fra begge disse artene.

4.7 Oppspiring i feltforsøk

Gjennomsnittlig oppspiring i felt for ubeiset og beiset såcorn av bygg, have og vårhvete var lavere enn gjennomsnittlig spireprosenten i veiledningsprøvene analysert i oktober 2012. Sammenlignet med laboratorieanalysene i september 2013 var den gjennomsnittlige oppspiringen til alle tre kornartene lavere i feltforsøket enn spireprosenten var på laboratoriet, uavhengig av behandling.

Beising av såkornet førte til en høyere spireprosent i felt sammenlignet med det ubehandlede såkornet for alle kornartene. West et al. (2001) viste at virkemiddelet fludioksonil øker spireevnen til såcorn av vinterhvete infisert med *M. nivale*, og i tillegg fører til redusert infeksjon i unge planter og spirer. Det samme viser også Jørgensen et al. (2011) i et feltforsøk

med vinterhveten i Danmark. I et spireforsøk på vinterhveten gjort i laboratoriet viste Humphreys et al. (1995) at *M. nivale* var mindre skadelig for planten ved spiring på 18°C sammenlignet med spiring ved kalde utendørstemperaturer, som igjen kan være med på å forklare hvorfor spireprosenten i felt avviker fra laboratoriet. Det var ingen signifikant forskjell i gjennomsnittlig oppspiring i felt mellom såkorn lagret på 5°C og 15°C.

Oppspiring i felt påvirkes i stor grad av jordforholdene og frøkvaliteten. Jordens temperatur og fuktighetsnivå vil derfor påvirke oppspiringen i felt, i tillegg til nivået av infeksjon i såkornet. Også tilstedeværelse av patogener i jorden kan påvirke oppspiringen, er jorden særlig infisert kan beisemidler bedre oppspiringen fordi behandlingen også beskytter frøet fra jordbårne sykdommer. Fordi det ikke ble gjort en spireanalyse på samme tidspunkt som feltforsøket ble gjennomført hadde vi ingen direkte sammenlignbare spireanalyser med oppspiringen i felt, og valgte derfor å sammenligne med september analysene. Dette kan ha ført til en større forskjell i spiring, siden såkornet hadde ulik lagringstid.

I et studie på vinterhveten fant Humphreys et al. (1995) signifikant sammenheng, både mellom mengde *Fusarium spp.* infeksjon i korn og etablering i felt, og mellom *M. nivale* infeksjon og etablering i felt. *M. nivale* infeksjonen var i samme studie også nært korrelert med spireprosenten. Selv om infeksjonsraten av *M. nivale* i såkorn var høy, var infeksjonsraten i plantene fra såkornet lav gjennom hele vekstsesongen, fordi sterkt infiserte frø, døde før spiring (Humphreys et al. 1995).

4.8 Oppspiring i veksthusforsøk

For ubeiset såkorn av bygg var det ikke forskjell mellom oppspiring i veksthusforsøket og spireprosenten for veiledningsprøven analysert i oktober 2012, for både ubeiset havre og vårhveten var oppspiringen derimot signifikant lavere i veksthuset enn spireprosenten i veiledningsprøven. For beiset såkorn var det kun signifikant forskjell mellom oppspiring i veksthus og spireprosenten fra spireanalyser i oktober for bygg, hvor oppspiringen i veksthuset var høyere. Sammenlignet med spireanalysene fra desember 2013 var oppspiringen signifikant lavere for ubeiset såkorn i veksthuset enn på laboratoriet for alle kornartene. For beiset såkorn var det kun signifikant forskjell for havre, hvor oppspiringen var lavere i veksthuset.

Det var ingen signifikant forskjell i oppspiring mellom såkorn lagret på 5°C og 15°C sådd i veksthus, men beising gav for alle kornartene en høyere oppspiring i veksthuset sammenlignet med det ubeisete såkornet. Dette bekrefter at *Microdochium spp.* og *Fusarium spp.* er sensitive ovenfor fludioksonil. Glynn et al. (2008) viste også i et veksthusforsøk på vinterhvetete at beising med fludioksonil forbedret spireprosenten signifikant, og at symptomene på spirene ble redusert (Glynn et al. 2008).

5 Konklusjon

Det var tydelig at *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* påvirket spireevnen i såkornet. Sammenlignet med kontrollpartiene var spireevnen lavere for de fleste infiserte partiene, med unntak av noen få partier. Resultatene for havre stemte overens med hypotesen om at spireprosenten for såkorn infisert med *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* øker gjennom lagring. For bygg var spireevnen høy allerede ved start, og spireevnen ble beholdt uten behandling med beisemidler av såkornet, tross høy smittegrad ved start. Resultatene for sykdomsanalysene av bygg og havre stemte også overens med hypotesen om at *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* overlever dårlig i såkorn gjennom lagring. Fra disse resultatene kan vi dra en konklusjon om at siden *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* overlever dårlig i såkornet, vil spireevnen til sterkt infiserte partier av havre øke etter en lagringsperiode. I vårt studie hadde en stor endring skjedd allerede etter fem lagringsmåned. I år med mye *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* smitte i såkornet kan vi derfor foreslå at såkornpartier med en spireevne for lav til sertifisering blir lagret i et halvt år, for å så analysere spireevnen på ny. Dette kan bidra til at flere såkornpartier kan bli sertifisert. Det er da en forutsetning at kornet er tørket til et vanninnhold på mellom 12-15 % før lagring, og at relativt fuktighet i lageret er lav. Såkornet bør og lagres ved moderate temperaturer, ettersom det ser ut til at sopp overlever bedre ved 5°C enn 15°C. I såkorn av vårhvetete infisert med *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* reduseres derimot spireprosenten i løpet av lagring. Resultatet strider imot hypotesen om at spireevnen kan bedres for såkorn av hvetete gjennom lagring. Derimot kan spireevnen i hvetete smittet med *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* bedres ved bruk av beisemiddelet fludoxonil.

Spireprosenten og smittegraden i veiledningsprøvene av bygg og havre fulgte samme trend som de øvrige analysene som følge av lagring. Mens for vårhvetete var det en stor forskjell i spireprosent og sykdomsforekomst mellom veiledningsprøven som var lagret i syv måneder,

og de øvrige spireanalysene. Det kan derfor diskuteres om veiledningsprøven av vårhvete, i alle tilfeller gir et riktig bilde av såkornkvaliteten.

Prøvebeising førte i de færreste tilfeller til en økning i spireprosent i de infiserte såkornpartiene av bygg og havre. Dette gjenspeiles ikke i feltforsøket hvor spireprosenten for alle kornartene var signifikant høyere for beiset såkorn i forhold til det ubeisete såkornet. For vårhvete hadde prøvebeising derimot en svært positiv effekt på spireevnen, både på laboratoriet og i felt og veksthus, og kan bidra til en økning i spireprosent som er tilfredsstillende for sertifisering. Vi kan dermed anbefale at sterkt infiserte hvetepartier behandles mot sopp så fort som mulig, ettersom reduksjonen i spireevne øker med tiden. Men også behandling av infiserte partier av bygg og havre, siden disse ser ut til å dra nytte av beising i felt.

Det var en svak tendens til lavere spireprosent, og høyere smittegrad i såkornet som ble lagret på 5°C sammenlignet med såkorn lagret på 15°C. Prøvematerialet var hovedsakelig infisert av *Microdochium spp.* som vokser godt ved lave temperaturer. Det er derfor grunn til å tro at soppen overlever bedre ved lave temperaturer. I tillegg var luftfuktigheten høyere i 5°C lageret enn i 15°C lageret, som sannsynligvis også har en positiv effekt på soppens overlevelse i kornet. Forskjell i spireprosent mellom i såkorn lagret på 5°C og 15°C var derimot ikke stor verken i felt- eller veksthusforsøket

Oppspiringen i feltforsøket og veksthusforsøket for ubeiset såkorn var lavere enn spireprosenten som ble registrert på laboratoriet. Dette er normalt fordi det ikke alltid vil være optimale forhold for spiren i jorden, slik som på laboratoriet. En del av tapet i spireprosent vil bli kompensert for gjennom kornplantenes egen evne til busking. Likevel gir spireprosentene i laboratorieanalysene, en pekepinn for hvilke partier som vil gi en god oppspiring, og hvilke som vil spire dårligere.

For bygg og vårhvete samsvarte resultatene for smittegrad av *Fusarium* og *Microdochium* ved bruk av morfologisk og molekylær metode godt overens. I begge tilfeller viste analysene en høyere grad av *Microdochium spp.* enn *Fusarium spp.* i såkornprøvene. For havre viste derimot agartesten en høyere andel *Microdochium spp.* enn *Fusarium spp.*, mens det motsatte ble påvist i kvantifiseringen. Som nevnt kan dette skyldes at agartesten blir gjort ved en temperatur som favoriserer vekst av *Microdochium*. Siden qPCR ikke kan skille mellom dødt og levende DNA kan det òg være at *F. graminearum* soppen hadde dødd ut tidligere, og dermed ikke gav utslag i agartesten.

6 Kilder

- Bateman, G. L. (2005). The contribution of ground-level inoculum of *Fusarium culmorum* to ear blight of winter wheat. *Plant Pathology*, 54 (3): 299-307.
- Bergstrom, G. C. (1993). *Scab (Head blight) (Fusarium graminearum, F. culmorum, and F. avenaceum) in: Seed-borne diseases and seed health testing of wheat*. Frederiksberg, Danmark: Jordbrugsforlaget. 168 s.
- Bernhoft, A., Eriksen, G. S., Sundheim, L., Berntssen, M., Brantsæter, A. L., Brodal, G., Fæste, C. K., Hofgaard, I. S., Rafoss, T., Sivertsen, T., et al. (2013). *Risk assessment of mycotoxins in cereal grain in Norway*: Vitenskapskomiteen for mattrygghet. 287 s.
- Birzele, B., Prange, A. & Krämer, J. (2000). Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Additives & Contaminants*, 17 (12): 1027-1035.
- Bockus, W. W., Bowden, R. L., Hunger, R. M., Morrill, W. L., Murray, T. D. & Smiley, R. W. (2010). *Compendium of wheat diseases and pests*. 3 utg. St. Paul, Minnesota, USA: The American Phytopathological Society. 171 s.
- Bottalico, A. (1998). *Fusarium* diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles, in europe. *Journal of Plant Pathology*, 80 (2): 85-103.
- Brodal, G. & Tangerås, H. (1996). Oversikt over såkornkvaliteten i perioden 1950 til 1995. *Kvernkallen*, 58 (2): 9-11.
- Brodal, G., Bye, H. R. & Skuterud, H. (1997). Rapport om prosjektet Smitteterskler for beiseanbefaling i såkorn. I: Landbrukstilsyn, S. (red.). 1-16 s.
- Brodal, G., Henriksen, B. & Sundheim, L. (2009). *Sjukdommer i korn, oljevekster og kjernebelgvekster i: Brandsæter, L.O., Mangerud, K., Birkenes, S.M., Brodal, G., Andersen, A. (red.), Plantevern og plantehelse i økologisk landbruk, Bind 3: Korn, oljevekster og kjernebelgvekster. Bioforsk Fokus 4, b. 4. Ås: Bioforsk 197 s.*
- Champeil, A., Doré, T. & Fourbet, J. F. (2004). *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science*, 166 (6): 1389-1415.
- Christensen, C. M. & Kaufmann, H. H. (1965). Deterioration of Stored Grains by Fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 3 (1): 69-84.
- Christensen, J. J. (1963). Longevity of fungi in barley kernels. *Plant disease reporter* 47: 639-642.

- D'Mello, J. P. F., Placinta, C. M. & Macdonald, A. M. C. (1999). Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology*, 80 (3–4): 183-205.
- De Tempe, J. (1964). Seed-borne fusarium infection in temperate climate cereals. *Proc. Int. Seed Test. Ass*, 29 (1): 97-115.
- 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*, 132 (1): 147-161.
- Doyer, L. (1938). *Manual for the determination of seed-borne diseases*: The International Seed Testing Association. 59 s.
- Duthie, J. A. & Hall, R. (1987). Transmission of *Fusarium graminearum* from seed to stems of winter wheat. *Plant Pathology*, 36 (1): 33-37.
- Felleskjøpet Agri. (2014). *Såkkorn du kan stole på*. Spire. 2-3 s.
- Forsberg, G. (2004). *Control of Cereal Seed-borne Diseases by Hot Humid Air Seed Treatment* Uppsala: Uppsala universitet. 49 s.
- Forskrift om såvare. (1999). *Forskrift om såvarer*. Norge.
- Fredlund, E., Gidlund, A., Sulyok, M., Börjesson, T., Krska, R., Olsen, M. & Lindblad, M. (2013). Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats — Occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 167 (2): 276-283.
- Funder, C. & Vik, K. (1919). *Avsopping av såkkorn*. Landbruksdepartementets småskrifter 1918, b. 9. 13 s.
- Gams, W. & Müller, E. (1980). Conidiogenesis of *Fusarium nivale* and *Rhynchosporium oryzae* and its taxonomic implications. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 86 (1): 45-53.
- Gerlach, W. & Nirenberg, H. (1982). *The genus Fusarium — a pictorial atlas. Med assistanse fra Eckart, I., Rummland, I. & Schwarz, R.* Berlin: Kommissionsverlag Paul Parey. 399 s.
- Gilbert, J. & Tekauz, A. (1995). Effects of fusarium head blight and seed treatment on germination, emergence, and seedling vigour of spring wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 17 (3): 252-259.
- Glynn, N. C., Hare, M. C., Parry, D. W. & Edwards, S. G. (2005). Phylogenetic analysis of EF-1 alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties majus and nivale to species status. *Mycological Research*, 109 (8): 872-880.

- Glynn, N. C., Hare, M. C. & Edwards, S. G. (2008). Fungicide seed treatment efficacy against *Microdochium nivale* and *M. majus* in vitro and in vivo. *Pest Management Science*, 64 (8): 793-9.
- Graminor AS. (2013). *Årsberetning og årsregnskap 2013*. Hamar. 28 s.
- Hageskal, G. (2000). *Aggressivitet og vertsspesifisitet i snømuggsoppen Microdochium nivale*. Ås: Norges Landbrukshøgskole, Planteforsk Plantevernet.
- Halstensen, A. S., Nordby, K. C., Eduart, W. & Klemsdal, S. S. (2006). Real-time PCR detection of toxigenic *Fusarium* in airborne and settled grain dust and associations with trichothecene mycotoxins. *Journal of Environmental Monitoring*, 8 (12): 1235-1241.
- Hare, M. C., Parry, D. W. & Baker, M. D. (1999). The Relationship Between Wheat Seed Weight, Infection by *Fusarium culmorum* or *Microdochium nivale*, Germination and Seedling Disease. *European Journal of Plant Pathology*, 105 (9): 859-866.
- Hewett, P. D. (1967). A survey of seed-borne fungi of wheat: II. The incidence of common species of *Fusarium*. *Transactions of the British Mycological Society*, 50 (2): 175-182.
- Homdork, S., Fehrmann, H. & Beck, R. (2000). Influence of Different Storage Conditions on the Mycotoxin Production and Quality of *Fusarium*-Infected Wheat Grain. *Journal of Phytopathology*, 148 (1): 7-15.
- Humphreys, J., Cooke, B. M. & Storey, T. (1995). Effects of seed-borne *Microdochium nivale* on establishment and grain yield of winter-sown wheat. *Plant Varieties & Seeds*, 8 (2): 107-117.
- Inch, S. A. & Gilbert, J. (2003). Survival of *Gibberella zeae* in *Fusarium*-Damaged Wheat Kernels. *Plant Disease*, 87 (3): 282-287.
- International Seed Testing Association. (2009). *ISTA Handbook on Seedling evaluation. Third edition with amendments 2009*. . Bassersdorf, Switzerland.: The International Seed Testing Association.
- International Seed Testing Association. (2013a). *International Rules for Seed Testing, Annexe to chapter 7 Seed Health testing*. 2013/1 utg. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- Jørgensen, J. (1970). Ændringer i byggens svampeflora ved opbevaring med et højt vandindhold. *Tidsskrift for planteavl*, 74: 425-432.
- Jørgensen, J. (1971). The Doyer filter paper method in health testing of barley seed. *Proc. Int. Seed test. Ass.*, 36 (2): 100-104.

- Jørgensen, L. N., Nielsen, L. K. & Nielsen, B. J. (2011). Control of seedling blight in winter wheat by seed treatments – impact on emergence, crop stand, yield and deoxynivalenol. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 62 (5): 431-440.
- Jørstad, I. (1945). *Parasittsoppene på kultur- og nyttevekster i Norge. I. Sekksporesopper (Ascomycetes) og konidiesopper (Fungi imperfecti)*, b. 1. 142 s.
- Kimmen. (2011). *Så Kornkvaliteten 2011*.
<http://www.kimmen.no/media/6065/20111020%20%C3%A5rets%20s%C3%A5kornkvalitet.pdf>: Kimmen såvarelaboratoriet AS (lest 04/04/2014).
- Kimmen. (2012). *Så Kornkvaliteten 2012*.
<http://www.kimmen.no/media/6210/s%C3%A5kornkvaliteten%202012%20.pdf>: Kimmen såvarelaboratoriet AS (lest 04/04).
- Kimmen. (2013). *Så Kornkvaliteten 2013*.
<http://www.kimmen.no/media/6344/20131021saakornkvalitet2013oppdatert.pdf>: Kimmen såvarelaboratoriet AS (lest 04/04/2014).
- Kimmen. (n.d). *Analysetilbud*. <http://www.kimmen.no/analysetilbud.aspx> (lest 03/04/2014).
- Krosby, P. (1926). *Noen spirings- og beiseforsøk med korn*. Meldinger fra Norges Landbrukshøgskole, b. 6.
- Langseth, W. & Rundberget, T. (1999). The occurrence of HT-2 toxin and other trichothecenes in Norwegian cereals. *Mycopathologia*, 147 (3): 157-165.
- Mathre, D. E. (1997). *Compendium of barley diseases*. 2 utg. St. Paul, Minnesota, USA: The American Phytopathological Society. 120 s.
- Mathre, D. E., Johnston, R. H. & Grey, W. E. (2001). *Small Grain Cereal Seed Treatment*.
<http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/CerealSeedTreatment.aspx>: APS (lest 01/04/2014).
- Mathre, D. E., Johnston, R. H. & Grey, W. E. (2001). *Small grain cereal seed treatment*. The Plant health Instructor.
<http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/CerealSeedTreatment.aspx>: APS (lest 01/04/2014).
- Mattilsynet. (2007). *Anbefalte grenseverdier for innhold av muggsopp og mykotoksiner i fôrvarer*.
http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00064/Anbefalte_grenseverd_64407a.pdf: Mattilsynet (lest 05/05/2014).

- Mattilsynet. (2012). *Sertifisert produksjon av såvarer*.
http://www.mattilsynet.no/planter_og_dyrking/savarer_og_annet_formeringsmateriale/savarer/sertifisert_produksjon_av_saavarer.3083 (lest 01/04/2014).
- McBeath, J. H., Smith, J. D. & Tronsmo, A. M. (1993). *Pink snow mold, leaf blotch and ear blight in: Seed-borne diseases and seed health testing of wheat*. Frederiksberg, Danmark: Jorbrugsforlaget. 168 s.
- McMullen, M., Jones, R. & Gallenberg, D. (1997). Scab of Wheat and Barley: A Re-emerging Disease of Devastating Impact. *Plant Disease*, 81 (12): 1,340 - 1,348.
- Meld. St. 11. (2011-2012). *Velkommen til bordet*. matdepartementet, D. k. l.-o. (red.).
- Miller, J. D. (2008). Mycotoxins in small grains and maize: Old problems, new challenges. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25 (2): 219-230.
- Minitab® 17 Statistical Software. (2010). State Collage, P. (red.), 17: Minitab Inc.
- Moretti, A. N. (2009). Taxonomy of Fusarium genus, a continuous fight between lumpers and splitters. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke/Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad* (117): 7-13.
- Nielsen, L. K., Jensen, J. D., Nielsen, G. C., Jensen, J. E., Spliid, N. H., Thomsen, I. K., Justesen, A. F., Collinge, D. B. & Jørgensen, L. N. (2011). Fusarium Head Blight of Cereals in Denmark: Species Complex and Related Mycotoxins. *Phytopathology*, 101 (8): 960-969.
- Nielsen, L. K., Justesen, A. F., Jensen, J. D. & Jørgensen, L. N. (2013). *Microdochium nivale* and *Microdochium majus* in seed samples of Danish small grain cereals. *Crop Protection*, 43 (0): 192-200.
- Parry, D. W., Jenkinson, P. & McLeod, L. (1995). Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant Pathology*, 44 (2): 207-238.
- Plantevernleksikonet. (2009). *Stripesjuka i bygg*.
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_1240&showMacroOrganisms=false: Bioforsk (lest 04/05).
- Plantevernleksikonet. (2012a). *Byggbrunfleck*.
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_319&showMacroOrganisms=false: Bioforsk (lest 04/05/2014).
- Plantevernleksikonet. (2012b). *Fusarioser i korn*: Bioforsk. Tilgjengelig fra:
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_1239&showMacroOrganisms=false (lest 29/04).

- Plantevernleksikonet. (2012c). *Havrebrunfleck*.
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_482&showMacroOrganisms=false: Bioforsk (lest 04/05/2014).
- Plantevernleksikonet. (2012d). *Hveteaksprikk*.
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_617&showMacroOrganisms=false: Bioforsk (lest 04/05/2014).
- Plantevernleksikonet. (2012e). *Stinksot*.
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_1250&showMacroOrganisms=false: Bioforsk (lest 04/05/2014).
- Plantevernleksikonet. (2013). *Snømugg*: Bioforsk. Tilgjengelig fra:
http://leksikon.bioforsk.no/vieworganism.php?organismId=1_1252&showMacroOrganisms=false (lest 29/04/2014).
- Reischer, G. H., Lemmens, M., Farnleitner, A., Adler, A. & Mach, R. L. (2004).
 Quantification of *Fusarium graminearum* in infected wheat by species specific real-time PCR applying a TaqMan Probe. *J Microbiol Methods*, 59 (1): 141-6.
- Samuels, G. J. & Hallett, I. C. (1983). *Microdochium stoveria* and *Monographella stoveri*.
Transactions of the British Mycological Society, 81: 473-483.
- Simpson, D. R., Rezanoor, H. N., Parry, D. W. & Nicholson, P. (2000). Evidence for differential host preference in *Microdochium nivale* var. *majus* and *Microdochium nivale* var. *nivale*. *Plant Pathology*, 49 (2): 261-268.
- Smiley, R., Cook, R. J. & Paulitz, T. (2002). *Seed treatments for small grain cereals*.
 [Corvallis, Or.]: Oregon State University Extension Service.
- Sundheim, L., Brodal, G., Hofgaard, I. S. & Rafoss, T. (2013). Temporal Variation of Mycotoxin Producing Fungi in Norwegian Cereals. *Microorganisms*, 1 (1): 188-198.
- Syngenta Crop Protection AG. (n.d.). *Celest® 025 FS*.
<http://www.syngenta.com/country/no/no/plantevern/produkter/ugressmiddel/Documents/Celest%20025%20FS%20UIN.pdf> (lest 02/05/2014).
- Tangerås, H. (2005). *Bruk av eget såkorn*.
<http://www.kimen.no/media/5417/bruk%20av%20eget%20s%C3%A5korn%202005.pdf> (lest 02/05/2014).
- Tekle, S., Skinnnes, H. & Bjørnstad, Å. (2013). The germination problem of oat seed lots affected by *Fusarium* head blight. *European Journal of Plant Pathology*, 135 (1): 147-158.

- Thrane, U., Adler, A., Clasen, P.-E., Galvano, F., Langseth, W., Lew, H., Logrieco, A., Nielsen, K. F. & Ritieni, A. (2004). Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. *International Journal of Food Microbiology*, 95 (3): 257-266.
- Waalwijk, C., Kastelein, P., de Vries, I., Kerényi, Z., van der Lee, T., Hesselink, T., Köhl, J. & Kema, G. (2003). Major Changes in *Fusarium* spp. in Wheat in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 109 (7): 743-754.
- Waalwijk, C., Heide, R., Vries, I., Lee, T., Schoen, C., Corainville, G., Häuser-Hahn, I., Kastelein, P., Köhl, J., Lonnet, P., et al. (2004). Quantitative Detection of *Fusarium* Species in Wheat Using TaqMan. *European journal of plant pathology*, 110 (5-6): 481-494.
- Wang, H., Hwang, S. F., Eudes, F., Chang, K. F., Howard, R. J. & Turnbull, G. D. (2006). Trichothecenes and aggressiveness of *Fusarium graminearum* causing seedling blight and root rot in cereals. *Plant Pathology*, 55 (2): 224-230.
- West, S. J. E., Doppmann, F., Forster, B. & Zeun, R. (2001). *Control of Microdochium nivale with fludioxonil seed treatments*. Seed treatment: challenges and opportunities Proceedings of an international Symposium, b. 76. Wishaw, North Warwickshire, UK. 288 s.
- Yli-Mattilaa, T., Paavanen-Huhtalaa, S., Jestoib, M., Parikkac, P., Hietaniemi, V., Gagkaevae, T., Sarlinf, T., Haikaraf, A., Laaksonena, S. & Rizzob, A. (2008). Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 41 (4): 243-260.
- Yoshida, M. & Nakajima, T. (2010). Deoxynivalenol and Nivalenol Accumulation in Wheat Infected with *Fusarium graminearum* During Grain Development. *Phytopathology*, 100 (8): 763-773.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T. & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14 (6): 415-421.
- Årsvoll, K. (1973). Winter damage in Norwegian grasslands 1968-1971. *Meld. Norg. LandbrHøgsk*, 54 (9): 49.

"MINITAB® and all other trademarks and logos for the Company's products and services are the exclusive property of Minitab Inc. All other marks referenced remain the property of their respective owners. See minitab.com for more information."

Vedlegg 1: Spireresultater for ubeiset bygg

Så Kornparti, 2 paralleller	Bygg, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Edel	95	96	93	94	94	96	94
1	Edel	93	96	91	89	97	96	91
2	Edel	95	89	89	87	91	94	90
2	Edel	95	89	92	90	89	91	93
3	Heder	95	92	98	95	97	96	93
3	Heder	96	97	98	97	97	94	95
4	Heder	90	97	98	94	99	97	97
4	Heder	96	93	99	99	99	97	99
5	Heder	94	96	100	98	96	97	97
5	Heder	97	91	100	99	97	97	98
6	Helium	86	87	93	86	95	95	88
6	Helium	87	86	92	87	90	90	92
7	Helium	93	92	90	90	95	95	96
7	Helium	88,5	95,5	94	93	94	91	96
8	Tiril	93	94	92	91	93	90	95
8	Tiril	89	92	93	93	95	88	96
9	Iron	90	86	94	93	92	93	97
9	Iron	92	89	97	93	91	92	94
10	Tyra	95	95	95	98	98	94	93
10	Tyra	94	90	97	98	94	94	99
Gjennomsnitt		92,7	92,1	94,8	93,2	94,7	93,85	94,7
Kontroll	Helium	95	95	100	96	95	99	98
Kontroll	Helium	96	90	98	97	98	96	98

Vedlegg 2: Spireresultater for beiset bygg

Så Kornparti 2 paralleller	Bygg, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Edel	97	97	92	94	94	97	95
1	Edel	97	94	94	95	93	96	94
2	Edel	95	93	92	93	91	99	96
2	Edel	97	94	92	97	89	94	95
3	Heder	96	99	98	96	95	98	96
3	Heder	93	99	99	98	96	98	95
4	Heder	93	94	97	98	96	96	97
4	Heder	93	93	96	100	98	98	98
5	Heder	99	92	99	96	97	100	98
5	Heder	97	97	96	97	98	98	97
6	Helium	89	92	97	94	94	96	94
6	Helium	90	93	94	92	99	94	95
7	Helium	94	95	92	94	94	97	95
7	Helium	95	89	95	94	98	93	95
8	Tiril	96	96	94	95	93	99	95
8	Tiril	95	95	96	93	99	95	92
9	Iron	95	89	98	96	94	98	97
9	Iron	96	92	92	95	95	96	94
10	Tyra	96	95	98	97	93	99	99
10	Tyra	97	95	99	94	98	96	98
Gjennomsnitt		94,8	94,2	95,8	95,6	95,2	96,5	95,9
Kontroll	Helium	96	96	98	98	99	97	97
Kontroll	Helium	98	99	100	98	99	98	98

Vedlegg 3: Spireresultater for ubeiset havre

Så Kornparti 2 paralleller	Havre, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Belinda	76	81	80	84	75	85	79
1	Belinda	69	76	80	78	73	78	79
2	Belinda	82	91	87	91	92	87	80
2	Belinda	79	91	88	90	93	89	77
3	Belinda	87	89	89	78	83	84	78
3	Belinda	83	88	87	82	89	87	71
4	Haga	76	85	84	79	83	91	81
4	Haga	83	80	80	80	83	83	80
5	Odal	83	80	77	84	85	86	77
5	Odal	75	79	78	87	82	85	81
6	Hurdal	93	91	94	94	95	98	96
6	Hurdal	96	91	98	96	96	99	91
7	Hurdal	78	90	91	88	95	90	85
7	Hurdal	82	87	94	95	95	91	89
8	Haga	79	85	76	76	84	76	85
8	Haga	84	82	81	87	89	76	83
9	Haga	75	84	76	71	85	79	70
9	Haga	77	91	74	71	80	79	63
Gjennomsnitt		80,9	85,6	84,1	83,9	86,6	85,7	80,3
Kontroll	Belinda	89	94	96	98	95	95	94
Kontroll	Belinda	90	93	97	98	94	98	94

Vedlegg 4: Spireresultater for beiset havre

Så Kornparti 2 paralleller	Havre, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Belinda	90	81	89	85	88	83	89
1	Belinda	88	84	87	93	91	77	82
2	Belinda	88	96	89	92	95	87	91
2	Belinda	93	94	91	98	95	94	89
3	Belinda	91	92	95	89	91	83	85
3	Belinda	92	88	91	91	92	88	81
4	Haga	85	88	91	79	82	83	76
4	Haga	88	88	83	87	95	84	78
5	Odal	90	88	81	87	92	82	80
5	Odal	86	85	85	86	93	87	83
6	Hurdal	95	93	96	97	94	95	93
6	Hurdal	94	90	95	97	99	97	94
7	Hurdal	93	89	92	92	93	88	89
7	Hurdal	96	90	87	91	88	88	95
8	Haga	86	89	77	88	91	84	88
8	Haga	86	91	82	86	89	86	86
9	Haga	83	81	87	85	91	92	85
9	Haga	82	68	83	80	83	82	83
Gjennomsnitt		89,2	87,5	87,3	89,1	90	86,7	86
Kontroll	Belinda	96	95	97	95	94	98	97
Kontroll	Belinda	95	96	94	93	94	94	98

Vedlegg 5: Spireresultater for ubeiset vårhvete

Så Kornparti 2 paralleller	Vårhvete, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Bjarne	87	82	63	66	77	66	61
1	Bjarne	89	77	69	72	69	64	58
2	Bjarne	88	83	59	50	61	61	50
2	Bjarne	83	90	56	44	63	59	59
3	Bjarne	75	67	57	45	45	45	44
3	Bjarne	74	73	49	43	48	48	45
4	Bjarne	80	56	65	70	70	65	62
4	Bjarne	66	61	65	69	72	63	58
5	Bjarne	83	88	64	60	63	58	56
5	Bjarne	77	90	58	51	65	51	57
6	Demonstrant	81	81	49	38	57	49	48
6	Demonstrant	87	73	52	38	52	41	43
7	Demonstrant	67	70	64	55	72	54	58
7	Demonstrant	71	78	59	65	68	58	58
8	Demonstrant	76	79	64	61	58	47	56
8	Demonstrant	81	79	68	58	66	53	57
9	Demonstrant	79	70	72	53	53	53	60
9	Demonstrant	75	63	67	52	54	40	69
10	Zebra	83	80	74	80	79	78	74
10	Zebra	69	91	80	88	81	77	77
11	Zebra	82	84	87	82	80	79	77
11	Zebra	89	80	86	72	77	66	72
Gjennomsnitt		79,3	77	64,9	59,6	65	58	87
Bjarne	Kontroll	97	96	90	85	84	84	86
Bjarne	Kontroll	94	98	82	86	87	80	88

Vedlegg 6: Spireresultater for beiset vårhvete

Så Kornparti 2 paralleller	Vårhvete, sort	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	Bjarne	96	90	97	90	91	85	88
1	Bjarne	94	92	93	91	92	86	84
2	Bjarne	91	88	90	93	92	96	95
2	Bjarne	94	91	97	95	93	99	96
3	Bjarne	87	84	89	84	89	78	81
3	Bjarne	87	82	88	79	81	82	87
4	Bjarne	88	65	89	84	90	91	93
4	Bjarne	88	70	89	91	89	93	90
5	Bjarne	99	87	91	90	93	94	88
5	Bjarne	92	97	93	94	95	91	94
6	Demonstrant	96	92	90	97	90	90	89
6	Demonstrant	98	97	91	92	86	90	91
7	Demonstrant	94	92	82	95	95	95	91
7	Demonstrant	90	87	83	92	87	87	87
8	Demonstrant	91	97	91	94	95	91	93
8	Demonstrant	96	97	90	94	97	94	93
9	Demonstrant	93	92	90	89	92	92	89
9	Demonstrant	9	91	89	86	89	93	88
10	Zebra	91	99	96	95	96	96	95
10	Zebra	89	92	95	94	97	95	94
11	Zebra	97	99	98	92	96	93	93
11	Zebra	97	99	97	96	87	95	87
Gjennomsnitt		93,1	90	91,3	91,2	91,5	91,2	90
Bjarne	Kontroll	100	97	96	91	94	98	94
Bjarne	Kontroll	97	98	98	96	98	94	93

Vedlegg 7: Smittegrad (% spireskader) i bygg med Doyermetoden

Bygg	Prøve ID						
	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	50	34	40	45	38	46	32
1		35	40	37	49	43	39
2	46	27	28	39	42	32	32
2		24	29	32	43	30	25
3	41	30	25	16	20	27	31
3		39	25	22	24	19	23
4	54	16	29	35	42	29	28
4		19	30	23	27	21	19
5	45	22	19	23	16	20	19
5		28	20	25	21	30	20
6	67	47	51	65	54	60	70
6		54	58	55	68	62	60
7	51	30	27	31	34	30	22
7		35	40	33	22	31	34
8	43	34	20	23	40	24	25
8		41	30	35	39	29	31
9	64	34	37	37	41	39	52
9		38	36	30	27	32	51
10	43	33	33	33	18	24	32
10		38	28	28	25	25	23
Gjennomsnitt	50,5	32,4	33,2	33,4	34,5	32,7	33,4
11 kontroll	6	10	5	5	9	5	2
11 kontroll		24	5	4	9	4	9

Vedlegg 8: Smittegrad (% spireskader) i havre med Doyermetoden

Havre	Prøve ID						
	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	75	45	53	44	42	59	68
1		49	64	53	34	57	64
2	38	17	32	38	21	34	38
2		25	40	35	22	30	32
3	67	50	57	57	50	42	58
3		53	70	58	46	34	60
4	61	35	28	23	15	18	19
4		34	40	23	12	21	13
5	59	58	50	49	37	49	49
5		59	53	46	41	58	39
6	42	25	22	19	9	12	16
6		27	25	13	18	17	15
7	56	39	44	41	20	32	35
7		50	43	29	31	36	32
8	75	44	65	47	20	36	41
8		47	57	45	32	36	40
9	68	45	38	25	14	27	28
9		47	41	23	22	35	34
Gjennomsnitt	60,1	41,6	45,7	37,1	27	35,2	37,6
10 kontroll	17	16	23	18	10	13	23
10 kontroll		25	28	12	12	17	25

Vedlegg 9: *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i bygg registrert med Agarmetoden

Såkornparti 2 paralleller	<i>Microdochium spp.</i> + <i>Fusarium spp.</i>				
	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	78	72	82	78	72
1	78	64	66	70	82
2	52	58	54	62	50
2	66	36	44	48	64
3	28	40	34	38	46
3	38	46	36	50	44
4	54	60	58	54	50
4	50	42	54	50	36
5	26	24	28	36	24
5	22	34	34	34	32
6	64	56	58	82	76
6	56	52	56	78	84
7	46	32	40	52	48
7	52	28	44	34	36
8	56	46	64	50	56
8	52	46	58	60	54
9	40	48	52	60	54
9	58	44	44	64	62
10	34	30	30	56	56
10	38	44	38	62	60
Gjennomsnitt	49,4	45,1	48,7	55,9	54,3
11 Kontroll	10	12	0	6	12
11 Kontroll	14	0	6	4	8

Vedlegg 10: *Fusarium spp.* i bygg registrert med Agarmetoden

Så Kornparti 2 paralleller	<i>Fusarium spp.</i>				
	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	16	6	4	10	10
1	12	2	0	4	2
2	14	4	0	12	2
2	20	0	0	4	10
3	0	2	4	4	8
3	4	6	2	10	2
4	10	0	6	8	6
4	14	0	2	4	2
5	4	2	0	0	2
5	4	0	2	4	2
6	16	12	2	6	20
6	8	6	6	14	24
7	20	4	0	14	28
7	24	4	6	8	20
8	12	0	6	2	2
8	0	2	2	4	0
9	16	6	4	14	16
9	18	10	4	6	12
10	8	4	0	10	10
10	6	4	4	8	14
Gjennomsnitt	11,3	3,7	2,7	7,3	9,6
11 kontroll	6	6	0	2	8
11 kontroll	12	0	4	2	8

Vedlegg 11: *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i havre registrert med Agarmetoden.

Så Kornparti 2 paralleller	<i>Microdochium spp.</i> + <i>Fusarium spp.</i>				
	5u	12u15° C	15u15° C	12u5°C	15u5°C
1	70	48	50	62	64
1	60	48	38	50	60
2	32	10	20	30	18
2	20	10	20	36	30
3	74	62	54	66	66
3	78	56	56	58	70
4	8	0	10	12	6
4	16	6	4	14	16
5	36	32	32	38	24
5	44	24	26	26	24
6	30	4	4	16	12
6	18	6	4	20	6
7	32	22	12	24	28
7	36	22	8	22	26
8	56	38	30	50	44
8	44	52	34	58	46
9	52	32	38	38	54
9	32	46	32	48	48
Gjennomsnitt	41	28,8	26,2	37,1	35,7
11 kontroll	18	8	6	16	26
11 kontroll	16	8	4	14	16

Så Kornparti 2 paralleller	<i>Microdochium spp.</i>				
	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1A	50	44	48	48	50
1B	46	42	32	32	54
2A	26	6	10	10	10
2B	12	8	24	24	16
3A	60	54	46	46	42
3B	62	42	38	38	54
4A	8	0	8	8	6
4B	12	2	8	8	12
5A	16	18	18	18	16
5B	30	12	16	16	10
6A	12	2	6	6	2
6B	8	4	10	10	4
7A	20	20	14	14	26
7B	24	14	20	20	12
8A	30	18	26	26	24
8B	24	24	38	38	24
9A	40	12	24	24	36
9B	18	16	26	26	38
Gjennomsnitt	27,67	18,78	22,89	22,89	24,22
10 Kontroll	12	8	16	16	24
10 Kontroll	16	8	12	12	12

Vedlegg 12: *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i havre registrert med Agarmetoden.

Såkorparti 2 paralleller	<i>Fusarium spp.</i>				
	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	20	4	14	62	14
1	14	6	4	50	6
2	6	4	8	30	8
2	8	2	8	36	14
3	14	8	10	66	24
3	16	14	8	58	16
4	0	0	6	12	0
4	4	4	0	14	4
5	20	14	14	38	8
5	14	12	10	26	14
6	18	2	2	16	10
6	10	2	4	20	2
7	12	2	4	24	2
7	12	8	2	22	14
8	26	20	10	50	20
8	20	28	18	58	22
9	12	20	20	38	18
9	14	30	22	48	10
Gjennomsnitt	13,33	10	9,11	37,11	11,44
11 kontroll	6	0	0	16	2
11 kontroll	0	0	0	14	4

Vedlegg 13: *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i vårhvete med registrert Agarmetoden.

Så Kornparti 2 paralleller	<i>Microdochium spp.</i> + <i>Fusarium spp.</i>						
	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	65	39	39	41	45	52	52
1	59	42	50	44	51	54	52
2	68	60	78	72	72	67	82
2	67	66	72	74	69	70	76
3	57	48	62	64	65	61	61
3	59	57	56	65	70	49	59
4	78	24	54	51	43	57	58
4	88	31	54	47	48	55	59
5	68	40	71	72	71	73	70
5	63	39	75	63	65	66	70
6	39	40	50	50	39	64	57
6	43	34	60	53	55	60	63
7	45	51	52	40	44	39	42
7	58	53	54	48	36	47	39
8	56	42	58	61	55	65	51
8	61	44	56	60	52	59	59
9	53	50	49	48	57	52	57
9	54	46	41	42	39	52	53
10	47	39	40	33	28	48	36
10	61	46	43	42	41	44	37
11	37	28	40	33	22	35	31
11	42	35	34	31	31	26	48
Gjennomsnitt	57,6	43,4	54	51,6	49,9	54,3	55,1
12 Kontroll	12	10	14	24	20	14	24
12 Kontroll	8	9	20	12	20	22	15

Så Kornparti 2 paralleller	<i>Microdochium spp.</i>						
	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	57	37	34	40	42	45	50
1	56	40	45	42	48	50	45
2	68	60	76	70	70	65	78
2	66	63	68	72	66	68	75
3	57	47	61	63	63	57	61
3	58	57	56	65	70	48	59
4	64	18	44	49	42	47	57
4	71	24	43	44	44	44	51
5	64	39	67	70	69	72	70
5	61	37	69	60	63	63	69
6	36	34	44	42	37	51	53
6	39	33	42	47	50	50	52
7	43	43	51	37	44	38	40
7	54	52	53	47	36	46	38
8	47	40	57	60	53	55	45
8	53	40	48	57	50	52	54
9	39	33	33	32	44	32	36
9	38	30	32	34	30	37	38
10	43	30	33	26	26	41	28
10	54	44	34	38	34	34	29
11	31	27	36	33	22	35	30
11	38	32	34	31	30	26	45
Gjennomsnitt	51,68	39,09	48,18	48,14	46,95	48,00	50,14
12 Kontroll	12	10	12	24	20	12	21
12 Kontroll	8	8	18	11	20	19	15

Vedlegg 14: *Fusarium spp.* og *Microdochium spp.* i vårhvete med registrert Agarmetoden.

Såkorpartier 2 paralleller	<i>Fusarium spp</i>						
	0u	7u	5u	12u15°C	15u15°C	12u5°C	15u5°C
1	8	2	5	1	3	7	2
1	3	2	5	2	3	4	7
2	0	0	2	2	2	2	4
2	1	3	4	2	3	2	1
3	0	1	1	1	2	4	0
3	1	0	0	0	0	1	0
4	14	6	10	2	1	10	1
4	17	7	11	3	4	11	8
5	4	1	4	2	2	1	0
5	2	2	6	3	2	3	1
6	3	6	6	8	2	13	4
6	4	1	18	6	5	10	11
7	2	1	1	3	0	1	2
7	4	0	1	1	0	1	1
8	9	2	1	1	2	10	6
8	8	4	8	3	2	7	5
9	14	17	16	16	13	20	21
9	16	16	9	8	9	15	15
10	4	9	7	7	2	7	8
10	7	2	9	4	7	10	8
11	6	1	4	0	0	0	1
11	4	3	0	0	1	0	3
Gjennomsnitt	6	4	5,9	3,4	3	6	5
12 Kontroll	0	0	2	0	0	2	3
12 Kontroll	0	1	2	1	0	3	0

Vedlegg 15: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter i hvert enkelt parti av bygg.

Bygg parti	Gjennomsnittlig soppDNA/planteDNA (pg/μg)							
	Total	<i>M. majus</i>	<i>M. nivale</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. poae</i>
1	11743	10949	187	33	0	559	15	0
2	13034	9668	325	53	0	2962	25	0
3	10163	9497	170	139	0	357	0	0
4	9189	8102	242	119	0	725	0	0
5	7698	7167	154	97	0	268	13	0
6	21539	16255	96	1861	0	3327	0	0
7	5802	4806	77	625	5	289	0	0
8	7153	7002	43	66	0	16	26	0
9	12475	10726	488	275	0	954	32	0
10	7320	6435	362	40	0	477	6	0
Sum	106114	90609	2143	3308	5	9934	117	0
Kontroll	1508	265	40	373	0	772	38	21

Vedlegg 16: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter fordelt på partier av havre.

Havre parti	Gjennomsnittlig soppDNA/planteDNA (pg/μg)							
	Total	<i>M. majus</i>	<i>M. nivale</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. poae</i>
1	7487	99	1852	195	14	5314	9	5
2	3126	60	233	10	0	2804	14	6
3	11405	48	3174	515	0	7610	54	5
4	3816	138	291	184	0	3168	18	16
5	9345	95	716	654	0	7812	62	7
6	784	10	115	53	0	515	87	4
7	2741	57	611	238	0	1811	5	19
8	2541	78	796	42	0	24314	10	0
9	11739	33	1195	33	0	10456	21	0
Sum	75684	618	8982	1923	14	63804	281	61
Kontroll	415	42	176	16	0	168	5	6

Vedlegg 17: Oversikt over kvantifisert mengde soppDNA/planteDNA for utvalgte sopparter fordelt på partier av vårhvete.

Vårhvete parti	soppDNA/planteDNA (pg/μg)							
	Total	<i>M. majus</i>	<i>M. nivale</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. poae</i>
1	1980	1684	26	23	0	247	0	0
2	476	4450	82	39	0	174	0	0
3	2450	2407	43	0	0	0	0	0
4	3217	2190	299	100	0	626	2	0
5	4876	4405	63	15	0	374	0	18
6	3557	1555	77	100	0	1824	0	0
7	2233	2097	38	3	0	95	0	0
8	6340	5241	28	118	0	953	0	0
9	4948	1735	26	40	0	3147	0	0
10	6464	4535	137	47	0	1745	0	0
11	1287	1202	29	5	0	51	0	0
Sum	42096	31502	849	491	0	9235	2	18
Kontroll	620	414	17	4	0	179	1	0

Vedlegg 18: Leddliste og forsøksplan for ubeiset bygg

A = lagret ved 15°C

B= lagret ved 5°C

Parti 1A – rute 102, 301, 501, 807

Parti 1B – rute 204, 407, 603, 803

Parti 2A – rute 206, 401, 604, 805

Parti 2B – rute 105, 304, 504, 707

Parti 3A – rute 202, 306, 508, 804

Parti 3B – rute 103, 404, 507, 701

Parti 4A – rute 107, 406, 601, 704

Parti 4B – rute 205, 302, 604, 802

Parti 5A – rute 106, 303, 503, 703

Parti 5B – rute 203, 405, 607, 801

Parti 6A – rute 207, 403, 506, 706

Parti 6B – rute 101, 307, 502, 806

Parti 11A–rute 104, 402, 602, 705

Parti 11B–rute 201, 305, 608, 702

Rep	Blokk	Rute nr. - parti nr.						
1	1	101 6B	102 1A	103 3B	104 11A	105 2B	106 5A	107 4A
	2	201 11B	202 3A	203 5B	204 1B	205 4B	206 2A	207 6A
2	3	301 1A	302 4B	303 5A	304 2B	305 11B	306 3A	307 6B
	4	401 2A	402 11A	403 6A	404 3B	405 5B	406 4A	407 1B
3	5	501 1A	502 6B	503 5A	504 2B	506 6A	507 3B	508 3A
	6	601 4A	602 11A	603 1B	604 4B	604 2A	607 5B	608 11B
4	7	701 3B	702 11B	703 5A	704 4A	705 11A	706 6A	707 2B
	8	801 5B	802 4B	803 1B	804 3A	805 2A	806 6B	807 1A

Vedlegg 19: Leddliste og forsøksplan for ubeiset havre

A = lagret ved 15°C

B= lagret ved 5°C

Parti 1A – Rute 202, 404, 505, 703

Parti 1B – rute 104, 306, 501, 801

Parti 3A – rute 101, 303, 504, 704

Parti 3B – rute 205, 402, 601, 802

Parti 5A – rute 105, 403, 503, 803

Parti 5B – rute 201, 302, 605, 806

Parti 8A – rute 102, 406, 603, 706

Parti 8B – rute 204, 305, 506, 701

Parti 9A – rute 203, 304, 604, 804

Parti 9B – rute 106, 401, 602, 805

Parti 10A–rute 206, 301, 502, 705

Parti 10B–rute 103, 405, 606, 702

Rep	Blokk	Rute nr. - parti nr.					
1	1	101 3A	102 8A	103 10 B	104 1B	105 5A	106 9B
	2	201 5B	202 1A	203 9A	204 8B	205 3B	206 10 A
2	3	301 10A	302 5B	303 3A	304 9A	305 8B	306 1B
	4	401 9B	402 3B	403 5A	404 1A	405 10 B	406 8A
3	5	501 1B	502 10 A	503 5A	504 3A	505 1A	506 8B
	6	601 3B	602 9B	603 8A	604 9A	605 5B	606 10 B
4	7	701 8B	702 10 B	703 1A	704 3A	705 10 A	706 8A
	8	801 1B	802 3B	803 5A	804 9A	805 9B	806 5B

Vedlegg 20: Leddliste og forsøksplan for ubeiset vårhvete

A = lagret ved 15°C

B= lagret ved 5°C

Parti 2A – rute 102, 401, 604, 805

Parti 2B – rute 206, 304, 504, 707

Parti 4A – rute 107, 406, 601, 704

Parti 4B – rute 205, 302, 604, 802

Parti 5A – rute 106, 303, 503, 703

Parti 5B – rute 203, 405, 607, 801

Parti 6A – rute 105, 403, 506, 706,

Parti 6B – rute 204, 307, 502, 806

Parti 7A – rute 202, 301, 508, 807

Parti 7B – rute 103, 407, 501, 803

Parti 11A–rute 104, 402, 602, 705

Parti 11B–rute 201, 305, 608, 702

Parti 12A–rute 207, 306, 507, 804

Parti 12B–rute 101, 404, 603, 701

Rep	Blokk	Rute nr. - parti nr.						
1	1	101 12B	102 2A	103 7B	104 11A	105 6A	106 5A	107 4A
	2	201 11B	202 7A	203 5B	204 6B	205 4B	206 2B	207 12A
2	3	301 7A	302 4B	303 5A	304 2B	305 11B	306 12A	307 6B
	4	401 2A	402 11A	403 6A	404 12B	405 5B	406 4A	407 7B
3	5	501 7B	502 6B	503 5A	504 2B	506 6A	507 12A	508 7A
	6	601 4A	602 11A	603 12B	604 4B	604 2A	607 5B	608 11B
4	7	701 12B	702 11B	703 5A	704 4A	705 11A	706 6A	707 2B
	8	801 5B	802 4B	803 7B	804 12A	805 2A	806 6B	807 7A

Vedlegg 21: Leddliste og forsøksplan for feltforsøk med beiset prøver

Leddliste og forsøksplan for beiset bygg lagret ved 15°C

Parti 1 – rute 102, 204, 301, 407

Parti 2 – rute 105, 206, 304, 401

Parti 3 – rute 103, 202, 306, 404

Parti 4 – rute 107, 205, 302, 406

Parti 5 – rute 106, 203, 303, 405

Parti 6 – rute 101, 207, 307, 403

Parti 11 – rute 104, 201, 305, 402

Rep	Rute nr. - parti nr.						
1	101 6	102 1	103 3	104 11	105 2	106 5	107 4
2	201 11	202 3	203 5	204 1	205 4	206 2	207 6
3	301 1	302 4	303 5	304 2	305 11	306 3	307 6
4	401 2	402 11	403 6	404 3	405 5	406 4	407 1

Leddliste og forsøksplan for beiset havre lagret ved 15°C

Parti 1 – rute 104, 202, 306, 404

Parti 3 – rute 101, 205, 303, 402

Parti 5 – rute 105, 201, 302, 403

Parti 8 – rute 102, 204, 305, 406

Parti 9 – rute 106, 203, 304, 401

Parti 10 – rute 103, 206, 301, 405

Rep	Rute nr - parti nr					
1	101 3	102 8	103 10	104 1	105 5	106 9
2	201 5	202 1	203 9	204 8	205 3	206 10
3	301 10	302 5	303 3	304 9	305 8	306 1
4	401 9	402 3	403 5	404 1	405 10	406 8

Leddliste og forsøksplan for beiset vårhvete lagret ved 15°C

Parti 2 – rute 102, 206, 304, 401

Parti 4 – rute 107, 205, 302, 406

Parti 5 – rute 103, 207, 303, 405

Parti 6 – rute 101, 203, 307, 403

Parti 7 – rute 106, 202, 306, 404

Parti 11 – rute 104, 201, 305, 407

Parti 12 – rute 105, 204, 301, 402

Rep	Rute nr - parti nr						
1	101 6	102 2	103 5	104 11	105 12	106 7	107 4
2	201 11	202 7	203 6	204 12	205 4	206 2	207 5
3	301 12	302 4	303 5	304 2	305 11	306 7	307 6
4	401 2	402 12	403 6	404 7	405 5	406 4	407 11

Vedlegg 22: Oppspiring (%) for bygg fra feltforsøk

Bygg 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	69	73	76	83	75
2	79	71	66	65	70
3	85	73	85	87	82
4	82	88	85	86	85
5	81	90	90	84	86
6	85	84	82	74	81
Kontroll	91	89	94	91	91

Bygg 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	77	82	77	72	77
2	72	76	76	73	74
3	74	84	85	87	83
4	85	81	81	86	83
5	89	86	90	82	86
6	89	77	90	73	82
Kontroll	96	91	90	89	92

Bygg, beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	71	77	84	80	78
2	84	81	81	85	83
3	89	92	81	95	90
4	97	92	86	92	92
5	89	94	96	86	92
6	81	84	90	93	87
Kontroll	94	89	94	92	92

Vedlegg 23: Oppspiring (%) for havre fra feltforsøk

Havre 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	69	56	49	60	59
3	80	80	72	78	78
5	70	57	53	68	62
8	58	62	54	62	59
9	61	50	41	55	52
Kontroll	79	77	80	84	80

Havre, 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	45	59	65	56	56
3	67	78	66	76	72
5	62	57	57	58	59
8	65	65	61	46	59
9	58	63	58	52	58
Kontroll	88	82	75	79	81

Havre, beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	80	82	73	73	77
3	82	83	78	78	80
5	70	79	68	70	72
8	70	73	62	70	69
9	0	73	72	73	55
Kontroll	89	86	83	82	85

Vedlegg 24: Oppspiring (%) for vårhvete fra feltforsøk

Vårhvete, 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	40	28	33	27	32
4	35	46	43	31	39
5	29	30	31	30	30
6	36	34	43	21	34
7	50	39	44	30	41
11	62	61	58	44	56
Kontroll	69	60	60	48	59

Vårhvete, 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	35	30	34	29	32
4	49	43	33	30	39
5	40	35	29	30	34
6	33	20	24	30	27
7	38	45	21	35	35
11	69	62	47	45	56
Kontroll	31	71	68	48	55

Vårhvete, beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	76	70	71	52	67
4	59	74	67	76	69
5	65	65	57	79	67
6	60	67	63	76	67
7	59	70	70	80	70
11	74	83	87	62	77
Kontroll	74	67	78	65	71

Vedlegg 25: Oppspiring (%) for bygg fra veksthus

Bygg 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	90	76	86	88	85
2	82	84	72	86	81
3	92	92	86	90	90
4	98	96	96	92	96
5	100	94	86	90	93
6	88	88	94	94	91
Kontroll	98	98	94	98	97

Bygg 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	88	90	82	90	88
2	92	88	80	88	87
3	98	92	94	88	93
4	88	94	94	90	92
5	94	94	90	98	94
6	86	92	92	78	87
Kontroll	98	94	94	90	94

Bygg, beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	92	90	98	84	91
2	94	92	94	94	94
3	98	90	90	98	94
4	94	96	100	94	96
5	94	98	94	94	95
6	98	88	92	96	94
Kontroll	94	92	98	100	96

Vedlegg 26: Oppspiring (%) for havre fra veksthus

Havre 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	50	60	52	44	52
3	80	80	72	64	74
5	66	74	76	68	71
8	78	76	64	66	71
9	72	66	62	62	66
Kontroll	96	96	90	92	94

Havre 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	50	26	38	36	38
3	72	72	82	82	77
5	68	72	74	50	66
8	70	50	52	58	58
9	50	56	42	44	48
Kontroll	84	82	82	80	82

Havre beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
1	50	50	70	46	54
3	80	76	86	82	81
5	72	84	68	72	74
8	66	72	76	76	73
9	78	74	80	66	75
Kontroll	86	96	92	94	92

Vedlegg 27: Oppspiring (%) for vårhvete fra veksthus

Vårhvete, 15°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	20	36	16	22	24
4	72	58	46	44	55
5	28	32	24	24	27
6	24	18	20	18	20
7	66	62	40	54	56
11	80	60	50	56	62
Kontroll	70	68	88	62	75

Vårhvete, 5°C	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	40	28	22	28	30
4	46	44	38	46	44
5	46	22	24	32	31
6	36	36	24	22	30
7	32	42	34	38	37
11	62	60	50	20	48
Kontroll	66	70	70	72	70

Vårhvete, beiset	Gjentak 1	Gjentak 2	Gjentak 3	Gjentak 4	Gjennomsnitt
2	86	90	94	92	91
4	88	92	84	76	86
5	78	80	72	70	75
6	100	92	94	80	92
7	84	82	82	68	79
11	96	92	90	98	94
Kontroll	96	92	90	98	93

Vedlegg 28: Tillaging av standardkurve for M. majus og M. nivale.

Standardene av *M. majus* (isolatnavn 200-345) og *M. nivale* (isolatnavn: 200-265) ble fortynnet med H₂O fire ganger til konsentrasjonene 4000, 400, 40, 4 og 0.4 pg/μl (henholdsvis standard 1-5). Stokkløsninger ble laget ved å fortynne forward og reverse primerne til 0.1 nmol/μl med H₂O. Deretter ble bruksløsningen laget i Eppendorfrør ved å blande 462,5 μl H₂O og 37,5 μl stokkløsning. Mastermiks ble laget i et Eppendorfrør ved å blande 200 μl qPCR mmix 2x, 16 μl bruksløsning forward, 16 μl bruksløsning reverse og 104 μl MQ-H₂O. En 96 brønnsplate ble brukt til qPCR avlesningen. Reaksjonene ble kjørt i 25 μl volum, av 21 μl mastermiks og 4 μl DNA prøve/MQ-vann i hver brønn, som vist i oppsettet i Figur x. Platen ble så dekket med en transparent film og sentrifugert i ca. 1 minutt. Reaksjonen ble kjørt med følgende parametere:

M. majus St 1	M. majus St 1	M. nivale St 1	M. nivale St 1
M. majus St 2	M. majus St 2	M. nivale St 2	M. nivale St 2
M. majus St 3	M. majus St 3	M. nivale St 3	M. nivale St 3
M. majus St 4	M. majus St 4	M. nivale St 4	M. nivale St 4
M. majus St 5	M. majus St 5	M. nivale St 5	M. nivale St 5
MQ-vann	MQ-vann	MQ-vann	MQ-vann
M. nivale St 1	M. nivale St 1	M. majus St 1	M. majus St 1

Oppsett for brønnsplate for tillaging av standardkurve for M. majus og M. nivale

Vedlegg 29: Oppsett for fortynningsplate til bruk ved påvisning av Fusarium spp. og Microdochium spp. med kvantitativ PCR (qPCR).

Ha 1	Ha 1	Ha 9	Ha 9	Hv 7	Hv 7	By 3	By 3	By 11	By 11	St 1	St 1
Ha 2	Ha 2	Ha 10	Ha 10	Hv 8	Hv 8	By 4	By 4			St 2	St 2
Ha 3	Ha 3	Hv 1	Hv 1	Hv 9	Hv 9	By 5	By 5			St 3	St 3
Ha 4	Ha 4	Hv 2	Hv 2	Hv 10	Hv 10	By 6	By 6			St 4	St 4
Ha 5	Ha 5	Hv 3	Hv 3	Hv 11	Hv 11	By 7	By 7			St 5	St 5
Ha 6	Ha 6	Hv 4	Hv 4	Hv 12	Hv 12	By 8	By 8			Vann	Vann
Ha 7	Ha 7	Hv 5	Hv 5	By 1	By 1	By 9	By 9				
Ha 8	Ha 8	Hv 6	Hv 6	By 2	By 2	By 10	By 10				



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

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