

The background of the slide is a dense field of microscopic spores, likely Neonectria, which are elongated, rod-shaped structures with a distinct internal structure, appearing in shades of yellow and green against a dark background.

Bekæmpelse af *Neonectria* ædelgrankræft på nordmannsgran

Temadag om *Neonectria* og certificering
19. Januar 2015

Klaus Paaske & Magnus Gammelgaard
Institut for Agroøkologi
Aarhus Universitet Flakkebjerg



Disposition



Baggrund



Forsøg for Danske Planteskoler

- forebyggelse/bekæmpelse af angreb på frøplanter



Forsøg for Danske Juletræer

- forebyggelse/bekæmpelse af angreb på pottegroede træer under semi-field forhold



Resultater







Konklusioner



Forslag til videre arbejde








Baggrund for forsøgene

-  Ingen godkendte midler mod *Neonectria* ædelgrankræft
-  *Neonectria neomacrospora* er nært beslægtet med *Neonectria ditissima* (tidlige *Nectria galligena*) der forårsager frugttræskræft
 - Derfor forventning om, at viden om bekæmpelse af denne kan overføres til ædelgrankræft
-  Kendte midler mod frugttræskræft
 - Kviksølv
 - Kobber
 - Benzimidazoler (Derosal, Benlate, Topsin)
 - Captan (Merpan 80 WG)
-  Anvendes ikke men angives at have virkning mod frugttræskræft
 - Forebyggende: dithianon og dodine
 - Virkning på mycelievækst og sporulering: triazoler



Udfordringer ...

-  Uvist om frøsmitte overføres til kimplanter
-  Uvist om kunstig smitte er muligt
-  Hvordan ser symptomer på kimplanter ud?
-  Hvornår lang er inkubationstiden?
-  Hvad/hvordan/hvornår ...

Forsøg med frø og kimplanter

Forsøg udført for Danske Planteskoler

Faktor A, tidspunkter:

- Sprøjtning af frø med **naturlig** smitte før dækning med sand (*forsøg 1*)
- **Kunstig infektion** af frø og efterfølgende sprøjtning før dækning med sand (*forsøg 2*)
- Forebyggende sprøjtning af kimplanter **før** kunstig smitte med ædelgrankræft (*forsøg 3*)
- Kurativ sprøjtning af kimplanter **efter** kunstig smitte med ædelgrankræft (*forsøg 4*)



Forsøg med frø og kimplanter

Forsøgsplan

Faktor B, midler

1. Ubehandlet		
2. Merpan 80 WG	2,25 kg	captan
3. Folpan SC	1,5 l	folpet
4. Topsin WG	1,2 kg	thiophanatmethyl
5. Nordox 75 WG	3,0 kg	kobberoxid
6. Dithane NT	2,5 kg	mancozeb
7. Delan WG	0,5 kg	dithianon
8. Bumper	0,5 l	propiconzol
9. Proline	0,8 l	prothioconazol
10. Signum WG	1,5 kg	boscalid + pyraclostrobin
11. Switch 62,5 WG	1,0 kg	difenconazol + fludioxonil
12. Prosaro	1,0 l	prothioconazol + tebuconazol



Forsøg med frø og kimplanter

Metodik

- Udført i væksthuis
- Stratificeret frø sået i bakker, dækket med ½ cm sand
- Parcelstørrelse: 104 frø med 3 gentagelser
- Placeret på borde med undervanding
- Temperatur ca. 15 °C og 80 % RH
- Kunstig smitte med sporer, opformeret på kultur af *Neonectria neomacrospora*, fra Wenche Talgø, Bioforsk
- Sprøjtning udført i sprøjtekabine med sprøjtebom



Frøet

- Der blev anvendt 2 forskellige frøpartier til forsøget
- Parti 1, anvendt til forsøg 1 og 2:
 - Silkeborg Nordskov, 56% inficeret med *Neonectria*
 - Spireevne i test: 63% på 10 dage ved 15 °C
 - Efter forsøgets start blev det oplyst, at de 56% infektion var konstateret før nedtørring af frøet, efter nedtørring kunne der kun konstateres *Neonectria* på 2%
- Parti 2, anvendt til forsøg 3 og 4:
 - 3539 Ambrolauri Tlugi afd. 12, sundt frø
 - Spireevne i test: 58 % på 10 dage ved 15 °C



Forsøget

24. – 27. marts: Såning af frø

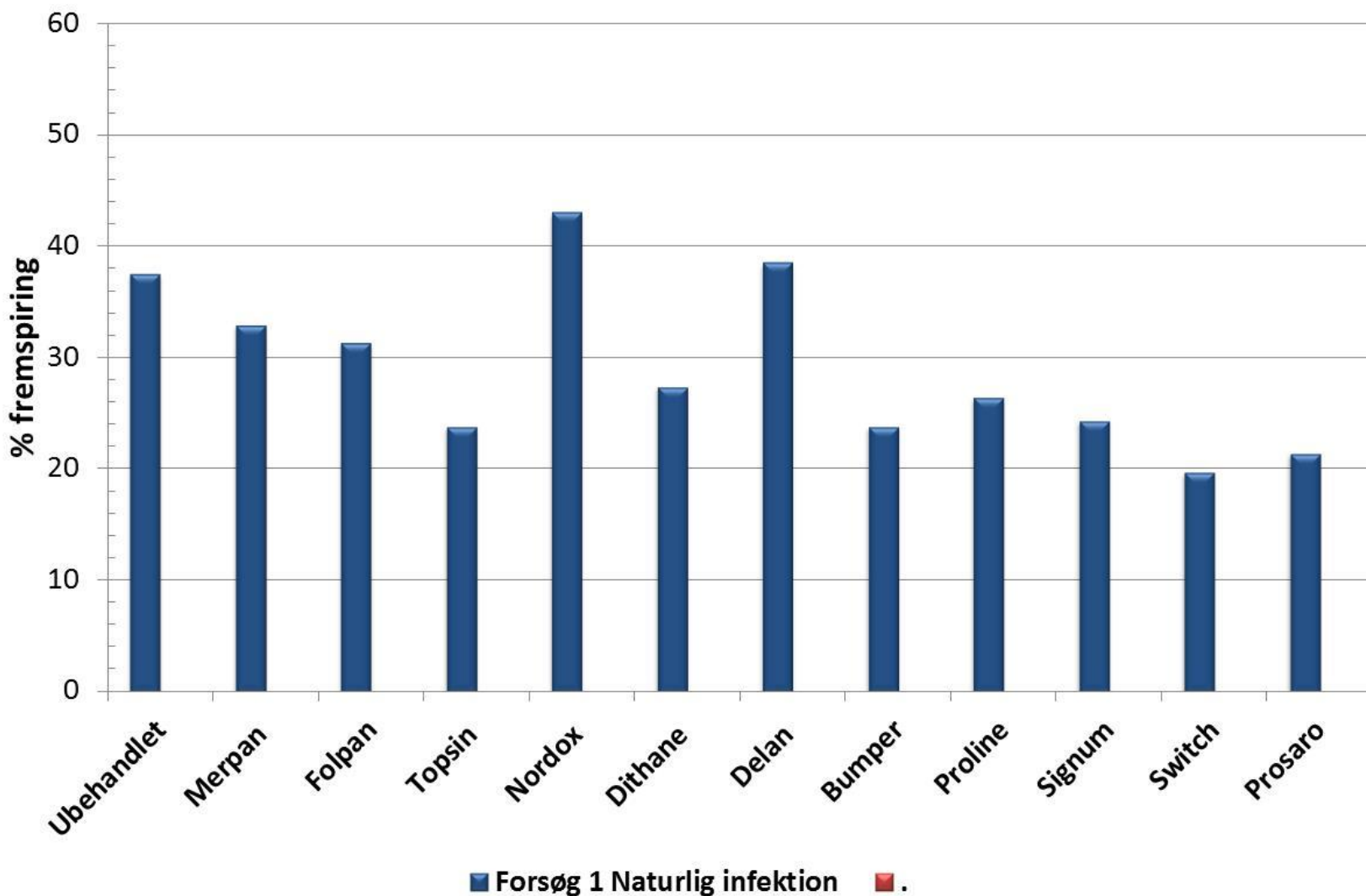
- Forsøg 1 sået og sprøjtet før dækning med sand
- Forsøg 2, frøet inficeret med sporeopløsning **før** såning, 3×10^5 sporer/ml, herefter sprøjtet før dækning med sand
- Forsøg 3 og 4 sået uden behandlinger





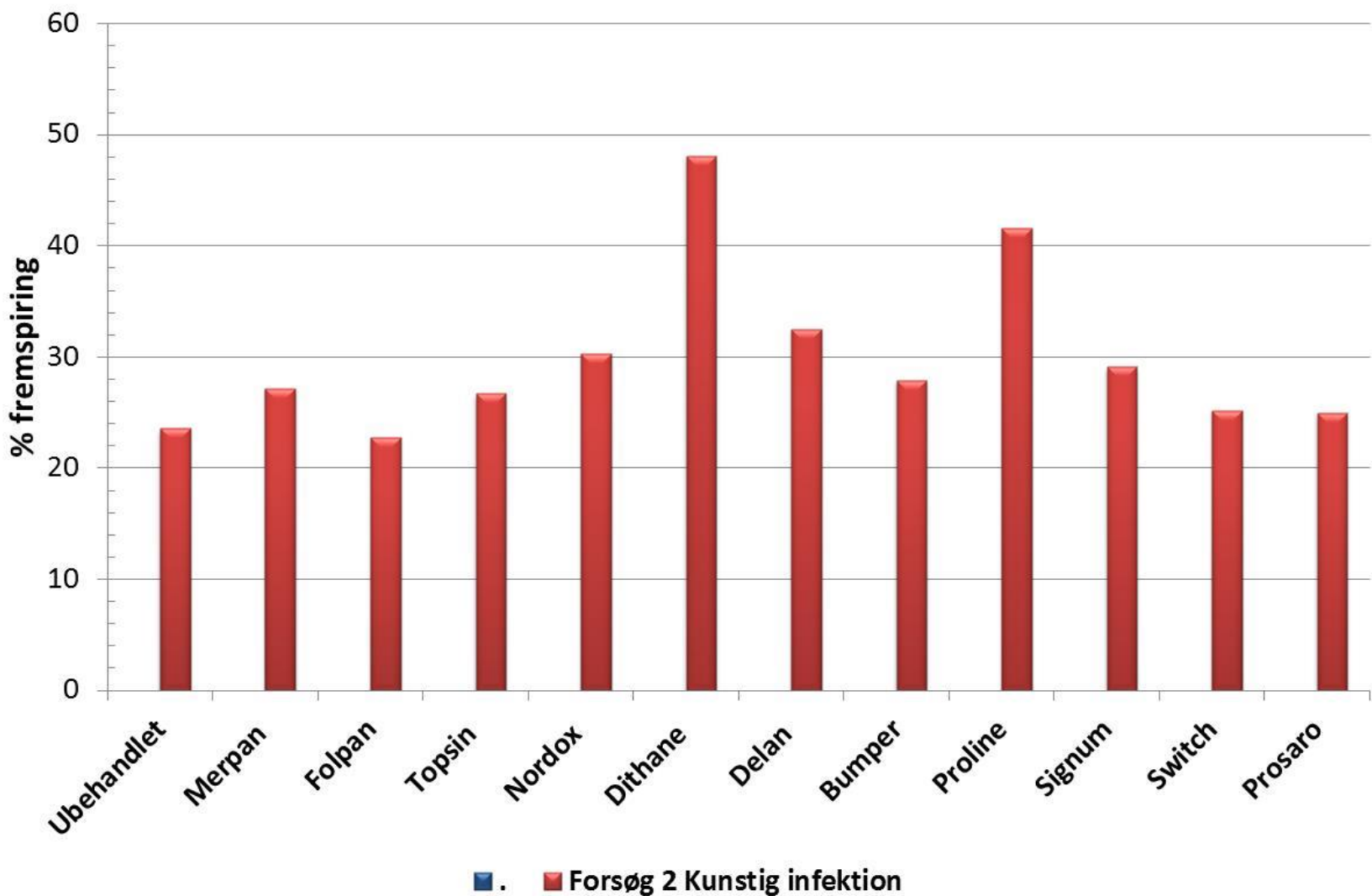
Forsøg 1 - Naturlig smitte

% fremspirede planter – 41 dage efter såning



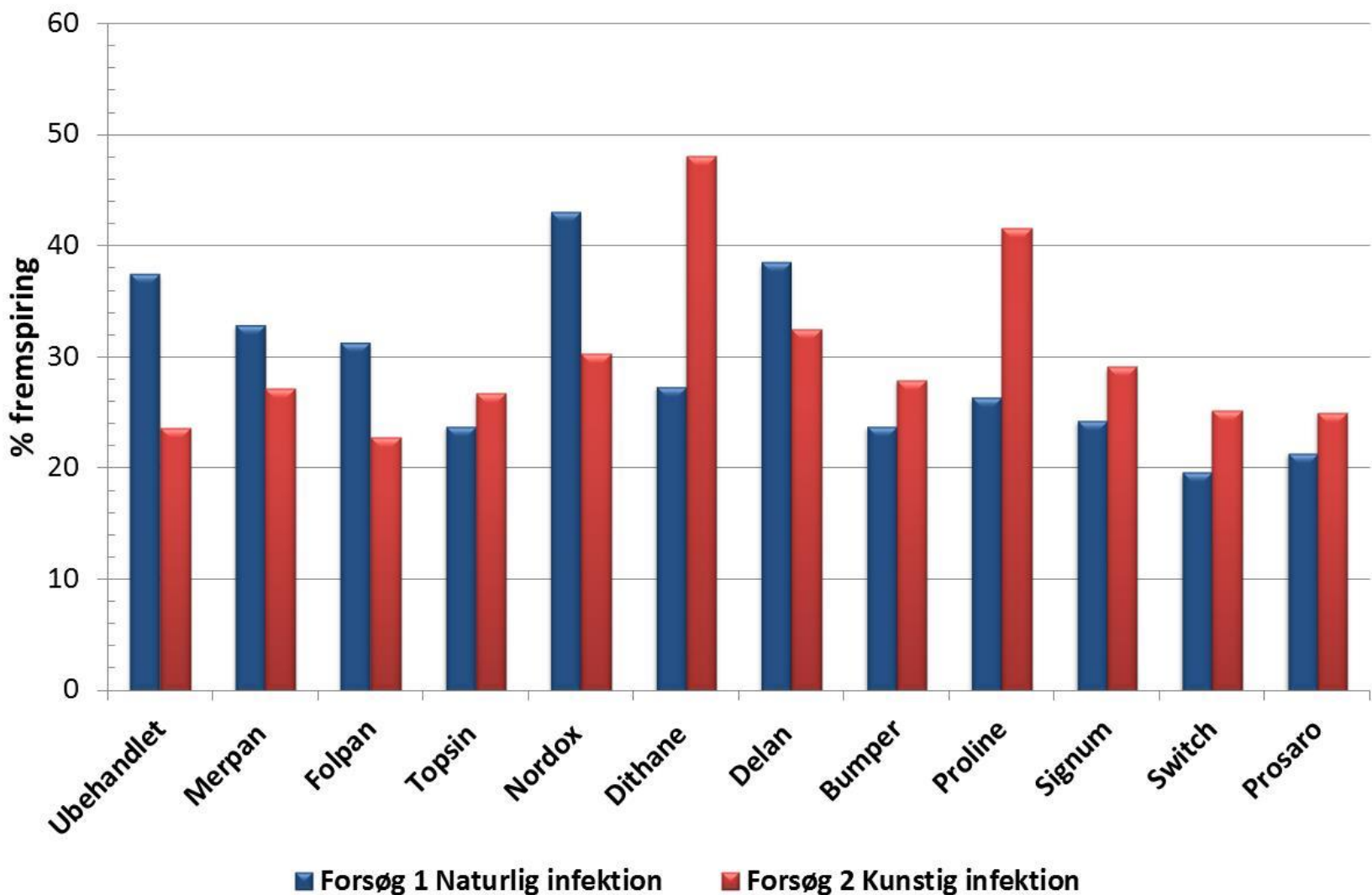
Forsøg 2 - Kunstig smitte

% fremspirede planter – 41 dage efter såning



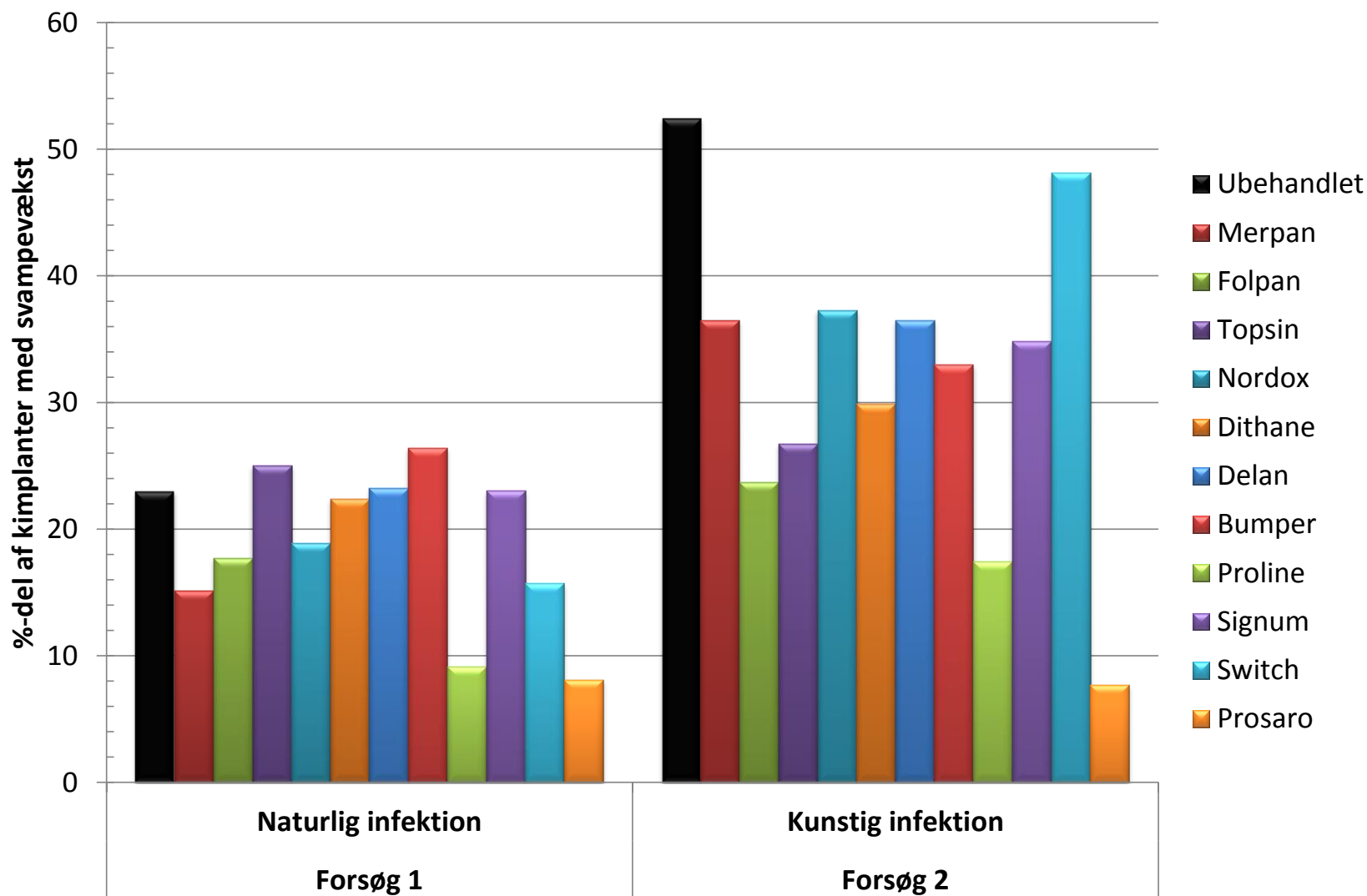
Forsøg 1 og 2

% fremspirede planter – 41 dage efter såning



Forsøg 1 og 2

%-del af de fremspirede planter med angreb af svampe





**3 prøver fra hver parcel
udtaget og dyrket på agar**

Led 1 Ubehandlet

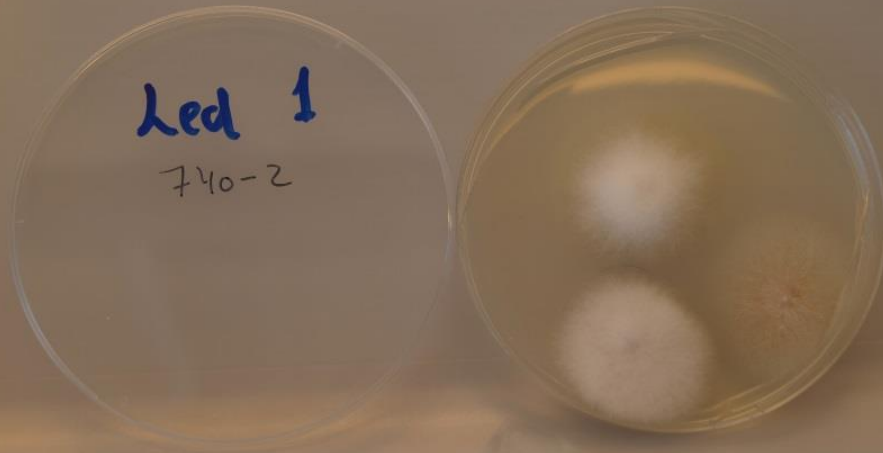


Led 12 Prosaro



Led 1

740-2



Led 12.

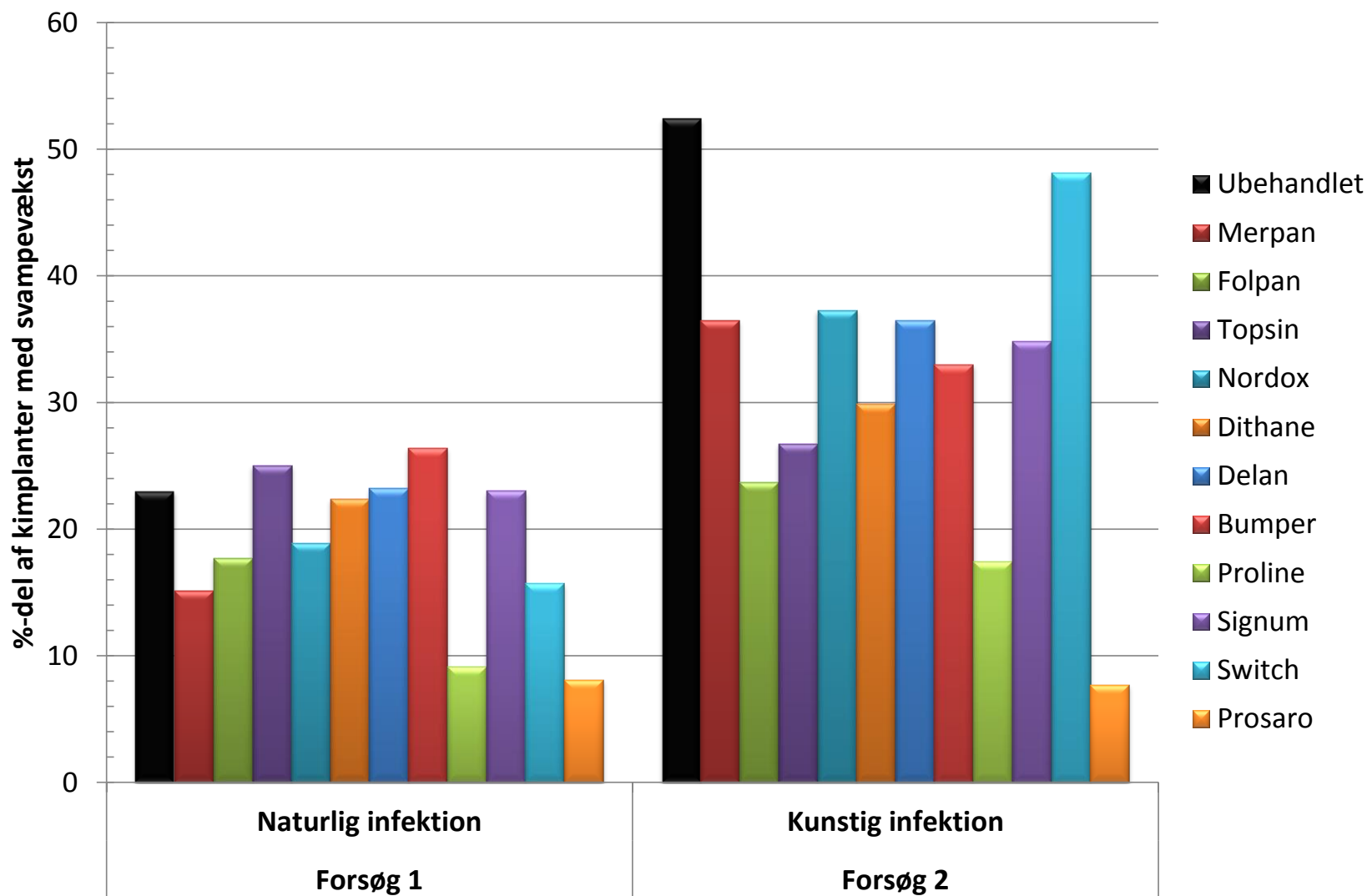
740-2



Identifikation af svampene var ikke muligt

Forsøg 1 og 2

%-del af de fremspirede planter med angreb af svampe





Forsøg 3 og 4

% fremspirede planter – 40 dage efter såning



Forsøg 3

- Gennemsnit alle led 36,8 %
- Variation 30,8 – 44,2 %



Forsøg 4

- Gennemsnit alle led 36,9 %
- Variation 27,9 – 53,1 %



Mange kimplanter døde efterfølgende



Derfor blev det vurderet, at plantematerialet var for uensartet og dårligt til, at forsøg 3 og 4 kunne gennemføres efter planen



Spørgsmål efter forsøgene



Hvorfor fik vi så dårlig fremspiring, især i forsøg 3 og 4?

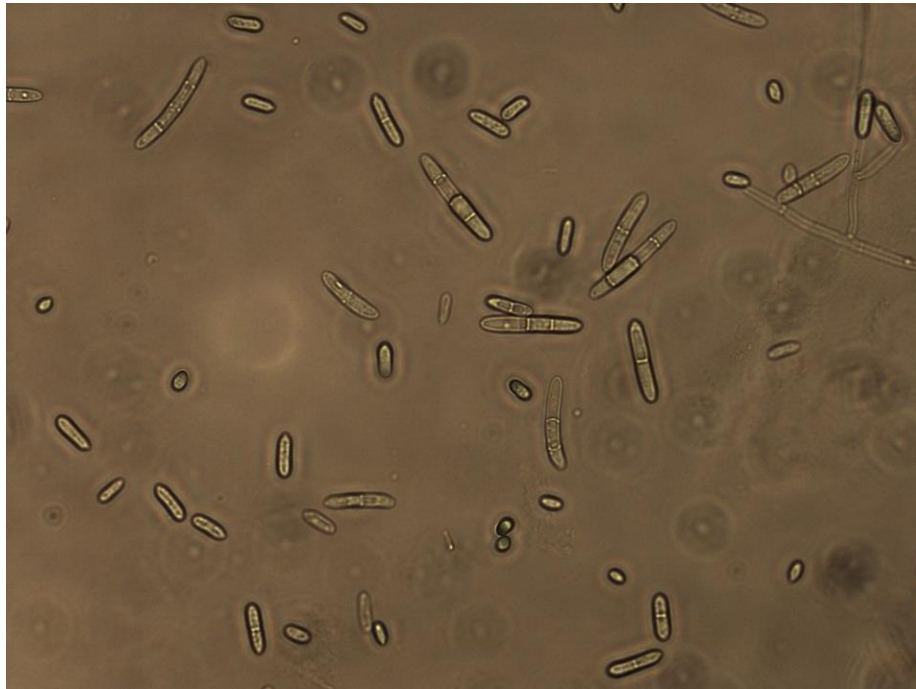
- Temperatur, luftfugtighed , vanding mv. justeret efter konferering med bl.a. Bent Leonhard



Var de anvendte sporer ikke spiredygtige og patogene?

- Spiring kontrolleret ved dyrkning i næringsopløsning
- Inokulation af skudstykker med sporeopløsning

Undersøgelse af spireevne det anvendte isolat



Ved start – ikke-spirede sporer



Efter 1 døgn, spiret spore

Undersøgelse af patogenitet



Overfladedesinficeret og dyppet
i sporeopløsning



Efter 7 dage mycelievækst i
sårring

Infektions test på kimplanter



Top k



inficeret med angreb



Sprøjtet med Merpan
før infektion – intet angreb



Hvad gjorde vi så?



Gentagelse af forsøg 3 og 4 i modificeret form



I stedet for kimplanter blev der anvendt 2/0 planter



Sårring og kunstig infektion med sporeopløsning

- a) forebyggende sprøjtning 1 dag før infektion

- b) kurativ sprøjtning 1 dag efter infektion



Forsøg 1 – kuvøseforsøg

- Optimering af alle forhold for svampen

- Infektion direkte i såret

- Efterfølgende 100% luftfugtighed og konstant temperatur ca. 20°C



Forsøg 2 – ”normalt” væksthushorsøg

- Høj luftfugtighed vha. befugtningsanlæg

- Infektion ved udsprøjtning af sporer over planterne

Kuvøseforsøget

- Planter** 2/0 i 1 l potte, 16 planter pr. behandling
- Kuvøse** Bakke med fugtig vattex i bunden, plante og bakke, overbruset, overtrukket med klar plasticsæk og placeret ved 20 °C
- Dag 1** Såring af alle planter ved afklipping af top
Præventive sprøjtninger udført
- Dag 2** Begge forsøg smittet med pipette ved at placere en dråbe med sporer direkte i såret
- Dag 3** Kurative sprøjtninger udført
- Dag 8** Opgørelse af antal planter med angreb





Ikke inficeret kontrol



Inficeret + infektion

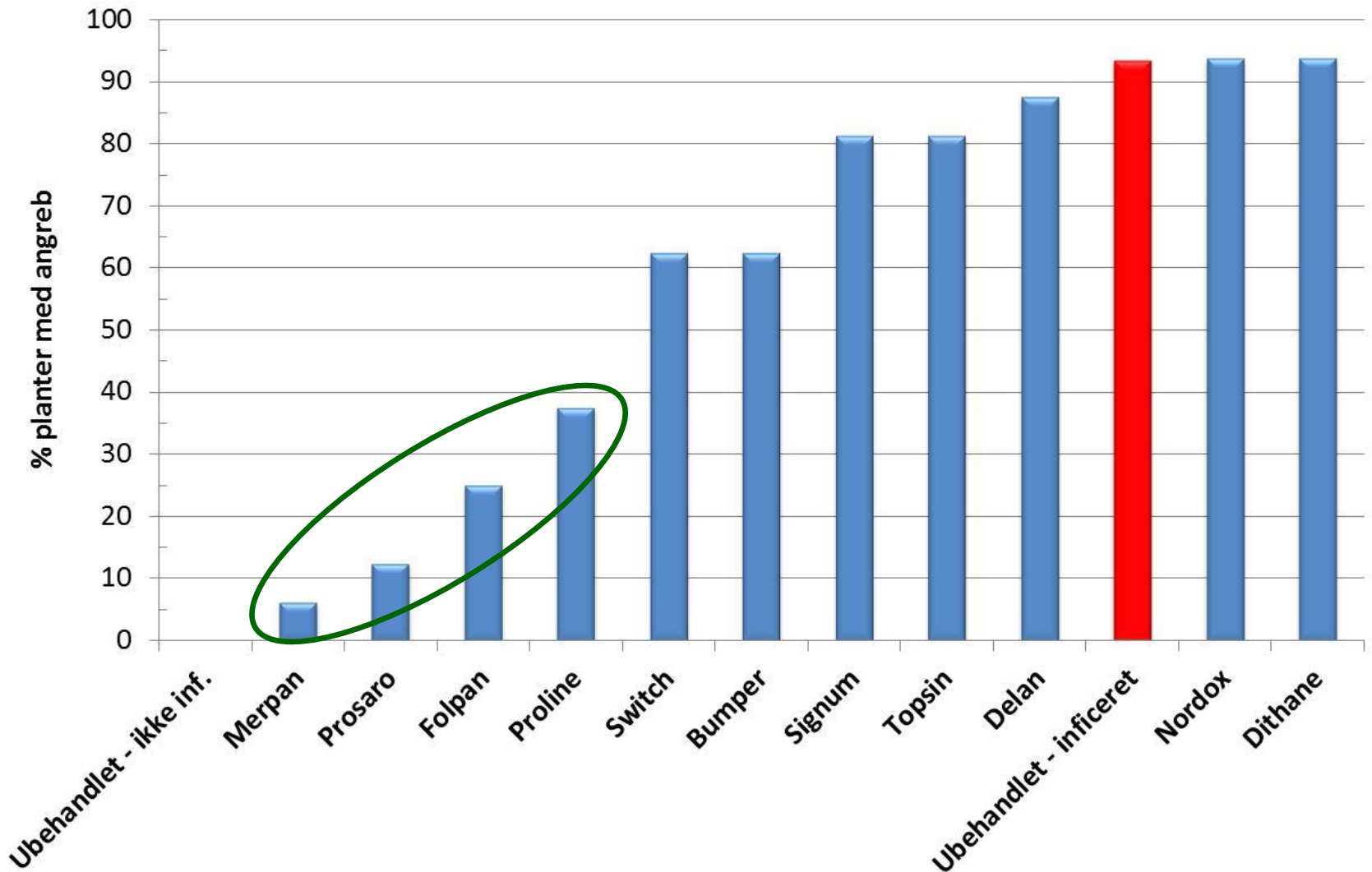


Inficeret + infektion



Kuvøseforsøget – forebyggende sprøjtning

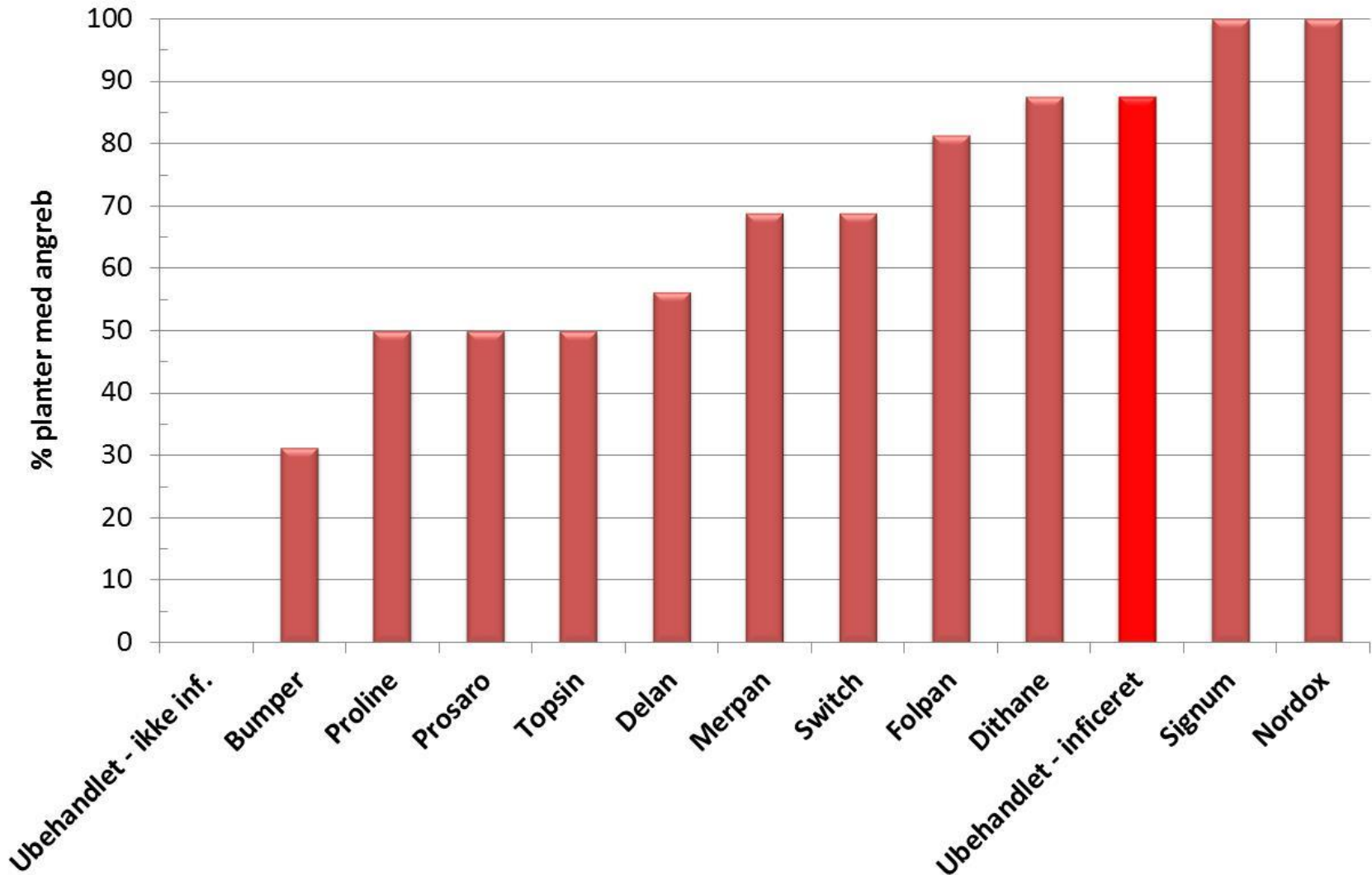
% planter med angreb – 6 dage efter smitte





Kuvøseforsøget – kurativ sprøjtning

% planter med angreb – 6 dage efter smitte



Dødt væv med sporepuder





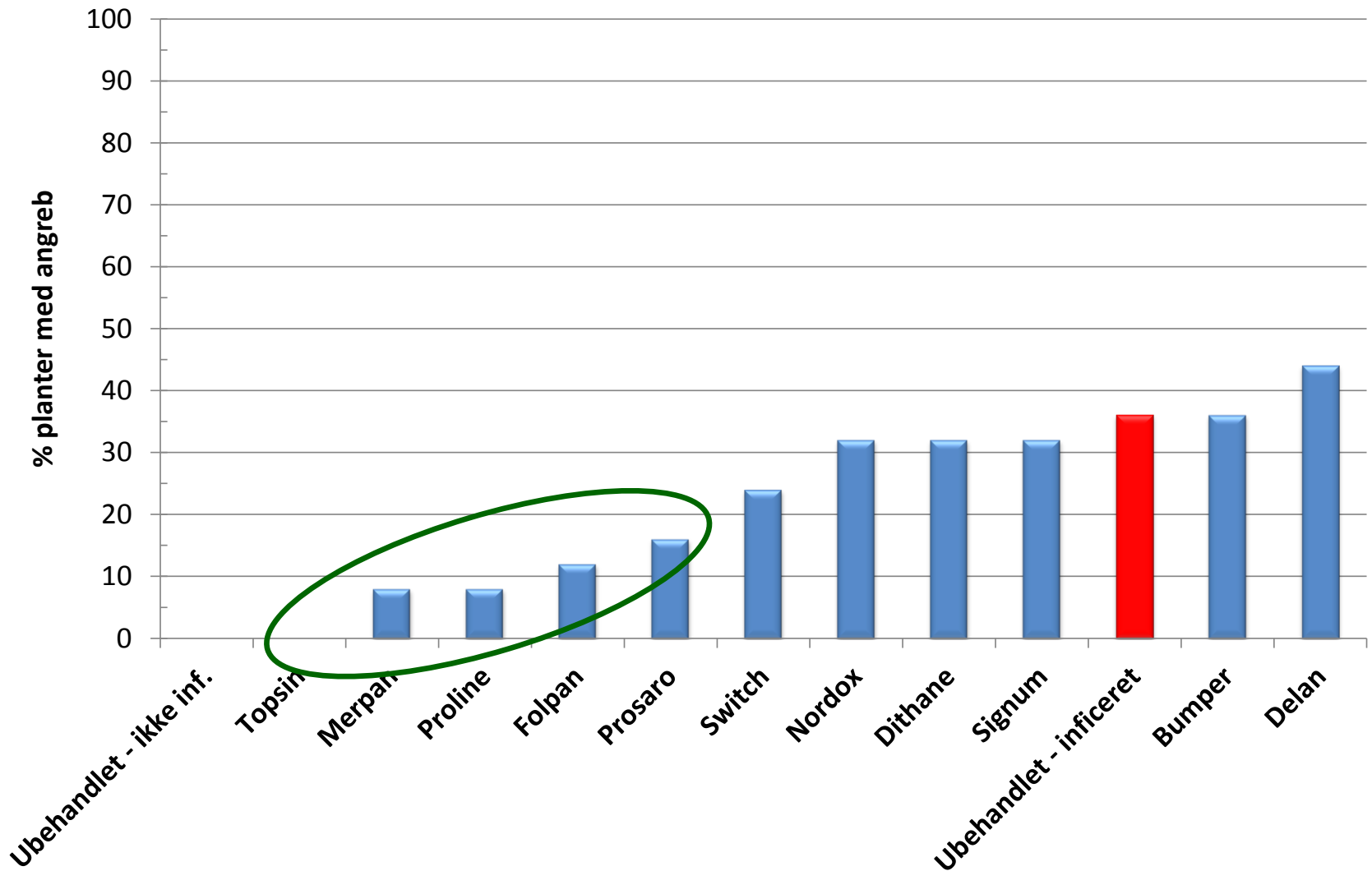
Væksthusforsøget

- Planter** 2/0 i 1 l potte, 25 planter pr. behandling
- Klima** 18°C og 95% vha. befugtningsanlæg første 18 dage, herefter 75%, dog 2 timer/døgn med 95%
- 29/9** Sårring af alle planter ved afklipping af top
Forebyggende sprøjtninger udført
- 30/9** Begge forsøg smittet med ved udsprøjtning af sporeopløsning over toppen af planterne
Led 1 – ubehandlet ikke-inficeret fjernet fra rummet
- 1/10** Kurative sprøjtninger udført
- 3/11** Begyndende angreb konstateres
- 27/11** Opgørelse af antal planter med angreb



Væksthusforsøget – forebyggende sprøjtning

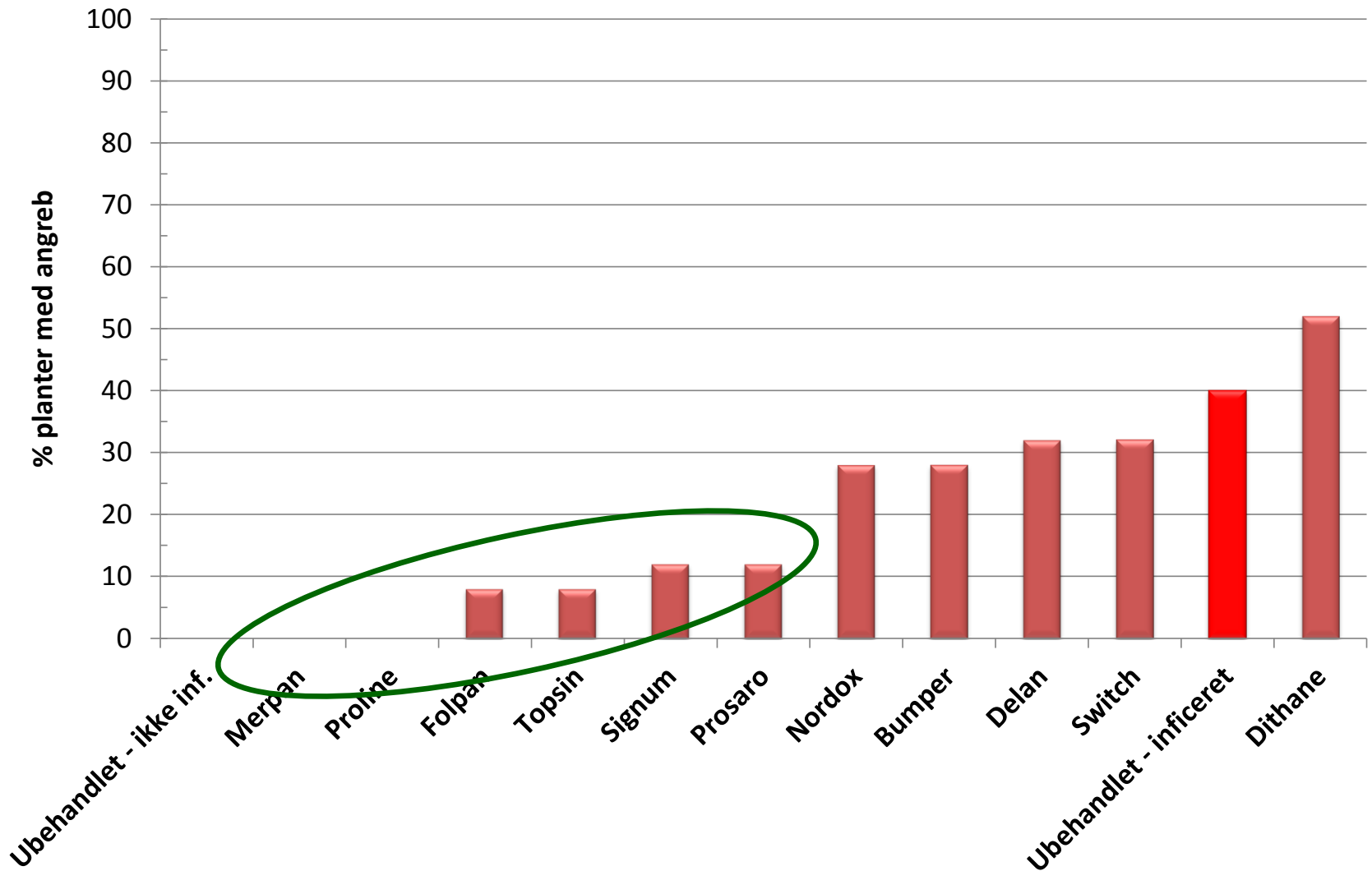
% planter med angreb – 58 dage efter smitte





Væksthusforsøget – kurativ sprøjtning

% planter med angreb – 58 dage efter smitte



Væksthusforsøget – 58 dage efter infektion



Inficeret ÷ angreb



Inficeret ÷ angreb



Inficeret + angreb



Inficeret + angreb



Forsøg med pottegroede træer

Forsøg udført for Danske Juletræer



Faktor A, tidspunkter:

- **1:** Sprøjtning 3 dage **før** infektion
- **2:** Sprøjtning 1 dag **efter** infektion
- **3:** Sprøjtning 3 dage **efter** infektion
- **4:** Sprøjtning 8 dage **efter** infektion





Forsøg med pottegroede træer

Forsøgsplan



Faktor B, midler

1. Ubehandlet - **ikke** inficeret
2. Ubehandlet - inficeret
3. Merpan 80 WG 2,25 kg captan
4. Folpan SC 1,5 l folpet
5. Topsin WG 1,2 kg thiophanatmethyl
6. Nordox 75 WG 3,0 kg kobber
7. Dithane NT 2,5 kg mancozeb
8. Delan WG 0,5 kg dithianon
9. Bumper 0,5 l propiconzol
10. Proline 0,8 l prothioconazol
11. Signum WG 1,5 kg boscalid + pyraclostrobin
12. Switch 62,5 WG 1,0 kg difenconazol + fludioxonil
13. Prosaro 1,0 l prothioconazol + tebuconazol



Forsøg med pottegroede træer




Metodik

Metodik

- Udføres som semi-fieldforsøg på pottegroede træer
- Parcelstørrelse 9 træer
- 7. juli, sårring ved afrivning af skud og nåle, herefter kunstig smitte med sporeopløsning og overdækning med hvid plast i 2 døgn for holde en høj luftfugtighed
- Sprøjtning: 3 dag **før** infektion: 4. juli
 - 1 dag **efter** infektion: 8. juli
 - 3 dage **efter** infektion: 10 juli
 - 8 dage **efter** infektion: 15. juli
- Opgørelser: endnu ingen synlige symptomer på angreb






Status for forsøgene indtil nu...

-  Vi kan lave kunstig infektion af *Neonectria neomacrospora* under væksthushold med optimal forhold for svampen
 - Under "kuvøseforhold" kort inkubationstid (6-8 dage)
 - Under modererede forhold længere inkubationstid (~ 2 mdr.)
-  Uvist om kunstig infektion under semi-field forhold virker
-  Stor forskel på virkningen af de afprøvede midler
 - Forskel mellem forebyggende og kurativ indsats
 - Få forsøg med varierende resultater



Fortsættelse...(forslag)

-  Forsøget under væksthushold med 2/0 planter gentages i modificeret form
 - Større andel af macrokonidier i smittematerialet
 - Reduceret antal midler
 - Flere planter pr. behandling = større sikkerhed
-  Hvis der ikke viser sig symptomer på angreb i pottetræer
 - Gentagelse af kunstig infektion under kontrollerede forhold i væksthushold
 - Reduceret antal midler
-  Hvilke midler skal der sættes på ?



Resultaterne fra væksthushorsøgene

% planter med angreb	Præventiv sprøjtning		Kurativ sprøjtning	
	Kuvøseforsøg	Væksthushorsøg	Kuvøseforsøg	Væksthushorsøg
0-10	Merpan	Topsin, Merpan, Proline		Merpan, Proline, Folpan, Topsin
11-25	Prosaro Folpan	Folpan, Prosaro, Switch		Signum, Prosaro
26-40	Proline	Nordox, Dithane Signum Ubehandlet inf. Bumper	Bumper	Nordox, Bumper, Delan, Switch, Ubehandlet inf.
41-75	Switch Bumper	Delan	Proline, Prosaro Topsin, Delan, Merpan, Switch	Dithane
>75	Signum, Topsin , Delan Ubehandlet inf. Nordox, Dithane		Folpan, Dithane, Ubehandlet inf., Signum, Nordox	



Forslag til midler i kommende forsøg

Middel

Fremtid i Danmark

Merpan

Ingen – kan ikke godkendes i DK efter de nuværende regler. Uvist om MS vil fortsætte nuværende praksis mht. at give dispensationer

Folpan

Godkendt til korn med 2 behandlinger/år. Under udvikling til kernefrugt

Proline

Aktivstof: prothioconazol, godkendt til korn med 2 behandlinger pr. år

Prosaro

Aktivstof: prothioconazol + tebuconazol, godkendt til korn med 2 behandlinger pr. år

Topsin

Pt. forbudt i DK, søgt godkendt til anvendelse i kerne- og stenfrugt, hvede og raps med 1 beh./år



Hvornår skal man sprøjte mod *Neonectria*?

- 🌲 Første betingelse er at have noget at sprøjte med!
- 🌲 Er det muligt at forudsige hvornår der er risiko for infektion?
- 🌲 Der er udvikling en varslingsmodel for frugttræskræft i æbler
 - Baseret på klimadata – temperatur, nedbør, bladfugt, relativ luftfugtighed og indstråling
- 🌲 Muligheden for at tilpasse den til varsling for ædelgrankræft undersøges pt.
 - Kræver nærmere kendskab til sporespiring hos *Neonectria neomacrospora*
 - Opbygning af net af klimastationer, hjemmeside ...