

Utveckling av bekämpningsstrategi mot lagringsjukdomar i äpple och päron, i samverkan med Äppelriket

Development of protection strategy against storage decay in apple and pear

Ibrahim Tahir och Marie E. Olsson

Institutionen för växtförädling, Sveriges Lantbruksuniversitet, Box 101, 230 53 Alnarp

Projektnummer H1356193

1. Bakgrund

Lagringsjukdomar som orsakas av olika svamparter kan vara resultatet av ett angrepp före skörd eller under hanteringen efter skörd. Dessa skador orsakar betydande ekonomiska förluster. Behandling av frukt med fungicider efter skörd är inte tillåtet i Sverige och antalet tillåtna fungicider för användning innan skörd har minskat. För att utveckla en framgångsrik växtskyddsstrategi krävs därför att nya alternativa och miljövänliga bekämpningsmedel tas fram, liksom att kunskap ökas om smittkällor och faktorer som påverkar risken av angrepp.

Vissa bioaktiva föreningar och många växtoljor från kryddor och örter kan hämma tillväxten av svamp hos frukt (Neri et al., 2009; Romanazzi et al., 2007). Exempelvis är eugenol från kryddnejlikor eller basilika den mest aktiva komponenten mot svampangrepp orsakat av *Botrytis cinerea* och *Monilinia fructigena* hos äpple (Amiri et al., 2008). Ozongas är 1,5 gånger starkare som ett oxidationsmedel än klorgas, och den kontakttid som behövs för anti-mikrobiell verkan är 4-5 gånger mindre än vad som erfordras för klor (Suslow, 2004). Generellt sett har man funnit en positiv effekt av ozonbehandlingen, framför allt dess förmåga att förhindra växtpatogener (mögel) under lagring, men den kan även bidra till att öka livsmedelssäkerheten (Rodgers et al., 2004). Inom livsmedelssektorn har nyligen hypoklorsyra börjat testas inom animalieproduktionen. I Sverige saluförs produkten ”ANK Anolyt”, och har användningsområde för bl.a. desinfektion av foder, stallar och mjölkkrum.

Utöver *Monilinia fructigena*, *M. laxa*, och *Botrytis cinerea*, är *Penicillium expansum* (som orsakar grönt mögel) och *Colletotrichum acutatum* (som orsakar bitterröta) samt den lagringssjukdom som tidigare kallades *Gloeosporiumröta*, och som orsakas av en av de tre svamparterna *Neofabraea perennans*, *N. alba* eller *N. malicorticis* (Spotts et al., 2009), de skadligaste svampsjukdomarna i södra Sverige (Tahir, 2006). För att framgångsrikt använda integrerat växtskydd krävs det att man kan identifiera skadegörare som finns i odlingen och skaffa sig kunskaper om deras biologi, smittkällor, spridningsperiod och de faktorer som påverkar angrepprisken. Denna information är bristfällig hos rådgivare och odlare idag.

2. Projektsyfte

Detta projekt syftar till att undersöka antimikrobiell effekt av olika behandlingar med växtoljor, ozon, hypoklorsyra och varmt vatten på olika typer av svampangrepp i äpple och päron under lagring. Dessutom syftar projektet till att identifiera och bestämma vilka svamparter som orsakar lagringsjukdomar hos äpple och päron i området samt att identifiera smittkällor och spridningsperiod i dessa odlingar samt i packerier.

3. Material och Metod

3.1. Utveckling av nya alternativa och miljövänliga bekämpningsmedel och metoder

3.1.1. In vitro och in vivo undersökning

Inokulum, förberedelse: Fruktar som visade typiska symptom av *P. expansum* och *Neofabraea sp.* samlades från två packerier. Sjuka frukter steriliserades med 70 % etanol. Tre bitar togs från varje frukt och odlades på plattor med potatis-dextros agar (PDA) respektive maltextrakt agar (MEA) (22°C, två veckor). Mycelium identifierades och flyttades till nya plattor för odling i 22°C två veckor till. Sporer från de båda svamparterna samlades från de nya plattorna, var för sig, i steriliserat vatten med Tween 0,05 %. Sporer identifierades under mikroskop (vid

förstoringar från 20× till 40×). Sporlösningskoncentrationen justerades med hjälp av hemacytometer till 1×10^5 per ml.

Växtoljor; lösningar och bekämpningsmetoder: Lösningar av växtoljor köptes från Sigma-Aldrich (Stockholm). Frukterna placerades i täta rum/behållare och ozon tillsattes (Se tabell 1).

Tabell 1. Alternativa och miljövänliga bekämpningsmedel och metoder som undersökts.

Kod	Medel/metod Koncentration	Kod	Medel/metod och koncentration
T1	Tymol, 30 mg/l	V1	Varmt vatten, 48 °C
T2	Tymol, 45 mg/l	V2	Varmt vatten, 51 °C
T3	Tymol, 60 mg/l	V3	Varmt vatten, 54 °C
E1	Eugenol, 2 g/l	V4	Varmt vatten, 57 °C
E2	Eugenol, 3 g/l	Hy1	Hypoklorsyra, 200 ppm
T-E1	Tymol-Eugenol, T 1 + E 1	Hy2	Hypoklorsyra, 400 ppm
T-E2	Tymol-Eugenol, T 1 + E 2	O1	Ozon i vatten, 2,5 ppm under 2 tim.
T-E3	Tymol-Eugenol, T 2 + E 1	O2	Ozon i luft, 0,5 ppm under 72 tim.
T-E4	Tymol-Eugenol, T 2 + E 2	Kontroll	Utan behandling

In vitro test: Mycelpluggar (10 mm i diameter) flyttades från 10 dagar gamla kolonier av *P. expansum* över till 330 nya PDA-plattor. Dessa delades in i 22 försöksled (15 plattor/grupp). Tre timmar senare sprayades varje grupp med en av ovannämnda medel (1 ml växtolja, hypoklorsyra, ozonerat vatten och varmvatten) eller (ozon i luft 0,5% under 72 timmar) medan plattor i den tjugoundra gruppen lämnades obehandlade (kontroll). På samma sätt hanterades mycelpluggar av *N. perennans* (MEA-plattor). Alla plattor inkuberades i 22° C under 10 dagar, varefter den radiella myceltillväxten mättes (procentuell hämning av radiell myceltillväxt). Försöket upprepades två gånger med fem replikationer och tre plattor per replikation/svampart.

Konidiernas livsduglighet undersöktes genom att 0,5 ml sporlösning (1000 konidier/ml) *P. expansum* och *N. perennans* fördes över i 100 Eppendorfrör (1,5 ml). Tjugo av rören innehöll 0,5 ml av ett av ovannämnda medel (förutom ozon i luft), medan det tjugoförsta röret var tomt. Rören inkuberades i 22 °C, 24 timmar. 100 µl applicerades på PDA- respektive MEA-plattor, inkuberades i 22 °C i sju dagar, varefter antalet kolonier (kolonibildande enheter CFU) räknades. Undersökningen upprepades två gånger med fem rör/behandling/svampart.

In vivo test: 660 äpplen 'Amorosa' och 660 päron 'Clara Frijs' plockades, transporteras till Alnarp och tvättades med vatten. Därefter injicerades 20 µl av sporlösningen (*P. expansum*) med en pipett, som stacks in ca 4 mm i frukten. Varje frukt inokulerades på två sidor. Frukten indelades i 22 grupper/sort. Varje grupp (30 frukter) behandlades (se tabell 1), medan en grupp lämnades obehandlad (kontroll). Frukterna lagrades i 2 °C för äpple och 1 °C för päron under 10 veckor. Diametern på varje skada (lesion) mättes efter lagring och medelvärde användes som ett mått på angreppets storlek. Processen upprepades i ett nytt försök med *N. perennans*.

3.1.2. Efterskörsbehandling

Äpplen 'Amorosa', 'Rubinola' och 'Santana' och päron 'Clara Frijs' plockades vid optimal skördetidpunkt från kommersiella ekologiska (äpplen) respektive Integrerad Produktion- (IP) odlingar (päron p.g.a. avsaknad av ekologisk odling till försöken) i Kivik. Fukt från varje sort indelades i 22 grupper (45 frukter/grupp), behandlades (se tabell 1), och frukter i en grupp lämnades obehandlade som kontroll. Alla grupper lagrades i kylagring (2 °C för äpple, 1 °C för päron) i 4 månader. Efter lagring kontrollerades frukt kvalitet och naturligt svampangrepp.

3.1.3. Behandling på fält

Växtoljor: Hundrafemtio träd av 'Amorosa' och samma trädantal av 'Clara Frijs' valdes ut i en ekologisk, respektive IP-odling, i Kivik under 2014 och 2015. Varje grupp delades upp i 25 försöksled med 6 träd per led och i tre block. Träden besprutades med 0,5 liter

av en lösning av växtolja, antingen vid ett tillfälle (juni, juli, augusti eller september) eller vid två tillfällen (juni och augusti, juni och september). Lösningar av växtoljor som användes var T1, T2, T-E1 och T-E4 (Tabell 1). En grupp av 6 träd lämnades utan behandling. Optimal skördetidpunkt bestämdes när Streif index (fasthet/(löslig torrs substans x stärkelse nedbrytning)) nått 0,16. Alla träd skördades var för sig. Frukten vägdes och räknades. Frukten färg mättes med en färgmätare (Minolta). Fastheten bedömdes med penetrometer, löslig torrs substans med refraktrometer och stärkelse nedbrytning med jod-test. Därefter förvarades frukten i kyl (2 °C och 85% relativ luftfuktighet) under fem månader. Fruktkvalitet (fasthet, löslig torrs substans och färg) samt spontant uppkomna svampangrepp bedömdes efter avslutad lagring.

Ozon: Fyrtiotvå träd av 'Amorosa' och samma trädantal av 'Clara Frijs' valdes ut i en ekologisk respektive IP-odling i Kivik under säsongen 2015. Varje grupp delades upp i 7 försöksled med 6 träd per led och i tre block. Träden besprutades med 0,5 liter av ozon 2,5 ppm i vatten, antingen vid ett tillfälle (juni, juli, augusti eller september) eller vid två tillfällen (juni och augusti, juni och september) medan den sjunde gruppen lämnades obehandlad som kontroll. Frukten optimala skördetidpunkt och kvalitet bedömdes som nämnts ovan. Frukten lagrades i 2 °C och 85% relativ luftfuktighet under fem månader. Fruktkvalitet (fasthet, löslig torrs substans och färg) samt spontant uppkomna svampangrepp bedömdes efter lagring.

3.2. Etiologin av lagringsjukdomarna hos äpplen och päron

3.2.1. Orsaker till skador under lagring

Mellan 1500 och 2000 ruttna frukter som visade svampangreppssymptom, samlades från tre olika packerier och lagerhus i Sydsverige (Äppelriket, KivikÅs och Göransson's frukt) under år 2014 och 2015. Frukterna sorterades enligt skadesymptomen. Svamparterna identifierades enligt morfologimetoden (lesionform) på frukt, koloniform och konidiernas form.

3.2.2. Smittkällor

Regnvatten: För att undersöka effekten av regnvattens betydelse för smittspridning, markerades 5 sjuka och 5 friska äppleträd i tre ekologiska odlingar/ olika områden (Kivik, Skåne-Tranås och Malmö). 2 rör /träd fixerades för att samla regnvatten. Vattnets svampinnehåll kontrollerades (enligt koloni- och konidium-morfologi) varannan vecka mellan maj och september i 2015.

Vind- och insektsspridning: 36 äppleträd valdes i varje odling. Ett skott per träd täcktes med plastskydd mot vind och insekter under 14, 12, 10, 8, 4 och 2 veckor innan skörd.

Kart, fallfrukt och mumifierad frukt: En rad med 60 träd per äpplesort ('Amorosa', 'Rubinola' och 'Santana') valdes ut under 2015 i tre ekologiska odlingar. Varje rad indelades i två delar. Kart, ogräs, fallfrukt och sjuka blad samlades varannan vecka från ena delen, medan den andra delen lämnades utan behandling. Alla frukter på träden plockades och frukten lagrades. Uppkomna naturliga svampangrepp bedömdes efter avslutad lagring. Träd med mumifierade frukter markerades i början av säsongen, plockades vid skördetidpunkten, lagrades i kyl och förekomsten av naturligt svampangrepp under lagring bedömdes efter lagring.

Lådor: Lådor som smittkällor undersöktes under år 2015. Hundratrettio två lådor inokulerades med *P. expansum* genom att sprutas med 50 ml av sporslösning (koncentration 1×10^5 konidier per ml) per låda. Efter 3 timmar indelades lådorna i 22 grupper (6 lådor per grupp). Varje grupp behandlades med ett medel/metod enligt tabell 1, och en grupp lämnades obehandlad som kontroll. Tre lådor i varje grupp, inklusive kontroll, fylldes med friska 'Amorosa'-frukter och de andra tre med skadade frukter. Frukten skadades med en nål (5 mm djup och 2 ml bredd) i tre punkter. Frukten lagrades i 4 månader och naturligt uppkomna svampangrepp bedömdes efter lagring.

3.3. Statistik

En komplett randomiserad design användes för alla experiment och resultaten utvärderades i ett antal variansanalyser. För fältförsöken användes tvåvägs-variensanalyser.

Förekomst av signifikanta skillnader mellan olika försöksled undersöktes med Tukey's test ($\alpha = 0,05$). Data från försöken med inokulerad och behandlad frukt, respektive *in vitro*-försöken, analyserades med envägs-variansanalyser. Förekomst av signifikanta skillnader mellan olika försöksled undersöktes med LSD-test ($\alpha = 0,05$). Alla beräkningar utfördes med hjälp av Minitab 17.2.4.0 (Minitab Ltd., PA, USA).

4. Resultat

4.1. Effekt av bekämpningsmedel och metoder på två viktiga patogener (*in vitro*)

Tillsats av olika alternativa bekämpningsmedel till petriskålar gav en hämning av myceltillväxt under den påföljande inkubationsperioden. En blandning av tymol (45 mg/l) och eugenol (3 g/l) minskade myceltillväxt av *P. expansum* med 75 % och av *Neofabraea sp.* med 82 %. Tymol eller eugenol var för sig hade mycket mindre positiv effekt jämfört med en blandning av dem båda. Varmt vatten och hypoklorsyra visade en hög hämningseffekt bara på myceltillväxten av *Neofabraea* (värden visas inte). Ozonbehandlingar hade inhiberingseffekt bara på *Neofabraea sp.*. Ozonbehandlingen hade däremot förmåga att begränsa svamparnas virulens, nästan lika effektivt som växtolja, men kombinationen tymol 45 mg/l+ eugenol 2 g/l var den mest effektiva. Varmt vatten hade en kraftigt inhiberande effekt på patogenvirulensen på *Neofabraea sp.*

4.2. Effekt av alternativa bekämpningsmedel och metoder på två viktiga patogener (*In vivo: lesionstorlek*).

Alternativa bekämpningsmedel och metoder gav olika grader av skydd mot svampangrepp som orsakades av inokulationen med *P. expansum* eller *Neofabraea sp.* (Tabell 2). Jämfört med obehandlade 'Amorosa'-frukter, minskades skadan som orsakades av inokulationen med grönmögel med 46% (tymol), 39% (tymol-eugenol), och 36% (eugenol). (Tabell 2). Varmt vatten (48-54 grader) minskade lesionsdiameter med 33%, medan inokulerade frukter som behandlades med varmt vatten (57 grader) eller hypoklorsyra (400 ppm) uppvisade större eller lika stora lesioner jämfört med obehandlade frukter. Skador på skalet som kanske orsakas av hög vattentemperatur eller syrakoncentration står bakom den negativa effekten. Ozon i luft gav mycket bra skydd (46% mindre lesion diameter) medan ozon i vatten hade ingen positiv effekt (Tabell 2). Ingen av bekämpningsmedlen eller metoderna hade någon klar effekt på lesion diameter, som orsakas av inokulering i 'Clara Frijs'-päron med *P. expansum* (Tabell 2).

Tabell 2. Inverkan av olika behandlingar på skadestorlek (medelvärde i mm) hos äpple och päron, orsakad av inokulationen med *Penicillium expansum* (*P. e.*) och *Neofabraea perennans* (*N.p.*).

Medel/metod	'Amorosa'		'Clara Frijs'	
	<i>P.e.</i>	<i>N.p.</i>	<i>P.e.</i>	<i>N.p.</i>
T1	20,7 def ^z	16,3 def	40,0 b	32,0 bcd
T2	18,1 f	15,6 ef	41,0 b	30,9 bcd
T3	19,7 ef	14,7 f	39,0 b	26,0 cdef
E1	21,3 def	18,7 cd	40,7 b	42,7 a
E2	25,0 cd	19,3 cd	43,0 ab	24,7 cdef
T-E 1	24,7 cd	20,0 c	43,7 ab	18,3 f
T-E 2	24,3 de	19,3 cd	38,7 b	22,7 defg
T-E 3	19,7 ef	15,7 def	47,0 ab	26,3 cdef
T-E 4	20,3 ef	17,0 cdef	41,7 ab	29,7 bcd
V1	22,3 def	17,3 cdef	50,0 a	19,3 efg
V2	22,7 de	16,7 cdef	44,0 ab	15,3 g
V3	23,7 de	16,0 def	44,0 ab	28,3 cde
V4	38,0 a	42,7 a	45,0 ab	15,3 g
Hy1	18,3 f	18,0 cde	40,0 b	14,3 g
Hy2	33,0 b	27,3 b	40,7 b	33,3 bc

O1	29,3 bc	25,1 b	40,7 b	33,1 bc
O2	17,7 f	26,2 b	47,0 ab	31,7 bcd
Kontroll	33,0 b	27,3 b	47,2 ab	39,3 ab

T1: tymol 30 mg/l, T2: tymol 45 mg/l; T3: tymol 60 mg/l, E1: eugenol 2 mg/l, E2: eugenol 3,0 g/l, T-E 1: T1+E1, T-E 2: T1+E2, T-E 3: T2+E1, T-E 4: T2+E2, V1: varmt vatten 48 °C, V2: varmt vatten 51 °C, V3: varmt vatten 54 °C, V4: varmt vatten 57 °C, Hy1: Hypoklorsyra, 200 ppm, Hy2: Hypoklorsyra, 400 ppm, O1: Ozon i vatten, 2,5 ppm under 2 tim., O2: Ozon i luft, 0,5 ppm under 72 tim.

^z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn och svamp, skiljer sig åt signifikant, $p \leq 0.05$

Olika medel och metoder visade också en inhibitionseffekt på svampangrepp som orsakades av inokulering hos 'Amorosa' eller 'Clara Frijs' med *Neofabraea sp.* (Tabell 2). Tymol-behandlingen minskade skadans storlek på 'Amorosa' och 'Clara Frijs' med 44 % respektive 55 % i jämförelse med obehandlade frukter (Tabell 2). Blandning av tymol med eugenol förbättrade inte inhiberingseffekten. Varmt vatten (48–54 °C) och hypoklorsyra (200 ppm) minskade lesiondiameter på 'Amorosa' med 40 % och på 'Clara Frijs' med 64 % jämfört med obehandlade frukter. Ozonbehandlingar hade ingen inhiberingseffekt (Tabell 2).

4.3. Effekt av alternativa bekämpningsmedel på fruktlagringspotential

4.3.1. Efterskördbehandling: De undersökta sorterna, som skördades i samma mognadsstadium, skiljde sig åt markant i mottaglighet för naturligt svampangrepp. Päronsorten, 'Clara Frijs', visade mindre motståndskraft än alla de tre äppelsorterna. Bland de tre äppelsorterna var 'Rubinola' mest mottaglig, följt av 'Amorosa' och 'Santana' (Tabell 3).

Tabell 3. Inverkan av efterskördbehandlingar med olika bekämpningsmedel och metoder på förekomsten av naturligt svampangrepp (medelvärde i % av i tre block per behandling) under lagring.

Medel/metod	'Amorosa'	'Rubinola'	'Santana'	'Clara Frijs'
T1	4,0 cd	3,0 defg	4,7 bcde	3,3 efg
T2	4,6 bc	4,0 defg	3,3 cdef	6,0 efg
T3	3,7 cde	3,7 defg	2,0 def	5,3 efg
E1	1,3 ef	5,7 cde	2,0 def	4,7 efg
E2	1,7 def	2,3 fg	3,0 cdef	11,0 de
T-E 1	1,7 def	6,3 cd	2,7 cdef	3,7 efg
T-E 2	2,7 cde	4,7 cdef	8,3 ab	10,0 defg
T-E 3	3,0 cde	3,0 defg	3,0 cdef	6,7 efg
T-E 4	6,7 ab	7,3 bc	8,3 ab	10,7 de
V1	3,3 cde	6,0 cd	0,3 f	4,0 efg
V2	1,3 ef	10,3 b	1,0 ef	23,3 b
V3	1,3 ef	5,3 cdef	2,7 cdef	15,0 cd
V4	6,7 ab	6,3 cd	9,0 a	6,3 efg
Hy1	1,3 ef	7,3 bc	6,0 abc	9,3 defg
Hy2	2,7 cde	4,7 cdef	2,7 cdef	5,3 efg
O1	0,0 f	3,3 defg	2,3 cdef	3,0 fg
O2	4,0 cd	3,7 defg	5,7 abcd	35,0 a
Kontroll	9,0 a	13,7 a	4,0 cdef	21,7 bc

T1: tymol 30 mg/l, T2: tymol 45 mg/l; T3: tymol 60 mg/l, E1: eugenol 2 mg/l, E2: eugenol 3,0 g/l, T-E 1: T1+E1, T-E 2: T1+E2, T-E 3: T2+E1, T-E 4: T2+E2, V1: varmt vatten 48 °C, V2: varmt vatten 51 °C, V3: varmt vatten 54 °C, V4: varmt vatten 57 °C, Hy1: Hypoklorsyra, 200 ppm, Hy2: Hypoklorsyra, 400 ppm, O1: Ozon i vatten, 2,5 ppm under 2 tim., O2: Ozon i luft, 0,5 ppm under 72 tim.

^z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn, skiljer sig åt signifikant, $p \leq 0.05$

Alla efterskördbehandlingar visade hämmande effekt på förekomsten av naturligt svampangrepp hos 'Amorosa' och 'Rubinola'. Frukter av de två sorterna som behandlades med tymol-eugenol och ozon i vatten, hade lägst förluster under lagring jämfört med obehandlade frukter (Tabell 3). Varmt vatten (51-54 °C) och hypoklorsyra (200 ppm) visade liknande effekt

bara på 'Rubinola' (Tabell 3). Eftersom 'Santana'-frukter hade bra motståndskraft mot naturligt svampangrepp visade behandlingar ingen förbättringseffekt på fruktlagringspotential (Tabell 3). Tymol samt ozon i vatten minskade svampangrepp hos 'Clara Frijs' under lagring.

4.3.2. Fältbehandling

4.3.2.1. Behandlingar med växtoljor

Besprutning av träden med olika växtoljor påverkade inte trädavkastning för varken 'Clara Frijs' eller 'Amorosa', men effekten var något varierande under 2015 (värden visas inte). Besprutningstid och tillfälle visade inte någon effekt på skörden. Behandling av träden med växtoljor förbättrade fastheten av äpple- och päronfrukt vid skörd, medan behandlingarna ökade koncentrationen av löslig torrs substans i päronfrukt. Besprutningstid och tillfälle visade ingen effekt på kvaliteten (Tabell 4). Några behandlingar minskade mjukheten av äpple under lagring, men effekten inte var signifikant och gällde endast vissa delar av försöket. Behandlingarna hade inte någon effekt på kvalitetförändring under lagring (Tabell 4). Behandlingar med växtoljor reducerade den totala förlusten av frukt under lagringsperioden jämfört med frukt från obehandlade träd, både hos 'Clara Frijs' (10-53%) och 'Amorosa' (3-93%). Lägsta förlust pga. svampangrepp erhöles för päronträd som hade behandlats med tymol-eugenol vid två tillfällen (i juni och augusti eller i juni och september) (Fig. 1). Senare behandlingar av äppleträd med tymol-eugenol vid två tillfällen orsakade den lägsta förekomsten av svampangrepp jämfört med obehandlade träd (Fig. 1).

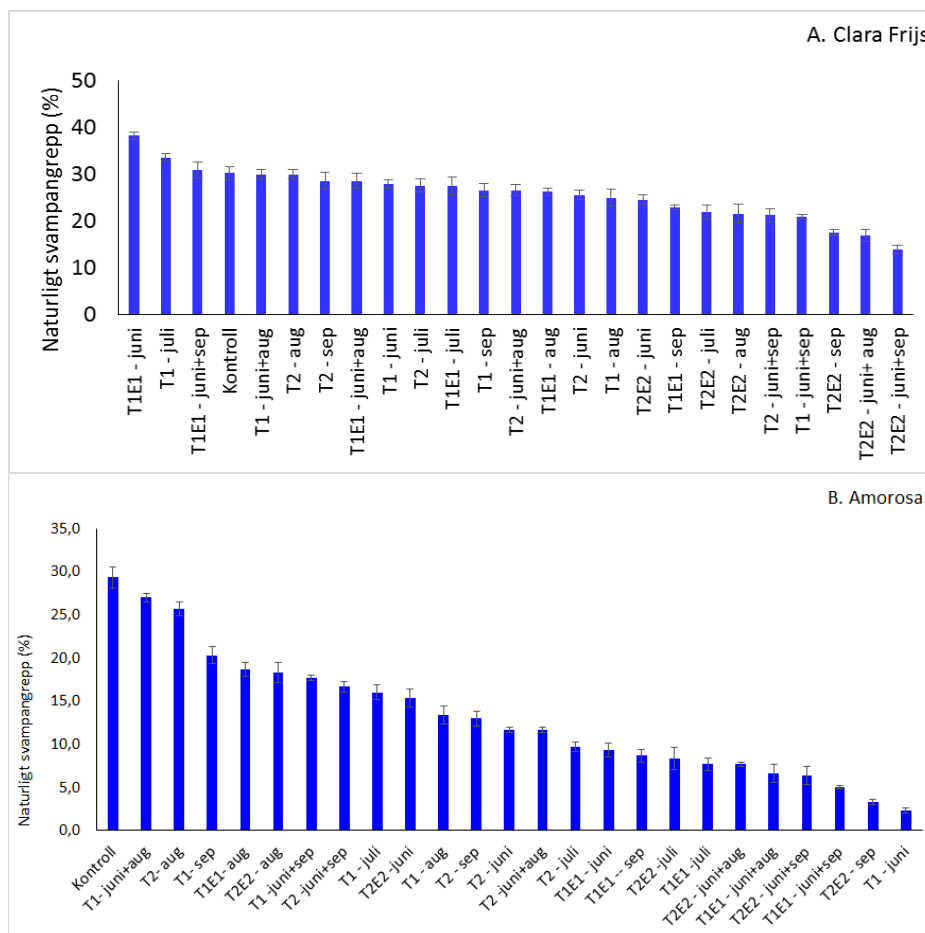


Fig. 1. Effekt av fältbehandling med olika oljor och vid olika tillfälle på förekomsten av svampangrepp under lagring, error bar = \pm SD.

T1: tymol 30 mg/l, T2: tymol 45 mg/l, E1: eugenol 2 mg/l, E2: eugenol 3,0 g/l.

Tabell 4. Effekt av fältbehandlingar vid olika tillfällena och med olika oljor på fruktkvalitet.

'Clara Frijs'				2015			
Behandlings- ämne	Frukt- vikt (g)	Fasthet kg.cm ⁻¹	SSC %	Behand- lingsämne	Frukt- vikt (g)	Fasthet kg.cm ⁻¹	SSC %
T1	141,7 a ^z	8,9 a	13,2 b	T1	109,6 a	10,5 a	11,1 a
E1	141,4 a	8,1 b	12,3 c	T2	100,4 ab	10,6 a	10,7 ab
T-E 1	121,6 b	8,2 ab	13,9 a	T-E 1	102,4 ab	10,5 a	10,7 ab
Kontroll	125,7 ab	7,9 b	12,6 c	T-E 4	93,5 b	10,7 a	10,3 b
Behandlingstillfälle				Kontroll	89,4 b	10,9 a	9,6 c
				Behandlingstillfälle			
Augusti	133,0 a	7,9 b	13,0 a	Juni	105,9 a	10,4 a	10,5 a
September	130,0 a	7,8 b	13,1 a	Juli	99,4 a	10,7 a	10,6 a
Aug och sep	133,6 a	8,8 a	13,0 a	Augusti	100,3 a	10,6 a	10,6 a
<i>T1: tymol 30 mg/l, T2: tymol 45 mg/l; E1: eugenol 2 mg/l, E2: eugenol 3,0 g/l, T-E 1: T1+E1, T-E 4: T2+E2</i>				Sep.	95,2 a	10,8 a	10,8 a
				Juni + aug	92,5 a	10,6 a	10,4 a
				Juni + sep	101,1 a	10,7 a	10,5 a

'Amorosa'				2015			
Behandlings- ämne	Frukt- vikt (g)	Fasthet kg.cm ⁻¹	SSC %	Behand- lingsämne	Frukt- vikt (g)	Fasthet kg.cm ⁻¹	SSC %
T1	137,1 ab	6,7 c	11,2 b	T1	108,2 bc	8,9 a	12,9 a
E1	124,0 b	7,6 a	11,2 b	T2	105,3 c	8,5 a	13,0 a
T-E 1	147,5 a	7,2 ab	11,3 ab	T-E 1	98,7 c	8,0 ab	12,6 a
Kontroll	129,6 ab	6,9 bc	11,5 a	T-E 4	117,2 b	8,8 a	12,9 a
Behandlingstillfälle				Kontroll	139,2 a	7,0 b	12,9 a
				Behandlingstillfälle			
Augusti	134,1 a	7,4 a	11,1 b	Juni	103,2 b	8,5 a	12,9 a
September	137,6 a	6,8 b	11,3 a	Juli	109,1 ab	8,5 a	12,9 a
Aug och sep	133,3 a	7,1 ab	11,4 a	Augusti	108,2 ab	7,8 a	13,0 a
<i>T1: tymol 30 mg/l, T2: tymol 45 mg/l; E1: eugenol 2 mg/l, E2: eugenol 3,0 g/l, T-E 1: T1+E1, T-E 4: T2+E2</i>				Sep.	125,4 a	8,2 a	12,6 a
				Juni + aug	114,6 ab	8,3 a	12,8 a
				Juni + sep	121,8 a	8,2 a	12,9 a

^z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn, skiljer sig åt signifikant.

4.3.2.2. Behandlingar med ozon

Behandling av träden med ozon löst i vatten visade varierande resultat för 'Amorosa' beträffande avkastningen. Behandlingar under juni månad samt juli + september månad resulterade i minskad avkastning, medan behandling juni + augusti visade på en ökning i avkastning, dock inte signifikant. Vid de andra behandlingstillfällena kunde ingen signifikant skillnad påvisas. För 'Clara Frijs' resulterade behandling i juni månad i minskad avkastning, medan de för övriga behandlingstiderna kunde signifikanta skillnader inte påvisas.

Ozonbehandlingar visade i allmänhet inga skillnader på fruktqualität vid skörd eller efter lagring (data visas inte). Ozonbehandlingar på fältet hade en positiv effekt vid de flesta behandlingstillfällena för 'Amorosa', men minskningen av svampangrepp under lagring varierade. (Tabell 5). För 'Clara Frijs' kunde ingen signifikant skillnad påvisas mellan behandlade träd och kontroll för något behandlingstillfälle, med undantag för behandling under juni + september månad, som orsakade en ökning av lagringsskador. Generellt visade ozonbehandlingen stor inhiberingseffekt på förekomsten av de två viktigaste svamparter.

Tabell 5. Inverkan av ozonbehandlingen på fält på naturligt svampangrepp under lagring (2015).

Medel	Besprutnings-tillfälle	'Clara Frijs'	'Amorosa'	Medel	'Clara Frijs'		'Amorosa'	
					N.	P.	N.	P.
Ozon	Juni	24,0 b ^z	17,3 bc	Ozon	0,8 b	1,8 b	0,4 b	2,1 b
	Juli	19,0 b	3,7 e	Kontroll	3,7 a	4,7 a	3,0 a	4,5 a
	Augusti	25,3 b	14,0 cd	^z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn, skiljer sig åt signifikant, $p \leq 0.05$				
	September	24,0 b	21,0 ab					
	Juni + aug	17,3 bc	15,0 cd					
	Juni + sep	36,3 a	11,7 d					
Kontroll		23,7 b	22,0 a					

Besprutning av träd med ozon minskade lenticell-mögel med 78% i päron och 86% i äpple. Behandlingen reducerade grönmögel med 60% i päron och 55% i äpple (Tabell 5).

4.4. Etiologin av lagringsjukdomar hos äpplen och päron

4.4.1. Vilka svamparter förstör svenska äpplen och päron under lagring?

Största delen av lagringsförlusten orsakades av svampangrepp. *Neofabraea* sp. (44 % av svampangreppet) och *Colletotrichum* sp. (30 %) har varit de främsta orsakerna till svampangreppet, följt av *P. expansum* (13%) och därefter 4,5 % av *M. fructigena*, 4 % av *B. cinerea* och resten av övriga svamparter (Figur 2).

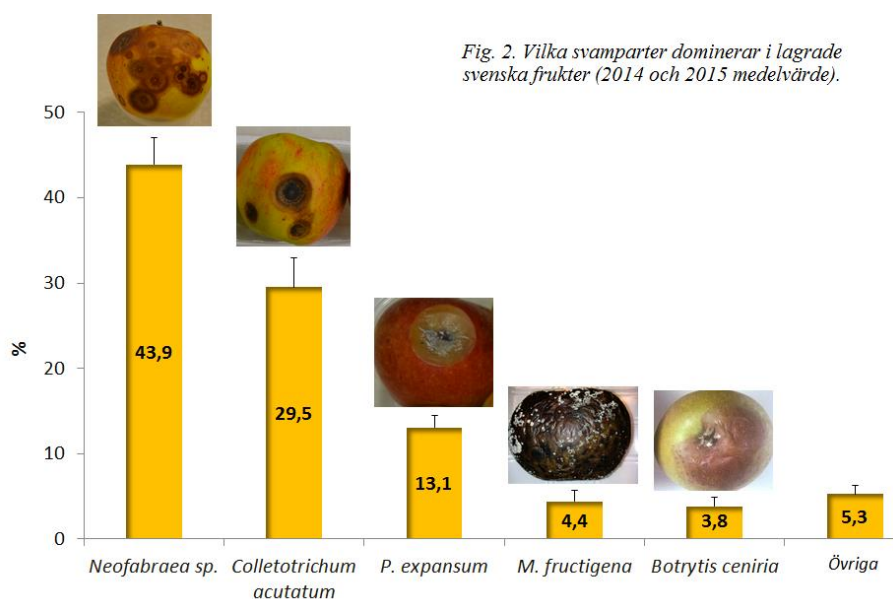


Fig. 2. Vilka svamparter dominerar i lagrade svenska frukter (2014 och 2015 medelvärde).

4.4.2. Smittkällor

4.4.2.1. Mumifierade frukt som smittkällor

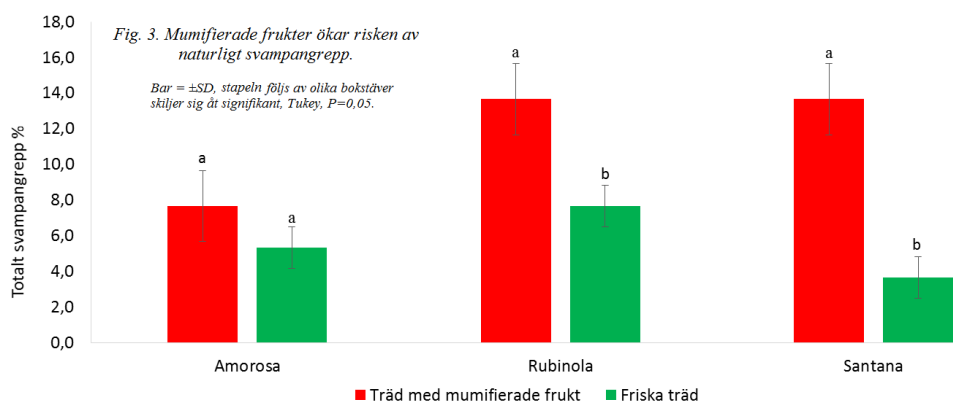
Mumifierade frukter som lämnas på trädet från föregående säsong spelar en viktig roll som smittkälla pga. konidiumspridning. Frukter från träd med mumifierade frukter drabbades av mer naturligt svampangrepp jämfört med frukter från träd utan dessa (Fig. 3).

4.4.2.2. Vind och insekter som smittkällor

Frukter på skotten som täckts senare på säsongen visade bättre tolerans mot naturligt svampangrepp jämfört med otäckta frukter eller frukt från skotten som täckts tidigare på säsongen (Fig. 4).

4.4.2.3. Fallfrukt och nedfallna kart

Frukt från träden där fallfrukt och nedfallna kart hade tagits bort varannan vecka i säsongen visade mindre naturligt svampangrepp för 'Amorosa' och 'Santana' under lagring i jämförelse med frukt från träden där fallna kart och frukter inte togs bort (Tabell 6).



4.4.2.4. Regnvatten som smittkällor

Regnvatten från sjuka träd varannan vecka innehöll stor förekomst av olika svampsporer i jämförelse med regnvatten från friska träd från 'Rubinola' och 'Santana'. De flesta av konidierna tillhörde *M. fructigena*, *Neofabraea* sp. och *Colletotrichum* sp. Frukt från sjuka träd visade 75-80% mer naturligt svampangrepp i jämförelse med frukt från friska träd (Tabell 7).

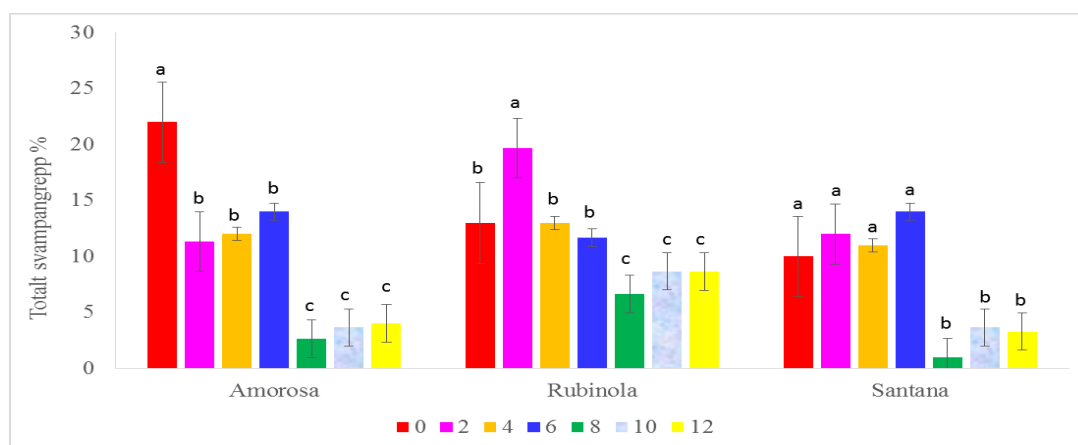


Fig. 4. Effekt av skottäckning vid 0 (kontroll; ingen täckning) 2, 4, 6, 8, 10 och 12 veckor innan skörd på förekomsten av naturligt svampangrepp (i procent av lagrad frukt) under lagring, error bar= ±SD, staplar betecknade med olika bokstäver skiljer sig åt signifikant, Tukey, P=0,05.

Tabell 6. Effekt av samling av fallfrukt och kart på förekomsten av svampangrepp (i procent av lagrad frukt) under lagring 2015.

Faktor	'Amorosa' (Kivik)	'Rubinola' (Malmö)	'Santana' (Malmö)
Fallna kart och frukt samlades	14,0 b	19,7 a	4,0 b
Fallna kart och frukt samlades ej	20,5 a	20,3 a	11,0 a

^Z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn, skiljer sig åt signifikant, p≤0.05

Tabell 7. Effekt av regnvatten inom sjuka och friska träd på svampangreppet under lagring 2015.

Faktor	'Amorosa' (Kivik)	'Rubinola' (Malmö)	'Santana' (Malmö)
Friska träd	12,0 a	4,8 b	3,6 b
Sjuka träd	11,4 a	16,4 a	18,5 a

^Z Medelvärden som följs av olika bokstäver, inom samma kolumn, skiljer sig åt signifikant, p≤0.05

4.4.2.4. Lådor som smittkällor

Otvättade lådor eller de som tvättades med kranvatten visade 22 % respektive 17 % svampangrepp i skadad respektive oskadad frukt under lagring (Fig. 5). Behandlingen av lådor med varmt vatten minskade förekomsten av svampangrepp med 20 % hos skadad frukt och 15

% hos oskadad frukt. Behandling med tymol-eugenol hade bättre effekt än varmt vatten, och därmed minskades svampangreppet med 40 % i skadad frukt och med 44 % i oskadad frukt (Fig. 5). Den mest effektiva behandlingen var hypoklorsyra som minskade svampangreppet med 50 % i både skadad och oskadad frukt (Fig. 5).

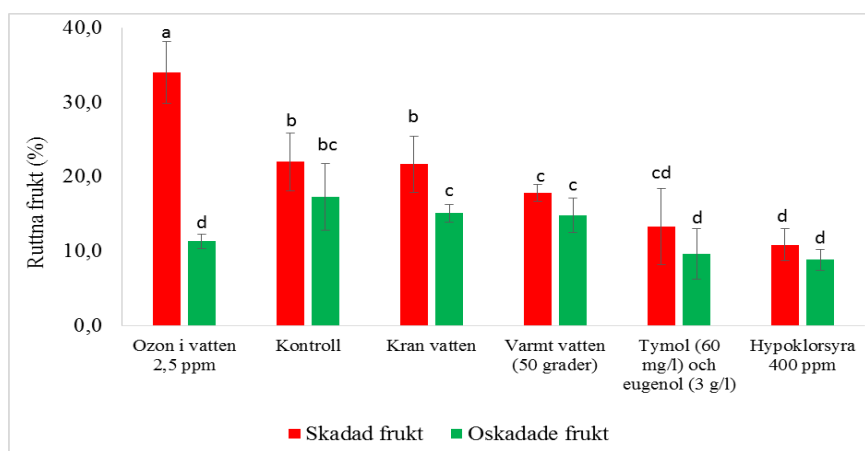


Fig. 5. Effekt av olika behandlingar på lådor på förekomsten av svampangrepp under lagring, bar= \pm SD, staplar betecknade med olika bokstäver skiljer sig signifikant, Tukey, $P=0,05$.

5. Diskussion och slutsatser

Lagringssjukdomen (*Neofabraea sp.*) orsakade de största förlusterna bland IP-odlade päron respektive ekologiska äpplen. *Neofabraea*-arter angriper frukten redan i odlingen och orsakar små döda fläckar på skalet, som sprider sig in i frukten. Sporererna ligger latenta i lenticellerna, eller i sår på skalet, innan de börja växa när frukten har nått en viss mognadsfas i lagret. Bitterröta som orsakas av *C. acutatum* observerades som den näst värsta skadegöraren under fruktlagring i alla försök. Angreppet kan få ett epidemiskt förlopp vid varmt och fuktigt väder. Svampen övervintrar i fruktmumier, drabbade skott, ogräs och knoppar. Grönmögel (som orsakas av svampen *P. expansum*) går även under benämningen mjukröta. Svamparten är mycket aggressiv och deras sporer kan sprida sig via luften. Fruktmögel orsakas framför allt av svampen *M. fructigena* och noterades i nästan alla försöksdelar. Regnvatten, fallfrukt och nedfallna kart, mumifierade frukter, vind- och insektsspridning samt förpackningslådor kan förmodligen vara viktiga smittkällor för dessa svamparter i området.

Användningen av fungicider i IP-odling har begränsats kraftigt i Sverige samtidigt som det för närvarande inte finns något effektivt medel som är godkänt inom ekologisk odling för kontroll av lagringssjukdomar hos äpple. Ett antal naturliga ämnen har visat potential i inledande försök, men merparten har aldrig utvecklats till produkter på kommersiell nivå.

Resultaten visade att en blandning av växtolja tymol och eugenol, har den bästa effekten på lagringspotential av ekologiska äpplen samt IP-päron vid behandling i fält. Denna behandling minskade naturligt svampangrepp under lagring utan att orsaka någon negativ effekt på fruktqualitet (mjukhet, smak och utseende). Att behandla träden sent (augusti och/eller september) hade störst effekt, vilket visar att de sista veckorna innan skörd är de mest kritiska för svampangrepp på fält. Behandling med ozon löst i vatten direkt på träden hade också en positiv effekt, men resultaten varierade beroende på behandlingstillfälle under säsongen. En möjlig förklaring till den varierande effektiviteten i behandlingen kan vara att metodologiska problem. Då ozon är en mycket reaktiv gas kan det vara svårt att finna en metod som ger jämn och stabil applicering i fält. Det fanns även vissa resultat som kan tyda på att applicering av ozon i fält kan ha negativ påverkan på skördeutbytet, men det begränsade

underlaget i denna undersökning, samt stor variation i utbyte mellan olika träd i odlingen, gör att det inte kan dras några säkra slutsatser om påverkan på skördeutbytet.

Växtoljor och ozon visade samma positiva effekter på äpplens och pärons lagringspotential när de applicerades efter skörden. Vår studie bekräftade att behandling av frukt med varmt vatten (inte varmare än 54 grader) minskade svampangreppet under lagring. Ozon i luft (72 tim., men inte 2 tim), varmt vatten (57 grader) och hypoklorsyra (400 ppm) orsakade olika skador på fruktskalet och därmed ökade svampangreppet, särskilt *P. expansum*.

Slutsatser: Resultaten i denna undersökning visar att det finns goda möjligheter att minska förekomst av svampsjukdomar i odlingen av äpple och päron, samt under lagring. I förebyggande syfte kan fruktträden sprutas med en kombination av tymol och eugenol i lämplig koncentration. Behandling efter skörd med ozon i vatten eller kombination av tymol och eugenol kan också ge minskning av skador under lagring. Viktiga smittspridningskällor är mumifierade frukter som lämnas kvar på träden, samt fallfrukt och nedfallna kart som ligger på marken under träden. Regnvatten, vind och insekter bidrar troligen också till smittspridning. Ett kontrollprogram för reducering av smittspridning genom sanering av fruktlådor/bingar och fruktodlingen kan troligen minska förekomst av svampsjukdomar i odling och lager.

Resultatförmedling: Resultaten från projektet har diskuterats med odlare, med Äppelriket och presenterats inom ramen för flera kurser, på möte ("Äppelträff") och på trädgårdskonferens. Resultaten har publicerats i ett manus (*Acta Hort.* 2016. *In press*) och kommer att publiceras i en internationell vetenskaplig tidskrift, samt i ett Faktablad inom ramen för LVF-fakultetens publikationer, SLU. Möte med deltagande äppelodlare i projektet var planerat till april 2017, men senarelades till december 2017 p.g.a. återbud.

Publikationer och presentationer:

Internationella:

1. Oral presentation: Olsson, ME, Gustavsson, K-E, Tahir, I: Effects of pre- and post-harvest treatments with ozone and essential oils on postharvest fungal decay of apple and pear fruit, 1st International Apple Symposium, Yangling, Shaanxi, China, 10-16 October, 2016.
2. Oral presentation: Tahir, I., Gustavsson, K-E. and Olsson, ME. Swedish apples: quality and storage potential. 1st International Apple Symposium, Yangling, Shaanxi, China, 10-16 October, 2016.
3. Poster: Tahir, I, Gustavsson, K-E, Olsson, ME. Control of storage diseases of apples by plant volatile compounds and hot water. 1st International Apple Symposium, Yangling, Shaanxi, China, 10-16 October, 2016.

Publikation i *Acta Horticulturae*:

4. Tahir, I, Gustavsson, K-E, Olsson, ME. Control of storage diseases of apples by plant volatile compounds and hot water. *Acta Hort. Proceedings at 1st International Apple Symposium, Yangling, Shaanxi, China, 10-16 October, 2016. In press.*

Svenska:

1. Olsson, M. Bekämpningsstrategi mot lagringsjukdomar i ekologiskt odlade äpplen och päron. Muntlig presentation i 'Fortbildning fruktodling', för odlare, rådgivare, forskare och andra intressenter inom fruktodling. Kristianstad. Jordbruksverket 18 dec. 2014.
2. Tahir, I. Vad är det som förtär svenska äpplen? Muntlig presentation i 'Fortbildning fruktodling', för odlare, rådgivare, forskare och andra intressenter inom fruktodling. Kristianstad. Jordbruksverket 18 dec. 2014.
3. Olsson, M. Utveckling av nya metoder för bekämpning av lagringssjukdomar hos äpple och päron. Muntlig presentation vid seminarium 'Framtidens ekologiska produktion i Sverige', 21 april 2015, arrangerat av EPOK i samarbete med Partnerskap Alnarp.

4. Tahir, I. Lagringsjukdomar och smittkällor i en organisk äppelodling: muntlig presentation på Äppeldag (19 jan, 2017. Kristianstad, PA och LRF).

Referenser

- Amiri, A., Dugas, R., Pichot, A.L. and Bompeix G. 2008. In vitro and in vitro activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 126:13–19.
- Neri, F., Mari, M., Brigati, S. and Bertolini, P. 2009. Control of *Neofabraea alba* by plant volatile compounds and hot water. *Postharvest Biol. Technol.* 51:425–430.
- Rodgers, S.L., Cash, J.N., Siddiq, M., Ryser, E.T. A. 2004. Comparison of Different Chemical Sanitizers for Inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in Solution and on Apples, Lettuce, Strawberries, and Cantaloupe. *Journal of Food Protection*, 67, 4:721-731.
- Romanazzi, G., Karabulut, O. and Smilanick, J. 2007. Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Boil. Techn.* 45:134–140.
- Spotts, R.A., Seifert, K., Wallis, K., Sugar, D., Xiao, L., Serdani, M., and Henriquez, J. 2009. Description of *Cryptosporiopsis kienholzii* and species profiles of *Neofabraea* in major pome fruit growing districts in the Pacific Northwest USA. *Mycological research* 113:1301-1313.
- Suslow, T.V. Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops. University of California publication, ISBN-13: 978-1-60107-312-9, 2004.
- Tahir, I.I. 2006. Control of pre- and postharvest factors to improve apple quality and storability. PhD Diss., Plant Breeding and Biotechnology. Dept., Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden.