

2011.01.31

Rapport till SLF. Frukträdskräfta (*Nectria galligena*) i svensk fruktodling.

Projektansvarig : Guy Svedelius

Projektmedverkande: Bengt Boysen, Catrin Heikenfeldt, Mira Rur och Weronika Swiergiel.

Det övergripande målet är att genom en bättre förståelse av faktorer som påverkar utvecklingen av frukträdskräfta, bidra till en förbättrad kontroll av sjukdomen i Sverige.

Delmål 1. Studera kvävet inverkan på infektionsutveckling i fältförsök.

Delmål 2. Studera kvävet inverkan på infektionsutveckling på mikroförökat grundstamsmaterial i växthuskammare.

Delmål 3. Studera kvävet inverkan på kärlnormologi och spridning av frukträdskräfta i skott.

Delmål 4. Undersöka möjligheten till rotinfektion av frukträdskräfta.

Delmål 5. Undersöka möjligheten till tidig detektion av frukträdskräfta.

Delmål 6. Jämföra olika äppelsorters mottaglighet för frukträdskräfta i odlingar.

Delmål 7. Undersöka produktionsmetoders relation till utveckling av *N.galligena*.

Frukträdskräfta (FTK) är idag en av de mest allvarliga sjukdomarna på äpple och päron samt ett flertal andra lövträdsarter i de tempererade zonerna (Flack & Swinburne 1977). FTK orsakas av en svamp, *Neonectria galligena* (Bres.) Rossman & Samuels comb. nov. (anamorph *Cylindrocarpon heteronema* (Berk. & Broome) Wollenw. (Rossman et al. 1999). FTK är känd för att infektera genom sår t.ex. bladärr (Crowdy 1952). Saure (1963) visade att FTK under vissa förhållanden kan gynnas av höga kvävehalter. Nii (1998) visade att höga kvävehalter leder till större kärllareor i äpplebladskäft. Det har även visats att sortberoende skillnader i kärllarea påverkade spridningen av FTK i träd (Lolas 2009). Däremot har ingen studie sammantaget undersökt om olika kvävenivåer kan leda till olika kärllarea och olika FTK nivåer.

En viktig preventiv åtgärd vid etablering av ny fruktodling är att försäkra sig om friskt växtmaterial vid inköp och plantering. McCracken et al. (2003) har studerat svampens infektion och spridning i fruktodlingar. Även om växtmaterialet är fritt från synliga rötter förorsakade av FTK när det kommer till odlaren, kan det förädlade växtmaterialet bära på latent förekommande smitta som kan bryta ut flera år efter plantering (McCracken et al. 2003). Crowdy (1949) påvisades att svampen kunde invadera veden och hålla sig latent och att detta kunde förklara uppkomsten av nya utbrott av FTK på delvis läkta sår.

Ett flertal olika molekylära metoder för att diagnosticera sjukdomen i smittade träd har utvecklats (Dewey et al. 1995; Langrell 2000). Metoderna behöver utvecklas vidare för mer praktisk tillämpning där även mycket små mängder av smitta kan upptäckas redan i produktionsledet (muntligen Holfors, 2010).

Delmål 1. Kvävet inverkan på infektionsutveckling i fältförsök.

År 2008 utplanterades 2-åriga äppleträd, från Carolus Trees, Discovery M9, Amorosa M9 och Elise Mark i ett randomiserat blockförsök med två block. Varje block delades in i fyra led med olika nivåer av kvävegödsling, 30, 60, 90 och 120 Kg N/ha. Discovery och Amorosa hade två upprepningar per led och block, Elise 1 upprepning. Försöket omgavs av en äppleträdssrad.

Grundgödsling Pro Magna 11-5-18 (Yara) 300Kg/ha (33kg N) tillfördes i början av varje säsong. Från mitten av juni till mitten av augusti år 2008-2010 tillfördes kvävenäring med droppbevattning, Water Boys. 2008 och 2010 togs jordanalyser. I månadskiftet

2011.01.31

augusti/september år 2009 och 2010 togs samlingsprover parcellvis med 3 blad från grenspetsarna på tre nivåer i trädet. Bladen torkades i 4 dagar i 70-80°C. Kvävehalten mättes med CARLO ERBA NA1500 series 2 Nitrogen/Carbon/Sulphur analyser. Resultat analyserades med Anova General Linear Model (GLM). Sjukdomsgraderingar utfördes varje år där stam- eller grenangrepp noterades.

Resultat

Jordanalyser 2008 visade relativt låga nivåer på tillgängligt nitrat- respektive ammoniumkväve jämfört med 2010. Variationen var mycket stor och inga samband fanns mellan tillförd växtnäring och uppmätta kvävenivåer. Efter plantering och grundgödsling togs bladprover i juli 2008. Samtliga hade låga värden på nitrat- och ammoniumkväve. Det var också fallet för de uppmätta värdena på bladkväve som beräknades från bladprover 2009 och 2010. Det fanns inga statistiskt säkra skillnader i antal angripna träd eller antalet angrepp per träd mellan de olika kvävenivåerna i trädgårdslaboratoriets försöksodling.

Diskussion och slutsatser

Tidigare studier (Saure 1963) har visat att kraftig tillväxt till följd av riklig tillgång av kväve minskat trädens motståndskraft, men om träden samtidigt rotbeskars eller om vattenbrist rådde minskade istället mottagligheten för FTK. Van der Scheer (1979) jämförde kvävegivorna 100kg N/ha och 250kg/ha och påvisade ett samband mellan kvävenivåer och mottaglighet för FTK. Studien visade samtidigt att delade kvävegivor gav högre mottaglighet för FTK jämfört med en engångsgiva. Kvävenivåerna i trädgårdslaboratoriet baserades på en rekommendation på 60kg N i kommersiell odling (muntligt Martinsson 2008). Bristen på signifikanta skillnader i trädgårdslaboratoriet kan bland annat bero på en hög lerhalt i jorden vilken buffrar kvävet. På grund av tekniska problem utsattes odlingen för vattenbrist under sommaren 2008 och 2009 vilket hämmat plantornas näringsupptag.

Delmål 2. Kvävet inverkan på infektionsutveckling på mikroförokat grundstamsmaterial i växthuskammare.

Till infektionsförsöket valdes mikroförokat grundstamsplantor, M26, odlade i dagsljuskammare med konstljusstillskott. Plantorna har fortlöpande bevattnats två gånger per vecka med fyra olika koncentrationer av Superba Plus, motsvarande 30, 60, 90, 120 Kg/ha. Till försöket valdes 28 plantor per kvävenivå. Plantorna var slumpmässigt utplacerade på odlingsborden. De testade plantorna behandlades enligt följande. Ett sår per skott gjordes med ett klacksnitt vid basen av en bladknopp. Därefter tillsattes en mycelsuspension från en tre veckor gammal odling av *N. galligena*, odlad på näringsmediet potatisdextrosagar (PDA), vilken hade finfördelats med hjälp av mixer. Mycelsuspensionen tillfördes sårytan med en mikropipett, 3 µl, i en koncentration av $6 \cdot 10^3$ cfu. Dropparna torkade i 10 minuter och täcktes sedan med vit vaselin. Vaselinet avlägsnades efter fyra dagar. Eventuell infektionsutveckling bedömdes efter fem veckor. Den synliga infektions-utbredningen mättes med skjutmått. En visuell bedömning skedde av rötans djup.

Resultat

Efter fem veckor hade rötorna både vidgats och växt inåt i stjälkarna. Mätvärdena uppvisade stor variation mellan plantor och signifikanta skillnader i rötornas utbredning i förhållande till kvävenivåer kunde inte påvisas. En högre infektionsgrad samt en tendens att utveckla djupa rötter kunde utläsas för de högre kvävnivåerna, se tabell 1.

2011.01.31

Tabell 1. Inverkan av kvävetillskott på rötbildning efter infektion med fruktträdskräfta på äpplegrundstamsplanter.

Kvävenivå, kg/ha	Omfång, mm	Utan rötter	Ytliga rötter	Djupa rötter	Totalt	Infektionsgrad, %
30	2,3	8	9	11	20	71
60	2,1	10	5	13	18	64
90	2,6	5	7	16	23	82
120	3,2	5	7	16	23	82

Diskussion och slutsatser

Den sammanvägda bedömningen av infektionsgrad, rötornas utbredning och rötornas djupgående talar för att den högsta kvävegivan också orsakar de mest omfattande infektionerna på stjälkarna. Med, i detta fall, förhållandevis litet antal försöksplanter gick det inte att uppnå signifikanta säkra skillnader mellan behandlingsleden. Äppelträd som givits höga kvävegivor hade förhållandevis kraftigare rötutveckling i förhållande till träd med lägre (Saure 1963).

Delmål 3. Kvävet inverkan på kärlmorfologi och spridning av fruktträdskräfta i skott.

Skott från mikroförökade grundstamsplanter, M26 (se delmål 2) bröts av och placerades i plastpåsar. Absorbansvärden (absorbansnivån i klorofyll med Yara N-tester) för bladen på respektive skott uppmättes. I en sterilbänk förkortades skotten till 15 cm och placerade i var sitt provrör med 50 ml sporsuspension (10^3 konidier/ml). Efter 30 minuter upp till 7 dygn i suspensionen togs skotten upp, avbladades och sanerades i natriumhypoklorit i 10 minuter. Skotten sköljdes därefter tre gånger med autoklaverat kranvatten. Skotten delades sen i 1 cm stora bitar. Bitarna placerades i petriskålar med PDA med tetracyklin. De tillslutna skålarna placerades i dagsljus och rumstemperatur. Efter minst fyra dygn bedömdes svamputväxt. Vid ett tillfälle valdes material från fem skott baserat på plantornas absorbansvärden. Matrialet fixerades med paraformaldehyd och glutaraldehyd. Därefter följde dehydrering med etanol och inbäddning i LR White (TAAB Laboratories, England) samt polymeriserades i ugn. Efter polymeriseringen förbereddes matrialet för snittning i en pyramitome (LKB, Bromma). Med hjälp av en Ultratome (LKB, Bromma) gjordes därefter tunna tvärsnitt (1-2 μ m). Snitten färgas in med toluidinblått och monterades på objektsglas (Biomount 2, BBInternational, UK). Vid fotograferingen av snitten användes stereomikroskop med 250x förstoring och totalarea samt floem och xylemarea mättes med programmet Leica QWin Standard V3. Kärllvidden i xylemet mättes med mikroskoplinjal vid 350x förstoring (50 tvärsnitt per preparat).

Resultat

Spridningsförsök med konidiesuspension har utförts vid fem olika tillfällen. Förhållandena varierade och försöken kan inte betraktas som upprepningar. Antalet studerade skott var vid varje tillfälle litet och det fanns inga signifikanta skillnader mellan de olika kvävenivåerna eller tidsförloppen.

Tabell 2. Utvärdering av sambandet mellan sporspridning i stjälk, kvävenivå och kärlmorfologi hos utvalda skott från krukodlade äpplegrundsstammen m26 efter 24 timmars behandling och 4 dygns inkubering på näringsagar.

N-giva kg/ha	Spridning cm	Relativ N-halt	Kärllvidd μ m	*floemarea	*xylemarea
60:1	11	394	30,5	0,11	0,44
60:2	9	451	32,2	0,11	0,45
90:3	8	498	35,3	0,12	0,37
120:2	6	493	32,2	0,12	0,45
120:3	7	442	33,0	0,12	0,43

2011.01.31

- mätvärde saknas, *kvot floem-, xylem- area till totalarea.

Vissa tendenser kunde ses. Spridning i skotten var initialt snabb. Efter 30 min fanns generellt en spridning i skotten på 5-6 cm. Längden fördubblades efter sju dagar. Genomgående fick vi en större spridning i skott med låga kvävetillskott (30- 60 kg/ha) i förhållande till höga kvävetillskott (120 kg/ha). Ledningsvävnaden i fem utvalda skott tyder på små skillnader i kärldatarea. Inget samband fanns mellan kvävenivå och kärldatarea. Kärldatavidden var större för skott med högt absorptionsvärde i förhållande till skott med lågt, se tabell 2.

Diskussion och slutsatser

Det har inte gjorts motsvarande studier på kvävenivåernas inverkan på spridning i avskurna skott. Till skillnad från våra resultat har Nii et al. (1998) visat att ledningsvävnad i bladskaff påverkats av kvävetillskott; xylem-respektive floemarea samt antal kärldata ökade vid ökad torrviktsprocent av kväve i studerade äpple- och persikoblada. Det tyder på att kärldatavidden var mindre vid högre kvävenivåer i förhållande till lägre. Lolas (2009) visade att sorter med många kärldata samtidigt hade liten kärldatarea och sorter med färre kärldata hade större kärldatarea. Sorter med grövre kärldata visade kraftigare spridning.

Delmål 4. Rotinfektion av fruktträdskräfta.

Weber och Klopp (2006) har visat att kragröta på fruktträds basala stammar orsakas av *N. galligena* och möjligen sprids sjukdomen från växtrester. På Alnarp har infektionsförsök i jordkultur med fröplanter av äpplesorten 'Golden Delicious' utförts med *N. galligena*. Missfärgade rötter kunde tyda på infektion. Resultaten var inte entydiga. Infektionsförsök med sporsuspensioner eller infekterade växtrester till planter med intakta såväl som mekaniskt skadade rötter samt med fröplanter i hydrokultur, gav inga infektioner.

Delmål 5. Tidig detektion av fruktträdskräfta

För att fastställa om äppelträd redan vid leverans till odlare är infekterade med fruktträdskräfta (FTK) krävs en tidig detektion innan inkubationstidens slut. År 2009/2010 graderades 10/11 nyplanterade äppelodlingar och 7/4 sorter på sammanlagt 9/8 gårdar i olika delar av Skåne och Blekinge. Träden var huvudsakligen inköpta från det Holländska företaget Carolus Trees men även från det Danska företaget Vester Skovgård och det Belgiska företaget Johan Nicolaï. I fem odlingar på två gårdar var träden förädlade av odlaren. Alla träd graderades inom högst två och oftast en månad från leverans samt innan de beskars. År 2009/2010 graderades 50/30 slumpmässigt utvalda träd per odling enligt: den största procentuella gördlingen av stammen, procent angripna basgrenar samt antalet olika lokaliseringar med angrepp per träd. År 2009 räknades misstänkta symptom med tillväxt över säsongen som FTK. År 2010 togs DNA prover på angrepp som inte kunnat fastställas okulärt. Proverna analyserades med realtids-PCR (qPCR). Engångshandskar, 70 % etanol, avbränning och 0,4 M saltsyra användes till skydd mot spridning. Kontrollprover togs på friska träd, sjuka träd, frisk vävnad på sjuka träd och genomiskt DNA från M26 meristem.

En relativ kvantifiering användes där mängden DNA från *N. galligena* i fältprovet relaterades till mängden amplifierat DNA av äpple (Ubiquitin). Genomiskt DNA från *N. galligena* och äpple isolerades med hjälp av Fermentas genomic DNA purification kit (Fermentas). Kvalitet och koncentration på DNA:t från extraherade prover analyserades genom gelelektrofores och absorptionsmätning med Nanodrop (Thermo Scientific). 12,5 ng av genomiskt DNA användes i 20 µl PCR reaktioner med följande reaktionskomponenter: 1x EvaGreen

Ssofast Supermix, 0,3 µM av vardera primer. För amplifiering användes ett 2-steps PCR-program (CFX96 Realtime system, C1000™ Thermal cycler, BioRad). Amplifieringen avslutades med en smältkurveanalys för att verifiera specificiteten av amplifieringen. Varje prov analyserades i duplikat. Relativ kvantitet av patogenens DNA beräknades enligt formeln: $\Delta\Delta Ct = 2^{-(C_{tref(a)} - C_{t\text{sample}(a)}) / (C_{tref(b)} - C_{t\text{sample}(b)})}$ (Pfaffl, 2001). Prover relaterades till ett referensprov på sjuk vävnad från försöksodlingen. Om provet inte uppvisade fluorescens högre än bakgrundsfluorescensen innan 40 reaktionscykler räknades provet som negativt.

En gräns för vad som är sjukt på 0,3 ddCt bestämdes med hjälp av en modell där logaritmen av ddCt var fördelad enligt två olika normalfördelningar för sjuka och friska träd. Sannolikheten var störst för att trädet var sjukt för värden på ddCt över 0,3.

Resultat

FTK påvisades i de flesta proverna, även de som inte visade några sjukdomssymptom. In-vitro kontrollen visade ingen FTK. Frisk vävnad oavsett om trädet i övrigt var smittat visade liknande nivåer av FTK. Sjuk vävnad från sjuka träd gav de högsta relativa nivåerna av FTK. Baserat på gränsen för sjuka träd (0,3 ddCT) var 13% (95% konfidensintervall, 5-20%) av de planterade träden år 2009 och 33% (95% konfidensintervall, 20-45%) år 2010 angripna.

Av de nyplanterade träd som graderades 2009 och 2010 hade 18 % angrepp som gördlad stam, förädlingsställe eller grundstam. Huvuddelen av angreppen gördlade runt 15% men ända upp till 100% gördling återfanns i enstaka fall. Tabell 3 visar den procentuella fördelningen av olika typer av angrepp. En PCA analys baserad på kovariansmatrisen visar att 3-4 odlingar skilde ut sig med ovanligt mycket stamangrepp.

Tabell 3. Medelantal angrepp på olika lokaliseringar från 17 nyplanteringar graderade 2009 till 2010.

Sort	a1	a3	b	d	e	f	j	x	N
Nyplanteringar									
Amorosa	0,000	0,023	0,019	0,023	0,122	0,033	0,036	0,000	9
Discovery	0,000	0,000	0,017	0,000	0,366	0,000	0,033	0,000	2
Elise	0,008	0,015	0,042	0,051	0,075	0,013	0,008	0,000	4
Frida	0,000	0,000	0,000	0,010	0,050	0,050	0,093	0,017	2

a1) adventivrötter på grundstam a3) grundstam ej vid adventivrötter b) 1a förädlingsstället d) andra förädlingsstället e) stam f) grenar och kortskott j) grenstubbe x) dött träd N) antal odlingar. Statistisk analys kan ej göras på grund av för få angrepp per odlare och sort.

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Provtagningar har visat att följande typer av växtskador i vissa fall kan innehålla relativt stora mängder FTK; grenstubbar från avbrutna eller klippta grenar (cliff-hanger), missfärgade intorkade eller svullna blomstjälkar, frostskadade intorkade grenar och kortskott, brunfärgade och uppspruckna grenvinklar, mekaniskt orsakade sår på stam och frostsprickor.

Diskussion och slutsatser

Man inte med säkerhet fastställa att ett angrepp som uppstår i ett sår som skett hos odlaren inte har sin smittkälla i något av produktionsleden innan leverans då latent smitta kan bryta ut upp till tre år senare vid t.ex. sårbildning (Crowdy 1949; McCracken *et al.* 2003). En tidig detektion innan utlöpanget av inkubationstiden på två månader för FTK (Dubin och English 1974) kan fastställa om smittan skett innan leverans. Hos de nyplanterade träden var 13-33% av träden angripna av FTK. Stamangrepp dominerade för de flesta sorterna och var ofta synliga angrepp som gördlade runt 15% av stammen. Dessa träd bör kunna elimineras utan provtagning innan försäljning från plantskolor. De flesta av dessa stamangrepp var orsakade av frostsador på stam och i vissa fall av mekaniska skador på stam vid framförallt sår från avrivna grenar. De största gördlingsangreppen återfanns på stammar med allvarliga frostsador.

2011.01.31

I projektet utvecklades en detektionsmetod för FTK genom qPCR-analyser som kan påvisa mycket låga nivåer av FTK även i träd utan tydliga sjukdomssymptom. Gränsvärdet 0,3 ddCt är bundet till ett referensprov från försöksodlingen i Alnarps trädgårdslaboratorium. FTK finns i stor utsträckning i kommersiella odlingar. Med dagens känsliga detektionsmetoder kan man uppmäta FTK i de flesta nyplanterade träden. Framtida studier borde fastställa en standardiserad gräns för vad som kan anses vara ett sjukdomsutbrott. Man bör ytterligare uttröna vilka stressfaktorer som spelar in för FTKs utbrott vid olika nivåer av latent FTK i träden som t.ex. sort och kvävenivåer. En tidig detektionsmetod kan i framtiden minska försäljning av infekterade träd och vara ett stöd vid bedömning av smitta. För att detektionsmetoden ska bli generellt tillämpbar krävs utökade och standardiserade provtagningar. Om DNA-koncentrationerna innan amplifiering kvantifierats med en analysmetod baserad på kapillärelektrofores hade en mer precis DNA-kvantitet och kvalitet kunnat bestämmas och en absolut kvantifieringsmetod hade då kunnat användas i analyserna, (Bustin et al 2009). På så vis skulle ett mer generellt tillämpbart sjukdomsindex kunna byggas upp. Nödvändig utrustning fanns dock inte att tillgå förrän i projektets slutskede. qPCR-analysen skulle ytterligare kunna förbättrats genom att kartlägga regioner hos FTK som visar större variation än ITS regionen (Internal Transcribed Spacer) och basera qPCR-analyserna på dem.

Delmål 6. Olika äppelsorters mottaglighet för fruktträdskräfta i odlingar.

Försöksupplägg och graderingsmetod för fältförsöket beskrivs under delmål ett. För sjukdomsgradering per sort användes åtta block. Odlare som deltog hade 2-4 åriga träd helst av sorterna som användes i fältförsöket och gärna att de olika sorterna planterade samma år på gården för att minska variationen. Alla träd i fältförsöket samt 30-50 slumpmässigt valda träd vardera i 20 odlingar 2009 och 12 odlingar 2010 graderades. År 2009 var odlingarna fördelade över sex sorter och 12 gårdar i olika delar av Skåne och Blekinge. År 2010 var odlingarna fördelat över fyra sorter på sammanlagt fem gårdar i olika delar av skåne.

Resultat

Enligt odlarna tillhör Discovery, Elise, Cox Orange och Ingrid Marie de mer mottagliga sorterna medan Aroma och Amorosa nästan alltid omnämns som minst mottagliga. Frida är en relativt ny sort och har därför inte nämnts av många odlare. Många odlare nämnde svagare grundstammar och mer känsliga sorter än tidigare som orsak till stora problem med FTK vilket stämmer med Saure (1963). Samtidigt vill de flesta odlarna ha svagväxande träd med ett förutsägbart och ordnat växtsätt som står tätt och producerar snabbt. Träden blir lättare att beskära och skörda och växtsättet gör att äpplena får mer sol och färg. Täckningsgraden vid bekämpning ökar också. Mer kraft går till äpple än till trädets vegetativa tillväxt. Fyra odlare valde äppelsort efter dess motståndskraft mot FTK medan fyra inte gjorde det utan ansåg att populariteten på marknaden och tidig, hög skörd var de mest avgörande faktorerna. Ekologiska odlare prioriterar också skorvresistenta sorter. Vissa odlare prioriterar hög skörd så tidigt som möjligt framför mer hållbara träd och menar att det är billigare att byta ut dem när de förbrukas än att öka livslängden på dem. Andra odlare prioriterar motståndskraftiga träd och vårdar dessa. Nedan följer tabeller som visar resultatet från graderingarna i odlarnas kommersiella odlingar år 2009-2010 samt i trädgårdslaboratoriets försöksodling år 2008-2010.

Tabell 4. Medelvärde av antalet olika lokaliseringar av fruktträdskräftaangrepp i 23 äldre odlingar med 2-4 åriga träd graderade från 2009 till 2010.

2011.01.31

Sort	a1	a3	b	d	e	a	j	x	N
Amorosa	0,041	0,021	0,008	0,004	0,012	0,045	0,017	0,016	8
Discovery	0,060	0,021	0,028	0,004	0,175	0,130	0,224	0,007	2
Elise	0,011	0,000	0,036	0,005	0,032	0,042	0,069	0,000	4
Frida	0,033	0,004	0,009	0,002	0,009	0,009	0,007	0,002	9
Totalt	0,144	0,047	0,081	0,015	0,228	0,225	0,316	0,025	23

a1) adventivrötter på grundstam a3) grundstam ej vid adventivrötter b) 1a förädlingsstället d) andra förädlingsstället e) stam f) grenar och kortskott j) grenstubbe x) dött träd N) antal odlingar. Statistisk analys kan ej göras på grund av för få angrepp per odlare och sort.

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

Formaterat: Teckenfärg: Auto

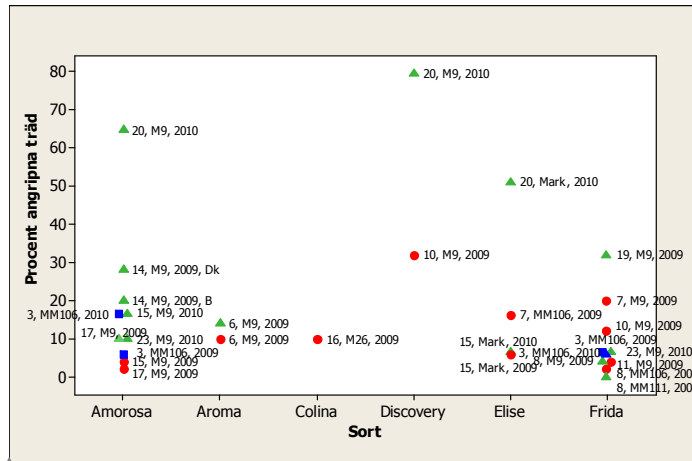
Formaterat: Teckenfärg: Auto

Tabell 5. Procent angripna träd samt procent träd med stamangrepp och grenangrepp i fältförsök under år 2008 och 2009¹. År 2010² inkluderar även kvoten stam- och grenangrepp per träd.

Sort	2008		Februari 2009			Maj 2009			Juli 2009	
	gren	stam	Gren	ang. träd	stam	gren	ang. träd	stam	gren	ang. träd
Discovery	32% a	6% a	31% a	35% a	20% a	10% a	24% a	30% ab	11% a	38% ab
Amorosa	2% b	3% a	9% b	10% b	19% a	0%	19% ab	44% a	3% a	48% a
Elise	0%	0%	7% b	7% b	11% a	2% b	11% b	15% b	7% a	20% b
Tot	17%	4%	20%	22%	18%	5%	20%	32%	8%	38%

Sort	Mars 2010				Oktober 2010					
	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd	träd med stamang. grenang. ang. träd		
Discovery	42% a	0,59	50% a	1,09	73% a	55% a	0,77	41% a	0,71	79% a
Amoros	44% a	0,53	64% a	0,97	87% ab	48% ab	0,55	22% a	0,28	65% ab
Elise	17% b	0,22	46% b	3,46	96% b	30% b	0,37	28% a	0,41	50% b
Totalt	38%	0,51	62%	1,45	80%	49%	0,63	33%	0,52	70%

1. Analyserat med logistisk regression med faktorerna block och sort alternativt chi-square test med variablerna sort och angrepp. P-värde 0,01. Värden med olika bokstäver i lodrät riktning skiljer sig signifikant från varandra. p=0.05
 2. Alla värden från 2010 har analyserats med Anova med faktorerna block och sort. p=0.05



Ändrad fältkod

Diagram 1. Procent angripna träd per odling fördelat på sorter. Röd cirkel = 2 årigt träd, grön trekant = 3 årigt träd, blå fyrkant = 4 årigt träd. Varje odling är markerade med nr kod för odlaren, grundstam och vilket år den graderades (2009 eller 2010).

2011.01.31

Diskussion och slutsatser

Angreppen ökar över åren och en markant ökning märks våren 2010 som kan ha berott på den mycket kalla vintern och ojämna våren. Grenangreppen minskar varje år efter beskärning men ökar sedan. Förutom Discoverys initialt mycket höga antal grenangripna träd så har det inte varit någon stor skillnad mellan sorterna. Då en gård i projektet med samma leverans av Discovery också fick stora angrepp samt att angreppen noterats innan inkubationstidens slut antas smittan ha följt med träden vid leverans. Efter ett år hade Discovery grenangrepp kontrollerats och sänkts till samma nivå som Amorosa och Elise strax under. Amorosas grenangrepp ökade mer än övriga sorters under säsongen 2010 vilket kan vara ett tecken på känslighet för frostsador.

Stamangreppen ökar stadigt från att ha varit 0-6% vid plantering till 50-75% av träden i oktober 2010. Elise har alltid lägst antal stamangripna träd medan det varierar om Amorosa eller Discovery skiljer sig signifikant från Elise. I Oktober 2010 hade Elise (30%) signifikant lika många träd med stamangrepp som Amorosa (48%) medan Discovery låg något högre (55%). Det höga antalet angripna träd i Discovery stämmer överrens med odlarnas erfarenheter och graderingarna i deras odlingar. Amorosa däremot anses vara en motståndskraftig sort vilket bekräftats av graderingar. Möjligen har de lokala betingelserna haft en större inverkan på Amorosa. Discovery och Amorosa hade hälften eller fler träd med gördlingsangrepp medan Elise haft betydligt färre. Hos Elise angrips en mindre del av stamomkretsen speciellt jämfört med Amorosa som tidigt hade många angrepp som gördlade stammen helt. Då Elise brukar ses som en känslig sort kan möjligen lägre smitta vid leverans eller den mer starkväxande grundstammen, Mark₂ delvis förklara de mindre omfattande angreppen i försöksodlingen. Angrepp i grenverket dominerar hos äldre träd och en stor del av dessa sker i sårytan efter beskärning. Även angrepp vid adventivrötterna är vanligt. Ansträngningar bör göras för att dessa sår infekteras. Det går dock inte att konstatera om angreppen härstammar från omgivningen eller latent smitta i träden.

FTK angreppen på Alnarps försöksodling varit relativt höga jämfört med gårdarna som ingår i studien. Framsta anledningen är att man inte har skurit bort stamangrepp eftersom de studerats. Den höga halten av ler och näring, samt temporär torka under 2009 och det höga smittotrycket vid leverans kan även ha bidragit.

Inventering av FTK i kommersiella odlingar visade att de flesta Frida odlingarna hade under 10% angripna träd. För Amorosa låg de flesta strax över 10% medan övriga sorter låg på den nivån eller högre men var för få för att ge en rättvis bild. Det finns ett tydligt intresse bland odlarna för sorter som är motståndskraftiga mot FTK men toleransen för hur starkväxande de får vara varierar. Det finns även odlare som alltid prioriterar sorter med den tidigaste och högsta skörden och är mest populära på marknaden även om de är mycket mottagliga för FTK som t.ex. Elise. I ekologisk odling bör träden också vara skovresistenta. Antalet odlingar är relativt lågt för en multivariat jämförelse eftersom antalet äppelodlare som planterat samma äppelsorter under samma år är få vilket har begär ränsat möjligheten till att få signifikanta resultat

Delmål 7. Produktionsmetoders relation till utveckling av *N.galligena*.

Syftet var att studera FTKs utveckling i de varierande miljöer som förekommer i praktiken samt att med hjälp av den breda och varierande erfarenheten och kunskapen hos odlare hitta samband mellan gårdsförutsättningar, odlingspraxis och utvecklingen av FTK. Semistrukturerade utforskande samtal på 1-3 timmar med 14 odlare kompletterades av skriftlig dokumentation av gödsling, bekämpning, jordprover. Informationen från odlarna ska i de flesta fallen ses som enskilda uttalanden och inte som statistik även om vissa påståenden är relativt vanliga.

Kvalitativa mått på jordens fukthållande förmåga och bekämpningsintensitet korrelerades mot

2011.01.31

procent angrepp och gördling. Graden av bekämpningsintensitet gavs av antalet utförda FTK bekämpningar. Måttet på jordens vattenhållande förmåga sattes efter odlarnas bedömning av infiltrationshastighet, skorpbildning och hur lätt jorden var att bearbeta. (Bjuréus och Bjuréus, 2008). Dessa faktorer antogs ha en minskande grad av påverkan på vattenhållande förmåga.

Resultat

Av de 14 intervjuade odlarna nämnde nio FTK som ett stort problem medan fyra ansåg att det vara ett mindre problem. Problemet anses ha vuxit p.g.a; färre bekämpningsmedel, smittade träd från plantskolor, varmare och fuktigare odlingssäsonger och fler frostsador under vintern. Några odlare nämnde att träd som stressas och drivs hårt har sämre motståndskraft mot FTK. Stressmoment som nämnts är att de drivs till att producera höga skördar redan andra året efter plantering, att de kylförvaras och transporteras långa sträckor, att man bladgödslar mycket och överdriver bevattningen. Några odlare nämner att frostsador är vanligare nu än 30-40 år sen kanske p.g.a. att träden produceras i Holland och Belgien där de inte blir tillräckligt hårdiga.

Nio odlare som inte producerar ekologiskt applicerar preventiv kemisk bekämpning vid specifika utvecklingsstadier under vår, sommar och höst enligt tillstånd från jordbruksverket men nämner att även koppar som används som näringstillskott har en effekt mot svamp. Tre odlare använder inte preventiv bekämpning varav två var ekologiska. Pearson korrelationstest visade dock att det i 29 odlingar på 13 gårdar inte fanns något direkt samband mellan bekämpningsintensitet och antal angripna träd ($r=0,102$, $p=0,637$). Det fanns heller inget signifikant samband mellan olika nivåer av vattenhållande förmåga och antal angripna träd ($r=0,288$, $p=0,172$).

Tretton odlare skär bort stamangrepp och tio applicerar sårpasta samt beskär medvetet angripna grenar. Fyra odlare nämnde att de kasserar träd så fort de upptäcker stamangrepp. Tre odlare använde sig av olika pastor som smörjdes på fruktträdskräftautsatta platser på träden som förädlingsställena och luftrötterna. Två odlare grävde ned grundstammarna i jorden. Fyra odlare kasserar träd med stamangrepp under de första 1-3 åren medan de kurerar angreppen på äldre träd. Tre odlare låter de angripna träden stå utan åtgärd tills de ger för låg skörd. Enstaka odlare applicerar kemisk bekämpning vid plantering.

Större avstånd mellan träden för att minska fukt användes av tre odlare varav två var ekologiska. Fyra odlare nämnde att de rengör eller byter redskap antingen när de kasserar träd eller vid beskärning mellan olika sorter och gamla och nya odlingar. Andra förebyggande åtgärder som nämnts är att plantera träden på upphöjda bäddar för att öka dräneringen, odla starka gräsbanor för att öka mullhalten för förbättrad markstruktur, inte driva träden för hårt i början, att få en stark tillväxt på träden från början och att eliminera sorkar som skadar träden.

Diskussion och slutsatser

Odlarna anser att FTK har vuxit till ett mycket allvarligt problem och förändrade produktionsförutsättningar nämns som anledning. Produktionsmetoder som påverkar FTK varierar starkt hos odlarna. Latorre et al. (2002) visade att jordens fukthållande förmåga och bekämpningsintensitet kan påverka utvecklingen av FTK. Dessa faktorer har inte visat sig vara utmärkande nog för att överskugga variationen i angrepp som uppstår på grund av andra faktorer på gårdarna i den här studien.

Publikationer och övrig resultatförmedling.

Årlig (3st) worksshop kring aktuell äppelforskning för odlare, näringsliv och forskare.
SLUs hemsida - sökord fruktträdskräfta.

2011.01.31

Swiergiel, Weronika and Svedelius, Guy and Rämert, Birgitta Frukträdskräfta LTJ-fakultetens Faktablad 2010:2.

Erkännande

Projektet har finansierats av SLF. Stort tack till Jan-Eric Englund för statistisk bearbetning och Anna Holefors för stöd till realtidsPCR analys och Henrik Stridh för hjälp med beskärning och praktiska odlingsråd och Professor Birgitta Rämert för värdefullt vetenskapligt stöd för projektets genomförande.

Litteraturförteckning

- Berglund K. och Gustafson Bjuréus A., 2008. Markstrukturtest i fält. Beskrivning och instruktioner. SLU-Institutionen för markvetenskap. Rapport 8. Uppsala.
- Bustin et al. 2009. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments *Clinical chemistry* 55:4:611-622.
- Crowdy, S.H. (1949). Observations on apple canker. III. The anatomy of the stem canker. *Ann. Appl. Biol.* Vol. 36 No. 4. 483-495.
- Crowdy S.H., 1952. Observations on Apple Canker IV. The Infection on Leaf Scars. *Ann. Appl. Biol.* 39(4):569-580.
- Dewey, F.M., Li, R. and Swinburne, T.R. (1995). A monoclonal antibody immunoassay for the detection of *Nectria galligena* in apple fruit and woody tissues. *Bulletin OEPP* 25(1-2):65-73
- Dubin H.J. och English H., 1974. Factors affecting apple leaf scar infections by *Nectria galligena* conidia. *Phytopathology* 64:1201-1203.
- Langrell, S.R.H., 2000. Molecular phylogeny, detection and epidemiology of *Nectria galligena* Bres. the incitant of *Nectria* canker on apple. PhD. thesis, University of London. pp. 204.
- Flack, N.J. and Swinburne, T.R. (1977). Host range of *Nectria galligena* Bres. and the pathogenicity of some Northern Ireland isolates. *Trans.Brit.Mycol.Soc* 68(2): 185-192.
- Latorre B.A., Rioja M.E. och Muñoz M., 2002. The effect of temperature and wetness duration on infection and warning system for European Canker (*Nectria galligena*) of apple in Chile. *Crop Protection* p. 285-291.
- Lolas, C.M. 2009. Unpublished PhD Thesis on *Nectria* cancer in apples.
- Mantiri, F. R., Samuels, G. J., Rahe, J. E. and Barry M. H., 2001. Phylogenetic relationships in *Neonectria* species having *Cylindrocarpon* anamorphs inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences *Can. J. Bot.* 79(3):334-340
- McCracken, A.R., Berrie, A., Barbara, D.J., Locke, T., Cooke, L.R., Phelps, Swinburne, T.R., Brown, A.E., Ellerker, B. and Langrell, S.R.H. (2003). Relative significance of nursery infections and orchard inoculum in the development and spread of apple canker (*Nectria galligena*) in young orchards.
- Nii, N. (1998). Seasonal changes in the nacreous walls of sieve elements in the petioles of peach and apple leaves. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Meijo University.* 34:13-24.
- Pfaffl M.W. (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, May 1, 29(9):E45.
- Plant Pathology (2003) 52, 553-566.
- Jordbruksverket, Marknadsöversikt, - färsk frukt och grönsaker Rapport 2007:1A
- Rossmann, A.Y., Samuels, G.J., Rogerson, C.T. and Lowen, R. (1999). Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). *Studies in Mycology.* 42: 1-248. ISBN 90-70351-38-2
- Van der Scheer, H.A. Th. 1979. Nitrogen Fertilization and apple canker on 'Winston' apple trees. *Med.Fac. Landbouww.Rijksuniv. Gent.* 44/1.
- Von Saure, M. 1963. Der Einfluss von Wuchshemmung und Wuchsförderung auf die Krebsanfälligkeit von Apfelbäumen. *Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes e V. und des Arbeitsgemeinschaft Baumschulen.* p54-58.
- Holefors, A. 2010. muntlig information. Inst. LTJ, SLU, Alnarp.
- Martinsson, M. 2008. Muntlig information. Yara