



Vad är det som förtär äpple under lagring?

Ibrahim Tahir

Institutionen för växtförädling, Alnarp

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds- och växtproduktionsvetenskap

Rapport 2014:14
ISBN 978-91-87117-75-6
Alnarp 2014



LANDSKAPSARKITEKTUR
TRÄDGÅRD VÄXTPRODUKTIONSVETENSKAP
Rapportserie

Vad är det som förtär äpple under lagring?

Ibrahim Tahir

Institutionen för växtförädling, Alnarp

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds- och växtproduktionsvetenskap

Rapport 2014:14
ISBN 978-91-87117-75-6
Alnarp 2014

Projektet har finansierats av Jordbruksverket

Sammanfattning

Lagerförlusten som orsakas av fysiologiska sjukdomar och svampangrepp är en av de väsentliga anledningarna till att den Svenska fruktproduktionen står inför allvarliga ekonomiska problem. Ett grundläggande krav för att använda och lyckas med integrerat växtskydd, är att kunna identifiera svamparterna som orsakar lagringsförlusterna i området och skaffa tillräckligt med kunskaper om deras livscykel och smittkällor samt om de mest drabbade äpplesorterna. För att nå dessa mål, utfördes ett multiförsöksprojekt under tre säsonger (2011-2013) i Kivik, Alnarp och Balsgård (Kristianstad).

Resultaten har visat att största delen av lagringsförlusten orsakades av svampangrepp, medan knappt 15 % av förlusten bland ekologiskt äpple och knappt 9 % bland IP äpple skedde pga. fysiologiska sjukdomar. De viktigaste skadorna som observerades var mjuk skalbränna och mösk (inre fysiologisk nedbrytning).

Ekologiskt äpple visade högre svampangrepp än IP äpple. Problemet var mer allvarligt under 2012 jämfört med 2013. *Neofabraea sp.* och *Colletotrichum sp.* har varit de farligaste orsakerna för svampangreppet bland ekologiska äpplen följt av *Penicillium expansum*. Den dominerade *Neofabraea* arten bland ekologiskt äpple var *N. perennans*.

Undersökningen av tio äpplesorter ("Discovery", "Summerred", "Gravenstein", "Katja", "Aroma", "Cox Orange", "Ingrid Marie", "Rubinola", "Santana" och "Frida") från olika IP odlingar visade att "Summerred", "Rubinola", "Ingrid Marie" och "Frida" har låg tolerans mot fysiologiska sjukdomar. En stark korrelation mellan sorternas tolerans mot svampangrepp och sorternas mognadstid har rapporterats, där tidiga sorter hade låg tolerans jämfört med sena sorter. *Neofabraea sp.* och *Colletotrichum acutatum* orsakade det mesta av svampangreppet hos de tio sorterna, följt av *P. expansum*. *Monilinia fructigena* och *Botrytis cinerea* orsakade endast svampangrepp hos "Summerred" och "Cox Orange". Ca 39-50% av svampangreppet orsakades av *Neofabraea sp.* i fem packerier och mellan 25 och 40 % orsakades av *C. acutatum*. *P. expansum* orsakade mellan 9 % och 16 %. *N. alba* var den farligaste *Neofabraea* arten i de tre stora packerierna (Äppelriket, Göranssons och Kivikås). Hos "Aroma", "Ingrid Marie" och "Frida" sorter dominerade *N. perennans* medan *N. alba* dominerade hos resten av sorterna.

PCR analys är den fastställande identifieringsmetoden, men identifiering av svamparter enligt mycelium- eller konidia-morfologi kan också ge en korrekt bedömning.

Bland de mest populära miljövänliga bekämpningsmetoderna mot svampangrepp, kan efterskördebehandling med varmt vatten eller med essentiella oljor rekommenderas som mer paktiska och säkra metoder.

Abstract

Fungal decay is one of the major reasons that Swedish apple production is faced with serious economic problems because apples show relatively high susceptibility to fungal rots due to their low pH, high moisture content and beneficial nutrient composition. Since pre- and post-harvest application of fungicides is totally prohibited in the organic production, problems with fungal diseases become even more severe. A successful application of fruit protection strategy, which must combine between the integration of pathogen biology and pre- and postharvest management, depends on the availability of enough knowledge about the pests, present in the orchard, their biology, sources of inoculum, dissemination period, and the factors that increase or inhibit their risk. Estimation the resistance of more popular cultivars in the organic respectively IP- orchards to the more predominant rots in the area can be also an important factor. To achieve such purposes, a multi-research project was conducted in Alnarp, Kivik and Kristianstad (Balsgård) during 2011-2013 seasons.

The results showed that most of the storage losses were fungal decay, while only 15 % of these losses in organic apples and nearly 9 % in IP apples were caused by physiological disorders. However, the more observed disorders were soft scald and internal breakdown.

Organic apples showed higher fungal decay compared with IP apples. The problem was more severe during 2012 season compared to 2013 season. *Neofabraea sp.* and *Colletotrichum sp.* were the most serious causes of fungal decay in organic apples followed by *Penicillium expansum*. The dominant *Neofabraea* species in organic apple was *N. perennans*.

The investigation of ten apple cultivars ("Discovery", "Summerred", "Gravenstein", "Katja", "Aroma", "Cox Orange", "Ingrid Marie", "Rubinola", "Santana" and "Frida") from different IP orchards showed that "Summerred", "Rubinola", "Ingrid Marie" and "Frida" had low tolerance to physiological disorders. A strong correlation was found between cultivar's tolerance to fungal decay and cultivar's ripening period. Early cultivars had low tolerance compared with late cultivars. *Neofabraea sp.* and *Colletotrichum acutatum* caused most of the fungal decay in these ten cultivars, followed by *P. expansum*. *Monilinia Fructigena* and *Botrytis cinerea* caused decay only in "Summerred" and "Cox's Orange". About 39-50 % of the fungal decay in the fruit which were collected from five storage houses in the area, was caused by *Neofabraea sp.* and between 25 and 40% was caused by *C. acutatum*. *P. expansum* caused between 9% and 16% of these losses. *N. alba* was the most serious problem in the three major storage houses (Äppelriket, Göranssons and Kivikås). *N. perennans* was the dominated cause of decay in "Aroma", "Ingrid Marie" and "Frida" cultivars while *N. alba* dominated as the decay cause in the rest of investigated cultivars.

Although, the accurate identification of fungi species could be achieved by PCR analysis, correct identification also could be performed according to mycelium or conidia morphology.

Among the most popular integrated and organic pest management methods, postharvest treatment with hot water or essential oils can be recommended due to their practicability and safety.

Tack

Slutligen vill jag tacka alla som har hjälpt mig att genomföra denna förestudie. Speciellt tack till **Jordbruksverket** för finansieringen av detta försök, till **Lars-Olof Börjesson**, VD, Äppelriket för det fantastiska samarbetet, **Professor Hilde Nybom**, SLU-Balsgård för alla excellenta råd och **Jasna Sehic**, SLU, för DNA-lab. arbetet.

Inledning

Lagringskador i äpple orsakar mycket stora ekonomiska förluster. Svampsjukdomar som uppträder under lagringen kan antingen vara resultat av ett angrepp före skörd och/eller under behandlingen efter skörd. I Europa har svampsjukdomar ökat betydligt under de senaste decennierna, sannolikt på grund av den globala uppvärmningen (Amiri *et al.* 2008; Weber och Roland 2009). Vi kan därför förvänta oss allt större problem i Sverige medan klimatet här blir varmare, och eventuellt också mer fuktigt under vegetationsperioden.

Lagringskador kan uppgå till 10 % eller mer av den inlagrade frukten och är speciellt förödande eftersom odlaren redan åsamkats betydande kostnader för växtskyddsbehandling, gallring, skörd, sortering och lagring innan man sedan tvingas kasta den förstörda frukten.

Kemisk bekämpning är fortfarande standard metod i många andra länder. Den genomförs under växtsäsongen när det inte finns några symptom och timingen bestäms ungefärligt eller efter skörd. I Sverige är det inte tillåtet att behandla frukten med fungicider efter skörd. På senare tid har dessutom antalet tillåtna fungicider för användning i konventionell odling innan skörd minskat. Ytterligare begränsningar väntas för vattenskyddsområden i stora delar av Österlen där de flesta av de svenska yrkesfruktodlingarna ligger. Därutöver har Jordbruksverket, i enlighet med EUs direktiv, beslutat att alla odlare i landet ska, före år 2014, antingen tillämpa principerna för integrerat växtskydd eller odla enligt principerna för ekologisk produktion.

Några helt resistent äpplesorter finns inte dokumenterade (Tahir och Nybom 2008). Det finns likväl för närvarande inga effektiva kemiska medel som är godkända inom ekologisk odling för kontroll av lagringssjukdomar hos äpple. Således kräver kvalitetsförbättring, minskning av lagringssjukdomar och förstärkning av svensk frukts konkurrenskraft, en utveckling av bekämpningsstrategin.

Ett grundläggande krav för att arbeta vidare med dessa strategier är att kunna identifiera skadegörare som finns i odlingen och skaffa sig tillräckligt med kunskaper om svamparter i området, dess livscykel, samt vilka som är de mest drabbade sorterna och hur odlingsbetingelser kan optimeras.

Det finns brist på information hos rådgivare och odlare om vilka svamparter som förekommer i svenska fruktproduktionsområden.

Målet för denna studie var att identifiera och bestämma vilka svamparter som orsakar lagringsröta, genomföra litteraturstudier om arternas biologi och bekämpningsmöjligheter samt förbereda ett underlag som möjliggör att rådgivare lär sig enkla identifieringsmetoder för de olika lagringssjukdomarna.

Material och metod

Frukt insamling och lagring

Bestämning av optimal skördetidspunkt

Den optimala skördetidspunkten för varje sort, som inkluderades i detta projekt, bestämdes för att undvika mognadsstadieteffekten på fruktens känslighet mot sjukdomar och svampangrepp. I juni 2012 och maj 2013, markerades tolv träd per sort i fyra upprepningar. Under fyra veckor innan skörd, plockades och analyserades 24 frukter per sort, en gång i veckan (2 frukt per träd). Fruktfastheten, sockerinnehållet (torrsubstans "TS") och nedbrytningen av stärkelseinnehållet (SNB) mättes med penetrometer, refraktometer och jodtest. Fruktens mognadsstadium bedömdes enligt Streif index ($\text{Streif index} = (\text{fasthet}) \cdot (\text{TS} \cdot \text{SNB})^{-1}$). När Streif indexet låg mellan 0.16 och 0.14, plockades frukten från samma träd till olika försöks delar eftersom denna Streif index intervall betraktas som optimala skördetidspunkter enligt tidigare studier (Tahir 2006; Tahir och Nybom 2013).

Friska äpplen från IP och ekologiska odlingar

För att veta vad det är som förtär ekologiska äpplen som odlats i Skåne, har detta försök utförts under 2012 och 2013s säsonger. Från två IP respektive ekologiska odlingar, markerades 12 träd av två äpplesorter ("Amorosa" och "Frida"). Fyrahundraåttio frukter per sort plockades från dessa träd vid optimala skördetidspunkter. Frukterna delades in i fyra block, transporterades till Alnarp och lagrades i kylklagring (2 grader och 85 % fuktighet) enligt tabell 1.

Tabell 1. Plockningstidpunkter, mognadsgrad och lagringsperiod för ekologiskt respektive IP-äpple

Sort	2012			2013		
	Skörde-datum	Streif index	Lagrings-period, dagar	Skörde-datum	Streif index	Lagrings-period, dagar
"Amorosa"	10 sep.	0,16	161	16 sep.	0,15	151
"Frida"	08 okt.	0,16	157	14 okt.	0,15	150

Efter sex månader upphörde lagringsperioden och frukterna flyttades till rumstemperatur (20 grader och 80 % fuktighet) i 3 dagar innan förlusterna (fysiologiska sjukdomar och svampangrepp) evaluerades samt svamparterna identifierades.

Friska äpplen från IP odlingar

Vid optimala skördetidspunkter, plockades 120 frukter per sort från fyra olika odlingar (block) i Skåne. Tio äpplesorter inkluderades: "Discovery", "Summerred", "Gravenstein", "Katja", "Aroma", "Cox Orange", "Ingrid Marie", "Rubinola", "Santana" och "Frida", under två säsonger (2012 och 2013). Frukten transporterades till Alnarp och lagrades i kylklagring (2 grader och 85 % fuktighet) enligt tabell 2.

Efter sju månader upphörde lagringsperioden och frukterna flyttades till rumstemperatur (20 grader och 80 % fuktighet) i 3 dagar innan förlusterna (fysiologiska sjukdomar och svampangrepp) evaluerades samt svamparterna identifierades.

Tabell 2. Plockningstidpunkter, mognadsgrad och lagringsperiod för tio äpplesorter.

Sort	2012			2013		
	Skörde-datum	Streif index	Lagrings-period, dagar	Skörde-datum	Streif index	Lagrings-period, dagar
"Discovery"	30 aug.	0,13	98	26 aug.	0,12	96
"Summerred"	31 aug.	0,13	180	27 aug.	0,12	185
"Gravenstein"	03 sep.	0,13	199	29 aug.	0,13	185
"Katja"	05 sep.	0,14	199	09 sep.	0,14	174
"Aroma"	10 sep.	0,16	177	16 sep.	0,15	175
"Cox Orange"	20 sep.	0,15	173	16 sep.	0,15	175
"Rubinola"	28 sep.	0,14	185	30 sep.	0,16	167
"Ingrid Marie"	28 sep.	0,16	192	03 okt.	0,15	164
"Santana"	02 okt.	0,15	174	03 okt.	0,14	164
"Frida"	08 okt.	0,16	168	14 okt.	0,15	141

Rutten frukt från packarier

Mellan 350 och 500 ruttna frukter som visade svampangrepps symptom, samlades från fem olika packarier eller lagringshus i Sydsverige (Äppelriket, KivikÅs, Alnarp, Göranssons och Balsgård). Frukterna transporterades till Alnarp i slutet av 2011 respektive 2012s säsonger. Rutten frukt sorterades enligt skadesymptom, evaluerades och svamparterna identifierades.

Hur fysiologiska sjukdomar identifierades?

Friska frukter som plockades och lagrades, samt sjuka frukter som samlades från olika packarier, undersöktes och klassificerades enligt fysiologiska skador eller svampangrepp. Olika fysiologiska sjukdomar identifierades enligt följande beskrivningar:

Mjuk skalbränna

Mjuk skalbränna karakteriseras av en skarp skiljelinje mellan sjuka och friska vävnader. Bruna bandliknande områden på äppleskalet, som senare blir svarta och kan sprida sig (3-5 mm) in i fruktköttet. Det sjuka området är mjukt, inbuktat och missfärgat och angrips ibland av olika svampsjukdomar (Tahir, 2006).

Inre fysiologisk nedbrytning (Mösk)

Mösk karakteriseras av att fruktköttet blir brunt och bryts ner. Nedbrytningen börjar på ena sidan för att så småningom täcka hela frukten. Ibland är den soliga sidan påverkad, medan resten av frukten är normal. Fruktköttet blir gult till brunt, poröst och mjöligt. Oftast finns en liten ring av friskt fruktkött som omger den skadade vävnaden. Skalet på den angripna frukten kan vara helt normalt eller också ha en mörk och matt färg, senare börjar sprickor uppträda (Tahir, 2006).

Pricksjuka

Pricksjuka är en vanlig skada som brukar visa sig först under lagringen, men ibland kan den observeras strax före skörd. Små, bruna, torra och porösa fläckar i köttet syns som runda, gröna eller mörkbruna inbuktade fläckar i skalet. Största antalet fläckar brukar sitta runt flugan på äpplet. Skadan går sällan särskilt djupt in i äpplet, ofta inte mer än 6 mm, vilket gör att man kan skilja pricksjuka från borbrist. Det drabbade området kan få en bitter smak.

Glasighet

Glasighet bildas medan frukten fortfarande sitter på trädet och beror på störningar i kolhydraternas funktion, låg kalciumnivå och övermognad. Två typer av glasighet kan urskiljas, dels den som orsakas av att frukten skördas sent och dels den som orsakas av exponering för hög temperatur eller solljus strax innan skörden. Sjukdomen kan ses som en glasig, halvt genomskinlig, vattendränkt vävnad runt kärnsträngarna.

Hur svamparter identifierades?

Är det svampangrepp?

Rutten frukt sorterades enligt symptoms färg (ljus brun, brun, mörkbrun och svart) och symptoms form (existen av mörkt centrum, platta eller inbuktade fläckar, bryts lätt med ett fingertryck). Femtio av dessa frukter plockades slumpmässigt och steriliserades med 70 % etanol för 3 minuter. Tre bitar togs från varje frukt (särskilt från marginalen av sjuka vävnader) och odlades på PDA-plattor i två veckor under 24 grader. Mycel från dessa plattor/kolonier avlägsnades försiktigt (med hjälp av skalpell) och ett DNA analys utfördes för att säkerställa att dessa frukter enbart ruttnade pga. svampangrepp. DNA extraherades med Qiagen Dneasy™ Plant Mini Kit enligt tillverkarens protokoll.

Primernamn	Specific för:	Sekvens 5' → 3'
UN-UP18S-42 (forward)	Universal	CGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAAC
UN-LO28S-22 (reverse)	Universal	GTTTCTTTTCCTCCGCTTATTGATATG

Recept:

Termo Fischer Scientific AB-gene, Surrey, UK	PCR-program:
1x buffert	94°C 5 min
1,5 mM MgCl ₂	94°C 45 s
0,2 mM dNTP	66°C 45s } x30
0,8 μM of each forward and reverse primer	72°C 45s
1 U taq	72°C 10 min
10-20 ng DNA	4°C ∞

Identifiering av svamparter

Svamparterna identifierades sedan genom att undersöka olika ruttna frukter med fyra olika metoder:

- Symptom på skadad frukt.
- Myceliumsmorfologi (under makroskop).
- Spormorfologi (under mikroskop).
- PCR analys.

Bedömning enligt symptom på skadad frukt

Skadesymptom som kallas *Gloeosporium*

En amerikansk studie har nyligen visat att det mesta av *Gloeosporium* rötan kan orsakas av de tre viktigaste svamparterna; *Neofabraea perennans*, *Neofabraea alba* eller *Neofabraea malicortici*. Symptomen kan vara runda, bruna rötfläckar som bildas på frukten med ett något ljusare brunt centrum. Konidiemassan är gråaktig till vit. Fläckarna är platta till inbuktade och

nästan lika djupa som breda. Rutten vävnad är relativt fast och kan inte enkelt skiljas från frisk vävnad. Skalet på drabbade fläckar är också intakt och kan inte brytas särskilt lätt med ett fingertryck (Henriquez et al., 2004 och Verkley, 1999).

Skadesymptom av bitterröta

Bitterröta orsakas av *Colletotrichum acutatum* eller *C. gloeosporioides*. Angreppet startar som små ljusbruna till mörkbruna, lätt inbuktade fläckar (0,7-1,6 cm i diameter) som senare brukar omges av en röd ring (det sjuka området markeras med smala koncentriska zoner av ljust och brunt färg). Angreppet syns bäst när drabbade frukter tas ut ur kyllager (Börve och Stensvand, 2007 och Johnston och Jones, 1997). I det angripna området, som är konformad och fuktig, utvecklas rosa eller krämfärgade konidie-massor varifrån sporer sprids.

Skadesymptom som orsakas av *Penicillium expansum*

Angripna fläckar på frukten får en brunaktig färg med vita sporer, därefter blir rötorna på röda frukter ljusbruna, och gula frukter får grön-brun till mörkgul röta med blågröna sporer. När det infekterade området börjar bli mjukt, utvecklas rötan snabbt och hela frukten blir förstörd. Under fuktiga förhållanden bildas massor av blågröna konidier på fruktskalet. Sporererna hos denna aggressiva svampsjukdom sprids via luften. Den ruttna vävnaden är våt med ett genomskinligt utseende och kan lätt separeras från den friska vävnaden (Amiri och Bompeix, 2005; Pitt, 1979).

Skadesymptom av fruktmögel

Fruktmögel orsakas framför allt av svampen *Monilinia fructigena*. Fruktmöglet börjar som stora bruna rötter som täcks av vita till bruna koncentriska ringar av mycelkuddar i vilka det bildas sporer. Frukterna kan också få bruna fläckar som plötsligt blir svarta och sprider sig till hela frukten. Skalet fortsätter vara mjukt och känns läderaktig (Maxin, 2012).

Skadesymptom av gråmögel

Detta gråmögel orsakas av *Botrytis cinerea* och kan vara en allvarlig sjukdom. Det infekterade området är ljusbrunt eller ibland mörkbrunt, mjukt men inte blött och lätt insjunket. De ruttna fläckarna expanderar för att till slut täcka hela frukten. Angripna frukter producerar stora mängder sporer som kan spridas på olika sätt till friska frukter (Xiao and Kim, 2008).

Övriga skador

Frukt som angreps av andra svampsorter klassificerades som övriga, t.ex. Gumaktig röta (*Phacidiopycnis wasingtonensis*) enligt Weber, 2011; Phoma (*Phoma exigua*) och *Fusarium* sp. enligt Maxin, 2012. Gumaktig röta visas som en mycket blek men fast röta som sen blir svart och producerar vita konidier, medan Phoma orsakar blad- och fruktfläckar.

Bedömning enligt myceliumsmorfologi

- Rena svampkulturer som presenterar *N. alba*, *N. Perennans*, *N. malicorticis* och *C. acutatum* har importerats från Holland (Mycobank, IMB) och använts som standard, i identifierings syfte.
- Trettio sjuka frukter som samlades från olika platser och antas ha orsakats av *Neofabraea* sp. valdes slumpmässigt ut och steriliserades med 70 % etanol för 3 minuter. Tre bitar togs från varje frukt (särskilt från marginalen av sjuka vävnader) och odlades på plattor

med MEA i två veckor under 24 grader. Plattorna subkulturerades till V-8 agar, stressades med UV ljus under 6 timmar innan det lagrades i rumstemperatur under ytterligare två veckor. Kultursmorfologin (mycelium i plattorna) kontrollerades med makroskop (vid förstoringar från 20 × till 40 ×), identifierades enligt en jämförelse med dem importerade kulturerna samt med tidigare beskrivningar som rapporterades av Henriquez, et al., 2004. Plattorna sparades under 4 grader.

- Trettio sjuka frukter som samlades från olika platser och antas ha orsakats av *C. acutatum* valdes slumpmässigt ut och steriliserades med 70 % etanol för 3 minuter. Tre bitar togs från varje frukt (särskilt från marginalen av sjuka vävnader), odlades på PDA plattor i två veckor under 24 grader. Plattorna stressades med UV ljus under 6 timmar innan de lagrades i rumstemperatur under ytterligare två veckor. Kultursmorfologin (mycelium i plattorna) kontrollerades med makroskop (vid förstoringar från 20 × till 40 ×), identifierades enligt en jämförelse med dem importerade kulturerna samt med symptombeskrivningen som rapporterades av Weber, 2009. Plattorna sparades under 4 grader.
- Trettio sjuka frukter som samlades från olika platser och antas ha orsakats av *P. expansum* behandlades på samma sätt som föregående punkt. Kulturerna identifierades enligt beskrivningen av mycelium som rapporterades av Amiri och Bompeix, 2005. Plattorna sparades under 4 grader.
- Trettio sjuka frukter som samlades från olika platser och antas ha orsakats av *M. fructigena* behandlades på samma sätt som föregående punkt. Kulturerna identifierades enligt beskrivningen av mycelium som rapporterades av Maxin, 2012. Plattorna sparades under 4 grader.

Identifiering av svamparter enligt sporutseende (konidiamorfologi)

Färdiga plattor som sparades under 4 grader i en vecka, hölls under 20 grader i 24 timmar. Patogensporer avlägsnades från plattornas yta och suspenderades i 5 ml sterilt destillerat vatten, innehållande 0,05% (v / v) Tween 80. Suspensionerna filtrerades genom fyra skikt av steril ostduk för att avlägsna eventuellt vidhäftande mycel. Sporkoncentrationerna justerades till 1×10^5 konidia ml^{-1} (genom hemacytometer). Spormorfologin identifierades med mikroskop (vid 400 ×), 10 prover per patogen enligt följande beskrivningar:

- *N. alba*: bågformig makro-konidia med böjda ändpunkter. Storleken är 17-25 x 3-5 μm .
- *N. perennans*: svagt böjd form med spetsiga ändar. Storleken är 12-25 x 3-6 μm .
- *N. malicorticis*: U-formad, spetsiga eller trubbiga ändar med smuligt innehåll. Storleken är 15-35 x 4-7 μm .
- *C. acutatum*: konidia är cylindrisk med tunna väggar, storleken är 8-16 x 2,5-4 μm .
- *P. expansum*: konidia är klotformig och mycket små nästan 3 augusti μm .
- *M. fructigena*: konidia har tjocka väggar och rombisk form, lätta att separeras, och deras storlek är mellan 8 och 15 μm .

Identifiering med PCR analys

Mycel försiktigt avlägsnades (med hjälp av skalpell) från PDA respektive MEA plattor som odlades med de fyra viktiga svamparter (*N. alba*, *N. perennans*, *C. acutatum* och *C. gloeosporioides*). DNA extraherades sedan med Qiagen Dneasy™ Plant Mini Kit enligt tillverkarens protokoll.

Primernamn	Specific för:	Sekvens 5' → 3'
N. - upTub-100 (forward)	<i>N. alba</i>	TGATGAGACCTTCTGTATCG
N. _ alba - loTub-439 (reverse)	<i>N. alba</i>	AGCAGAGCAGGTCAAGTAA
N. - upTub-100 (forward)	<i>N. perennans</i>	TGATGAGACCTTCTGTATCG
N. _ perennans-loTub-382 (reverse)	<i>N. perennans</i>	GGGTCTGAACATCTGTTGT
C. a-f1 (forward)	<i>C. acutatum</i>	TGAACATACCTAACCGTTGC
C. a-r3 (reverse)	<i>C. acutatum</i>	GGGGTTTTACGGCAAGAGTC
C. gl. ac-f (forward)	<i>C. gloeosporioides</i>	GAAGATCTCGGCACCATCAT
C. gl. ac-r (reverse)	<i>C. gloeosporioides</i>	AACAACAGGGACCAGGTCAG

Recept: *C. acutatum* och *C. gloeosporioides*

Termo Fischer Scientific AB-gene, Surrey, UK	PCR program
1x buffert	94°C 5 min
1,5 mM MgCl ₂	94°C 1 min
0,3 mM dNTP	58°C/60°C 1 min
0,5 µM of each forward and reverse primer	x42 (58°C för Acutatum/60°C för Gloeosporides)
1 U taq	72°C 2 min
20-30 ng DNA	72°C 5 min
	10°C ∞

Recept: *N. alba* och *N. Perennans*

GE Healthcare illustra™, Buckinghamshire, UK	PCR program
1x buffert	94°C 5 min
1,5 mM MgCl ₂	94°C 45 s
0,2 mM dNTP	66°C 45s
0,4 µM of each forward and reverse primer	72°C 45s
1 U taq	72°C 10 min
20-30 ng DNA	4°C ∞

Statistik analyser

Skillnader mellan försöksleden i mängden sjukdomssymptom undersöktes med olika typer av variansanalyser (oneway anova, multiway anova, mixed model anova) av arcsin- och kvadratrotstransformerade data. Signifikanta skillnader mellan medelvärdena för de olika försöksleden fastställdes med Fisher's LSD respektive Tukey's HSD, Med MINITAB 16 program.

Resultat

Friskt äpple från ekologiska odlingar

Den totala förlusten bland lagrad IP-frukt var 16,7% och 18,1%, i 2012 och 12,5 och 12,7% under 2013 hos ”Frida” respektive ”Amorosa” (Tabell 3). Den största förlusten orsakades av svampangrepp, medan knappt 15 % av förlusten uppstod pga. fysiologiska sjukdomar (Tabell 3). Ingen signifikant skillnad mellan uppkomsten av fysiologiska sjukdomar från lagrad IP respektive ekologisk frukt noterades hos någon av sorterna under båda säsongerna (Fig. 1). ”Frida” visade högre känslighet mot fysiologiska sjukdomar än ”Amorosa” i IP respektive ekologisk odling (Fig. 2). Uppkomsten av fysiologiska sjukdomar var högre under 2012s säsong än under 2013s säsong, särskilt bland ekologisk frukt (Fig. 3). Två fysiologiska sjukdomar dominerade bland de lagrade äpplena i denna studie, särskilt hos ”Frida”; mjuk skalbränna (bild 1) och mösk (inre fysiologisk nedbrytning) (bild 2).

Tabell 3. Förlusten under kylagring hos IP- respektive ekologiskt äpple, presenteras som procent av lagrade frukter.

Sort	Odling	2012			2013		
		F-förlust ^x	S-förlust ^x	Total-förlust	F-förlust	S-förlust	Total-förlust
”Amorosa”	IP	2,1 a ^z	16,0 b	18,1 b	1,0 a	11,7 b	12,7 b
	Ekologisk	1,9 a	33,3 a	35,2 a	0,8 a	19,4 a	21,2 a
”Frida”	IP	2,7 a	14,0 b	16,7 b	1,9 a	10,6 b	12,5 b
	Ekologisk	3,1 a	21,4 a	24,5 a	1,3 a	14,6 a	15,9 a
Sort * odling		<i>P</i> =0,900	<i>P</i> =0,140	<i>P</i> =0,16			
Sort * år		<i>P</i> =0,651	<i>P</i> =0,354	<i>P</i> =0,38			
År * odling		<i>P</i> =0,486	<i>P</i> =0,098	<i>P</i> =0,06			
Sort * År * odling		<i>P</i> =0,572	<i>P</i> =0,281	<i>P</i> =0,35			

x: F= fysiologisk sjukdom; S= svampangrepp. *z*: värdena följas med olika bokstäver kolumn/sort visar signifikanta skillnader vid $p < 0,05$. $n = 32$.

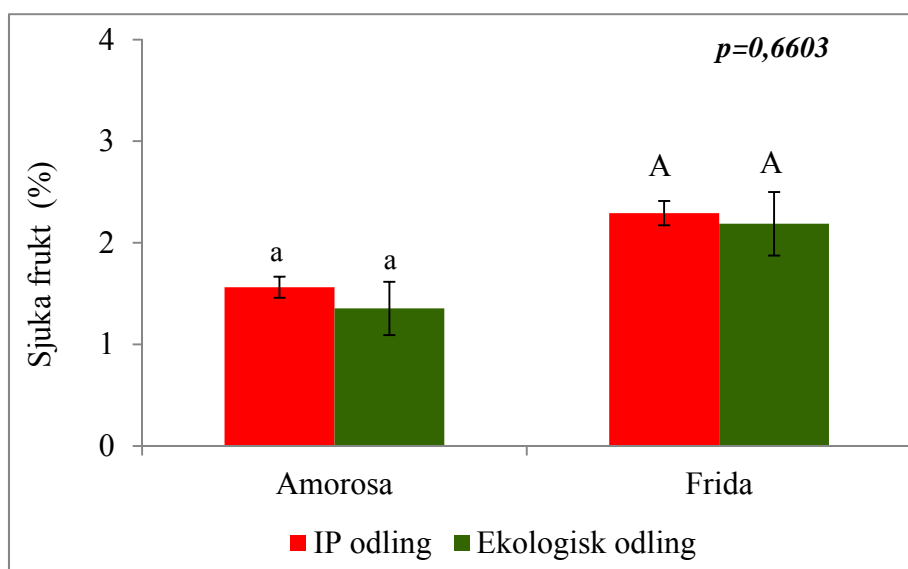


Fig. 1. Inverkan av odlingssystem på uppkomsten av fysiologiska sjukdomar (2012-2013 medeltag), bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/sort.

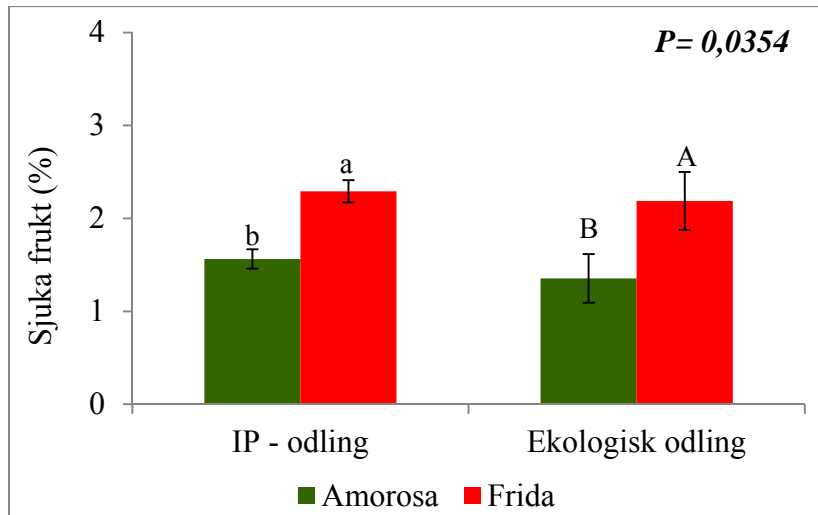


Fig. 2. Sorttolerans mot fysiologiska sjukdomar i IP- respektive ekologisk odling (2012-2013 medeltag). bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/odlingssystem.

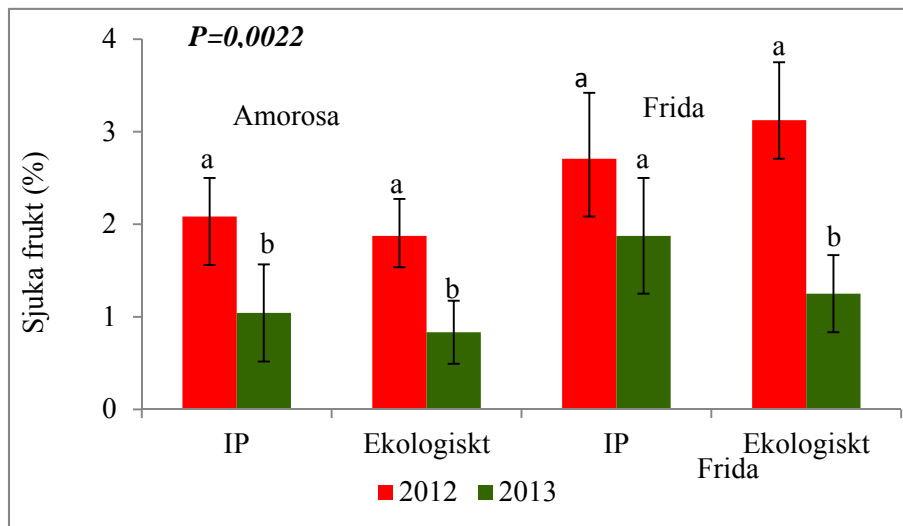


Fig. 3. Uppkomsten av olika fysiologiska sjukdomar under olika säsongar. bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/odlingssystem.



Bild 1. Utvecklingen av mjuk skalbränna sjukdom på äpple (Kivik, foto: I. Tahir)



Bild 2. Symptom av inre fysiologisk nedbrytning (Mösk) på äpple

Förlusten som orsakades av svampangrepp ökade ständigt hos ekologisk "Amorosa" med 66-108% och hos ekologisk "Frida" med 38-53% jämfört med IP äpplen under 2012 respektive 2013s säsonger (Tabell 3 och Fig. 4). "Amorosa" sorten var känsligare än "Frida" mot svampangrepp, oavsett om frukten kom från IP- eller ekologisk odling (Fig. 5).

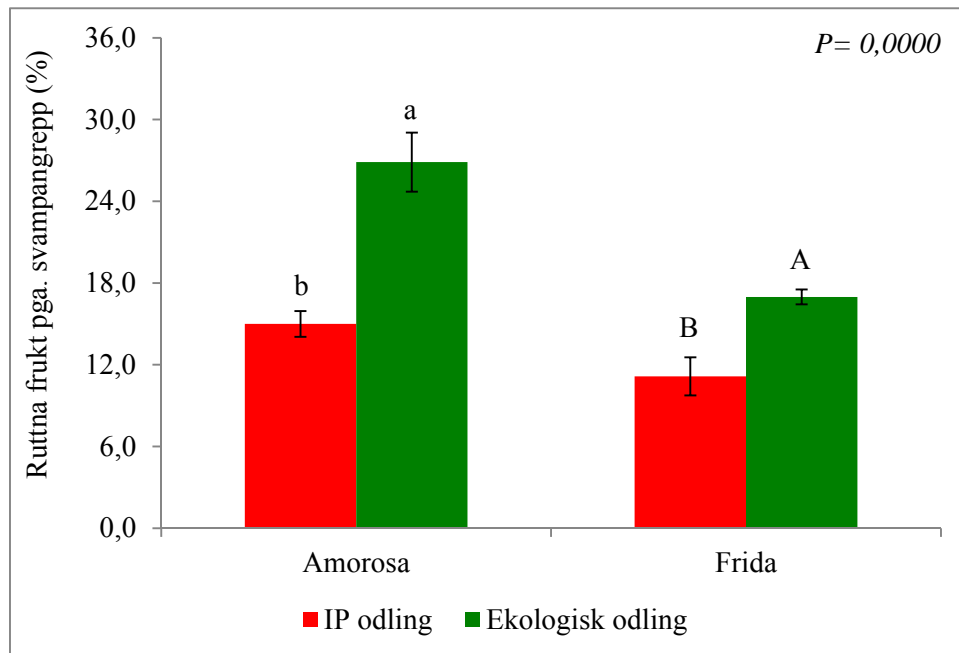


Fig. 4. Inverkan av odlingssystem på svampangrepp under kylagring (2012-2013 medeltag). bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/sort.

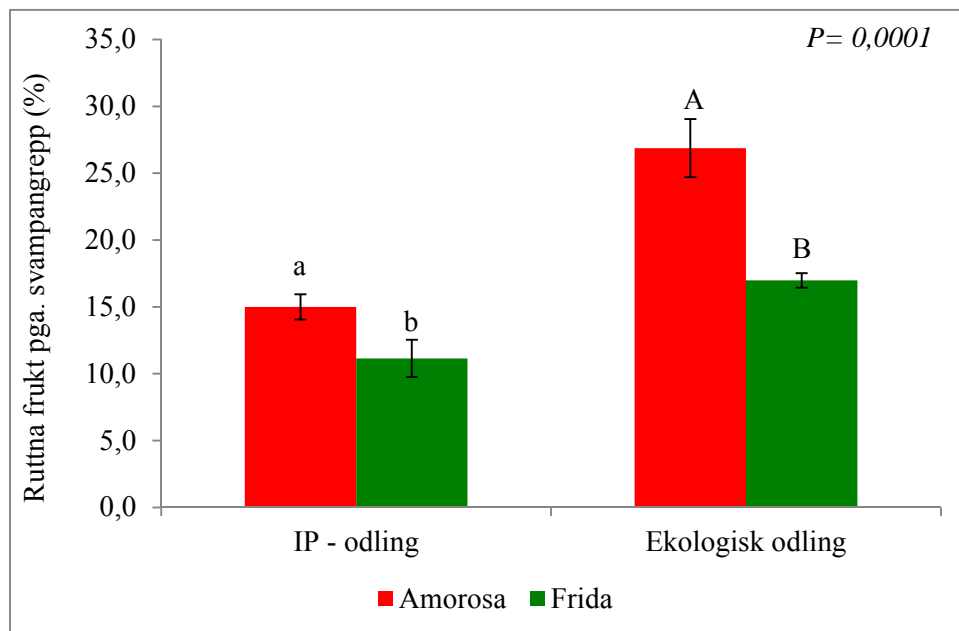


Fig. 5. Känsligheten mot svampangrepp under lagring hos IP- respektive ekologiskt äpple (2012-2013 medeltag). bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/odlingssystem.

Svampangreppet bland ekologisk frukt minskade hos båda sorterna under 2013s säsong jämfört med 2012s säsong, medan bland IP frukt noterades ingen signifikant skillnad mellan åren (Fig. 6).

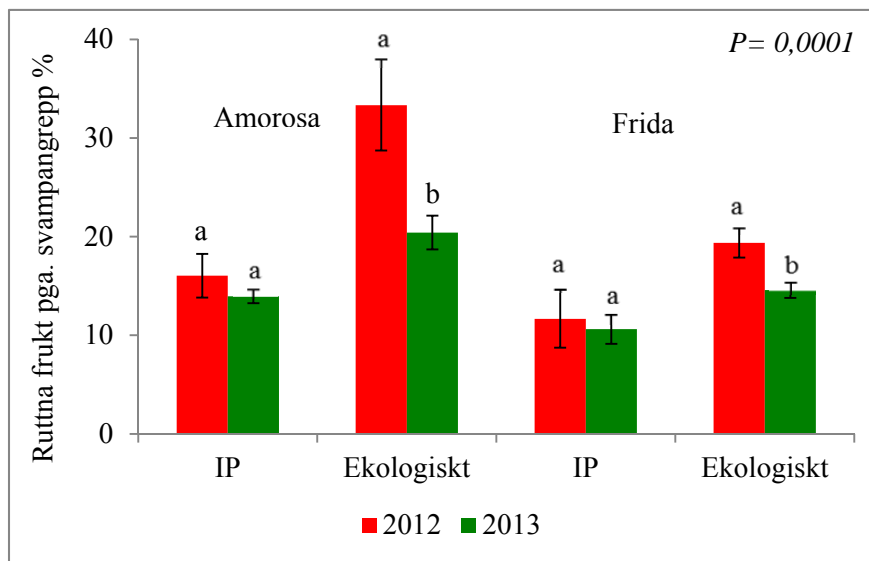


Fig. 6. Uppkomsten av svampangrepp hos två äpplesorter under olika säsongar. bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/odlingsystem.

Bland olika svamparter, var *Neofabraea sp.* och *Colletotrichum sp.* de farligaste skadesvamparna. *Neofabraea sp.* orsakade 6,4 % och 10,9% ruttan frukt hos "Amorosa" samt 4,4 % och 7,2 % hos "Frida" i IP- respektive ekologisk odling (Fig. 7, bild 3). Hos "Amorosa" orsakade *Colletotrichum sp.* 5,6 % av svampangreppet bland IP frukt och 9,4 % bland ekologisk frukt medan samma svampgrupp orsakade 3,7 % och 4,7 % ruttan frukt bland IP respektive ekologisk "Frida" (Fig. 7, bild 4).

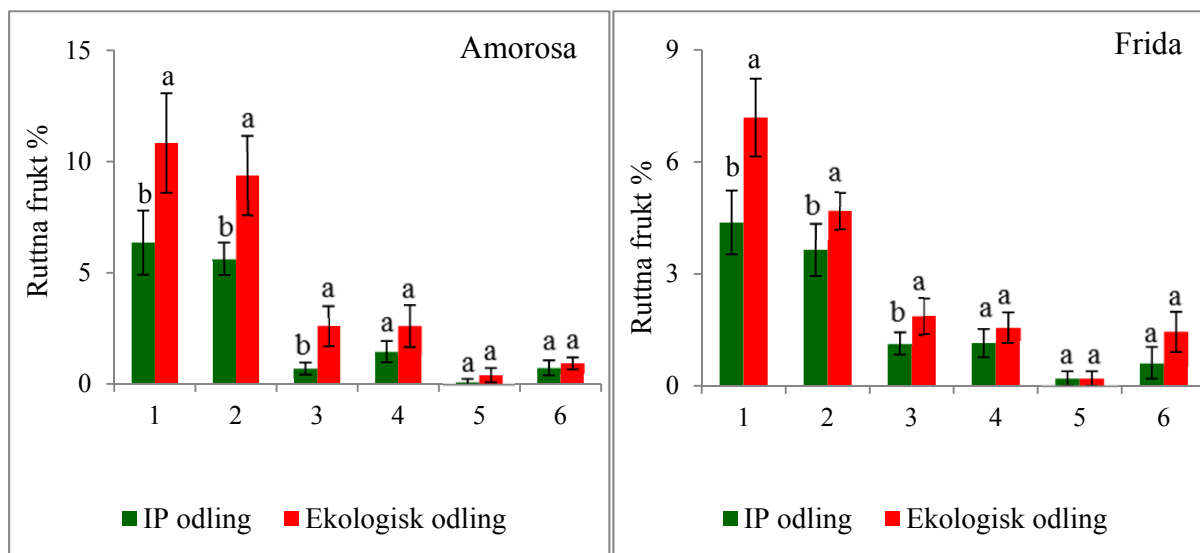


Fig. 7. Inverkan av ekologisk odling på uppkomst av olika svamparter under lagring (2012-2013), $P=0,000$, bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/svampart, (1. *Neofabraea sp.*, 2. *Colletotrichum sp.*, 3. *Penicillium expansum*, 4. *Monilinia fructigena*, 5. *Botrytis cinerea*, 6. Övriga.

P. expansum var den tredje orsaken till svampangreppet hos ekologisk och IP frukt. Effekten av denna svamp visade inget samband mellan varken sorten eller säsongen (Fig. 7, bild 5). *M.*

fructigena var den fjärde orsaken av svampangreppet och påverkades heller inte av varken säsong eller sort (Fig. 7, bild 6).



Bild 3. Symptomer av *Neofabraea* sp. (Balsgård, foto: I. Tahir)



Bild 4. Symptomer av *C. acutatum* (Kivik, foto: I. Tahir)



Bild 5. Symptomer av *P. expansum* (Kivik, foto: I. Tahir)

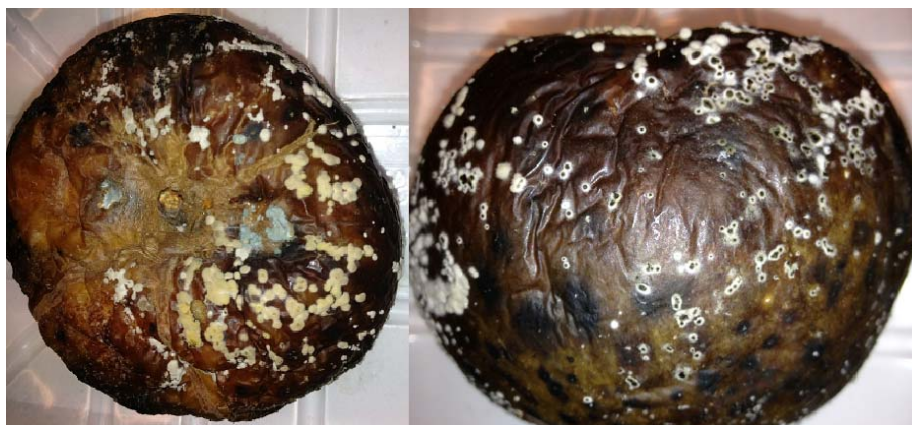


Bild 6. Symptomer av *M. fructigena* (Kivik, foto: I. Tahir)

Den femte orsaken till svampangreppet var *B. cinerea* (Fig. 7, bild 7) medan övriga svampar inkluderade två arter: *Phacidiopycnis washingtonensis* och *Fusarium sp.* (bild 8).



Bild 7. Symptomer av *B. Cinerea* (Kivik, foto: I. Tahir)



Bild 8. Symptomer av *Phacidiopycnis washingtonensis* (t.v) och *Fusarium sp.*(t.h) (Kivik, foto: I. Tahir)

Hos båda sorterna och under båda åren, drabbades ekologiska äpplen mer av *Neofabraea sp.*, *Colletrotichum sp.* och *P. expansum* än IP äpplen. Angrepp från andra svamparter visade ingen signifikant skillnad mellan de två odlingsystemen (Fig. 7).

”Amorosa” äpplen var mer känsligt mot *Neofabraea sp.* och *Colletrotichum sp.* än ”Frida” äpplen under båda åren medan ingen signifikant skillnad observerades i känsligheten mot andra svamparter hos någon av sorterna (Fig. 8).

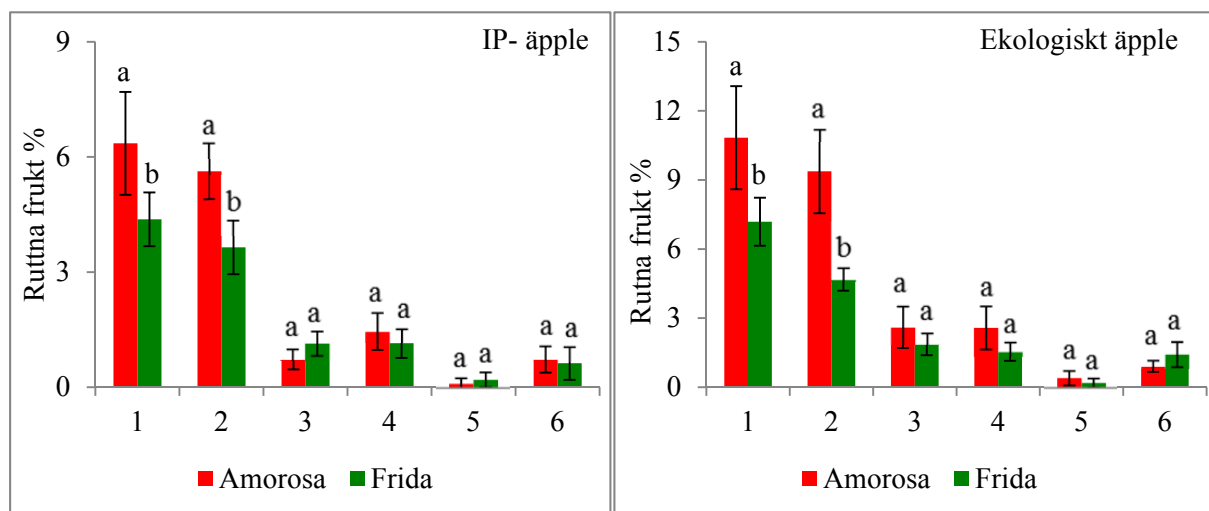


Fig. 8. Sorttolerans mot angreppet med olika svamparter i IP- respektive ekologiskt äpple (2012-2013), $P=0,000$, bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/svampart, (1. *Neofabraea sp.*, 2. *Colletrotichum sp.*, 3. *Penicillium expansum*, 4. *Monilinia fructigena*, 5. *Botrytis cinerea*, 6. Övriga.

Dessutom uppstod samma angreppsnivå med olika svamparter under båda säsongerna, förutom angreppet med *Neofabraea* sp., där förlusten under 2012s säsong var högre än förlusten under 2013s säsong (Fig.9).

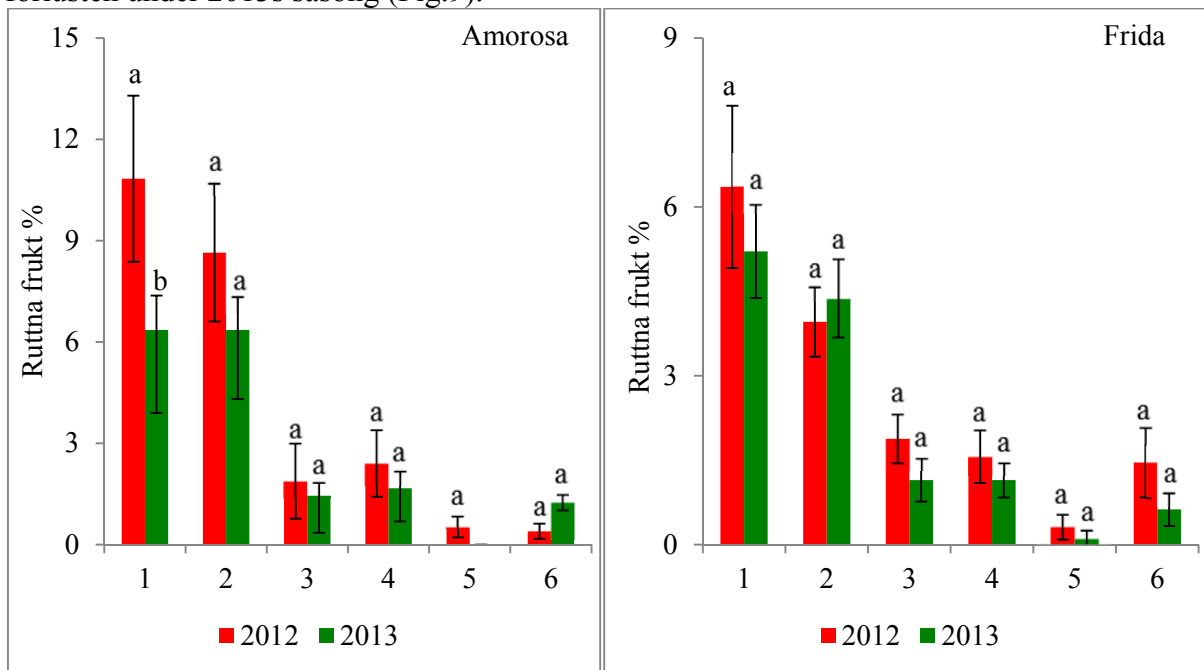


Fig. 9. Säsongsinverkan på angreppet med olika, $P=0,000$, bar= $\pm SD$, olika bokstäver=signifikant skillnad mellan kolumn/svampart, (1. *Neofabraea* sp., 2. *Colletrotichum* sp., 3. *Penicillium expansum*, 4. *Monilinia fructigena*, 5. *Botrytis cinerea*, 6. Övriga.

Olika undersökningar visade att "Amorosa" frukter som bedömdes vara angripna av *Neofabraea*, bestod 37-40% av *N. alba* och 46-51% bestod av *N. perennans*. Hos "Frida" frukt bestod 33-40% av *N. alba* och 47-50% bestod av *N. perennans*. Mellan 11 och 16% av dessa angripna frukter kunde inte identifieras (Fig. 10).

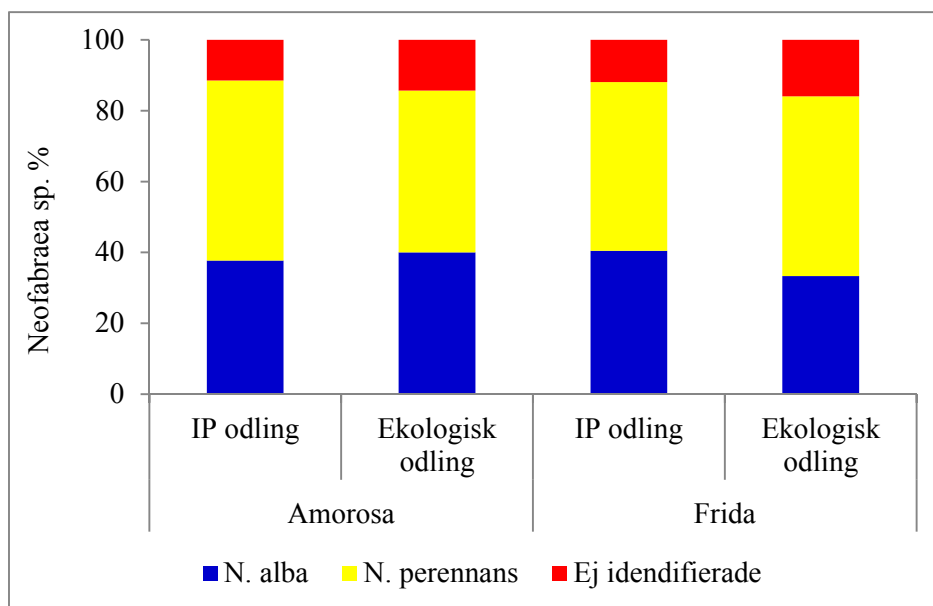


Fig. 10. *Neofabraea* arter som kunde identifieras i ruttna frukter, samlades från ekologiska och IP frukter under två säsongar (2012-2013 medelvärde).

Friska äpple från olika IP odlingar

De vanligaste fysiologiska sjukdomarna, som angrep frukten, var mjuk skalbränna och mösk. Pricksjuka visade sig sällsynt, det uppträdde endast under 2013 och därför försumrades det. ”Rubinola”, ”Frida”, och ”Summerred” hade ganska låg tolerans mot fysiologiska sjukdomar, följt av ”Ingrid Marie”, medan ingen signifikant skillnad noterades mellan de andra sex sorterna (Tabell 4). Torts att förekomsten av fysiologiska sjukdomar under 2013 var lägre än 2012, var skillnaderna mellan de två säsongerna inte signifikanta.

Tabell 4. Fysiologiska sjukdomar (%) hos tio äpplesorter under kylagring i sju månader.

Sort	2012				2013				2012-2013 medelvärde
	Mjuk skal	Mösk	Prick-sjuka	Total	Mjuk skal	Mösk	Prick-sjuka	Total	
”Discovery”	0,2	0,8	0,0	1,0	0,4	0,6	0,0	1,0	1,0 c ^z
”Summerred”	0,8	1,1	0,4	2,3	1,0	0,8	0,1	1,9	2,1 a
”Gravenstein”	0,6	0,6	0,3	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8 cd
”Katja”	0,2	0,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2 cd
”Aroma”	0,6	0,4	0,3	1,3	0,4	0,0	0,0	0,4	0,9 c
”Cox Orange”	0,2	0,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2 d
”Rubinola”	1,3	1,2	0,0	2,5	0,8	0,6	0,1	1,5	2,0 a
”Ingrid Marie”	1,8	0,3	0,0	2,1	1,3	0,0	0,0	1,3	1,7 b
”Santana”	0,4	0,6	0,0	1,0	0,2	0,0	0,0	0,2	0,6 cd
”Frida”	2,1	0,2	0,0	2,3	1,7	0,0	0,0	1,7	2,0 a

z. olika bokstäver= signifikant skillnad mellan sorter vid $P=0,05$.

”Summerred” och ”Katja” visade lägst tolerans mot svampangrepp medan ”Cox Orange” hade högst tolerans under båda säsongerna. Resten av sorterna visade medel till lågtolerans (Tabell 5).

Tabell 5. Totalt svampangrepp (%) hos tio äpplesorter under kylagring i sju månader.

Sort	2012		2013		Medelvärde
”Discovery”	26,5	b	21,5	b	24,0 ab
”Summerred”	30,0	ab	32,3	a	31,1 a
”Gravenstein”	20,6	c	11,5	c	16,0 c
”Katja”	32,7	a	28,3	a	30,5 a
”Aroma”	21,0	c	17,5	b	19,3 bc
”Cox Orange”	4,0	e	7,7	d	5,8 e
”Rubinola”	6,7	e	10,6	cd	8,6 de
”Ingrid Marie”	19,0	c	17,9	b	18,4 bc
”Santana”	15,0	d	13,3	bc	14,2 cd
”Frida”	11,9	d	13,8	bc	12,8 cd

Resultaten visade också på en stark korrelation (Pearson $r=-0,5318$) mellan sorternas mognadsperiod och sorternas tolerans. Tidigare sorter var mest utsatta för svampangrepp medan sena sorter var mindre utsatta (Fig. 11).

Svampangreppet hos ”Discovery” och ”Gravenstein” var under 2012 högre än 2013 medan hos ”Cox Orange” och ”Rubinola” (de mest toleranta sorter) var det tvärtom. Hos andra sorter fanns inga signifikanta skillnader mellan de två säsongerna (Fig. 12).

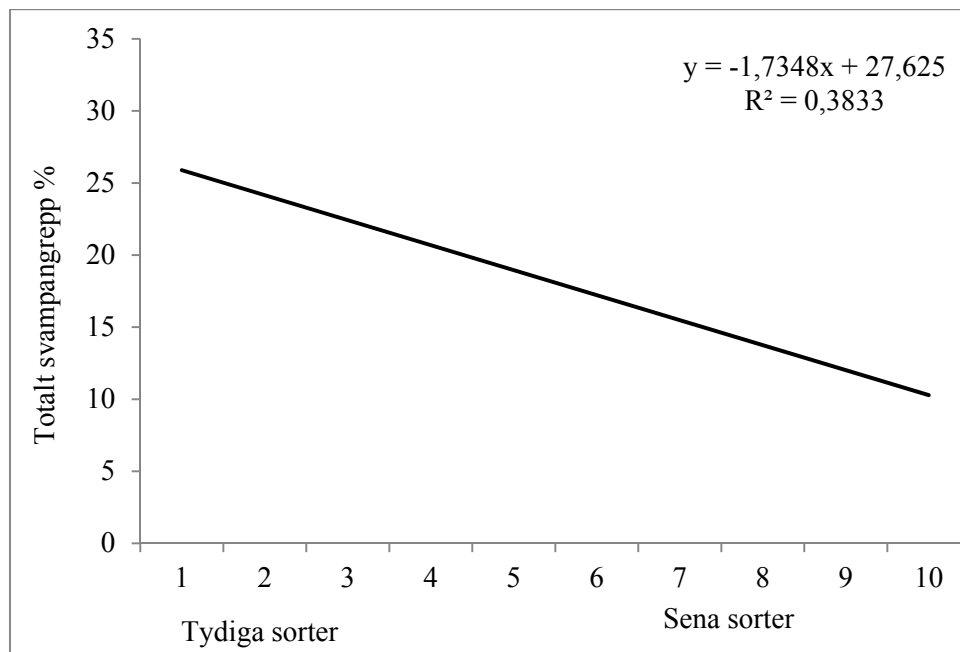


Fig. 11. Sambandet mellan sorterens mognadsperiod och tolerans mot svampangrepp (2012-2013).

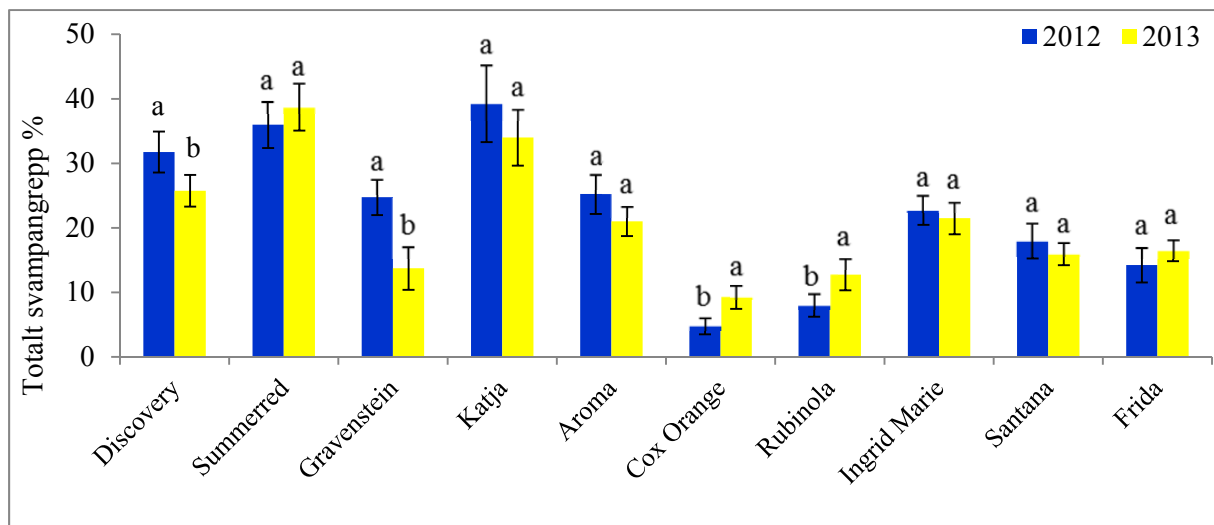


Fig. 12. Säsongeffekt på svampangrepp hos tio äpplesorter, bar=±SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/sort vid $P=0,05$.

Fem olika svamparter undersöktes under de två säsongerna. Figur 13 visar att *Neofabraea sp.* och *Colletotrichum sp.* var de farligaste svamparna som dominerade i området och orsakade störst förluster hos de tio undersökta äpplesorterna. Hos sex sorter (”Discovery”, ”Gravenstein”, ”Aroma”, ”Ingrid Marie”, ”Santana” och ”Rubinola”), var *Neofabraea sp.* den farligaste svamparten följt av *Colletotrichum sp.* Ingen signifikant skillnad mellan de två svamparterna observerades hos ”Katja”, ”Frida”, ”Summerred” och ”Cox Orange”. Den tredje effektiva svamparten var *P. expansum*. *M. fructigena* och *B. cinerea* som orsakade

signifikanta svampangrepp hos två sorter, ”Summerred” och ”Cox Orange”, hade inte särskilt stor effekt på de andra sorterna (Fig. 13).

Olika undersökningar visade att de flesta ”Aroma”, ”Ingrid Marie” och ”Frida” frukterna som bedömdes vara angripna av *Neofabraea*, angreps av *N. perennans*, medan de flesta frukterna från de andra sorterna var angripna av *N. alba*. Mellan 3 och 13 % av dessa angripna frukter kunde inte identifieras (Fig. 14).

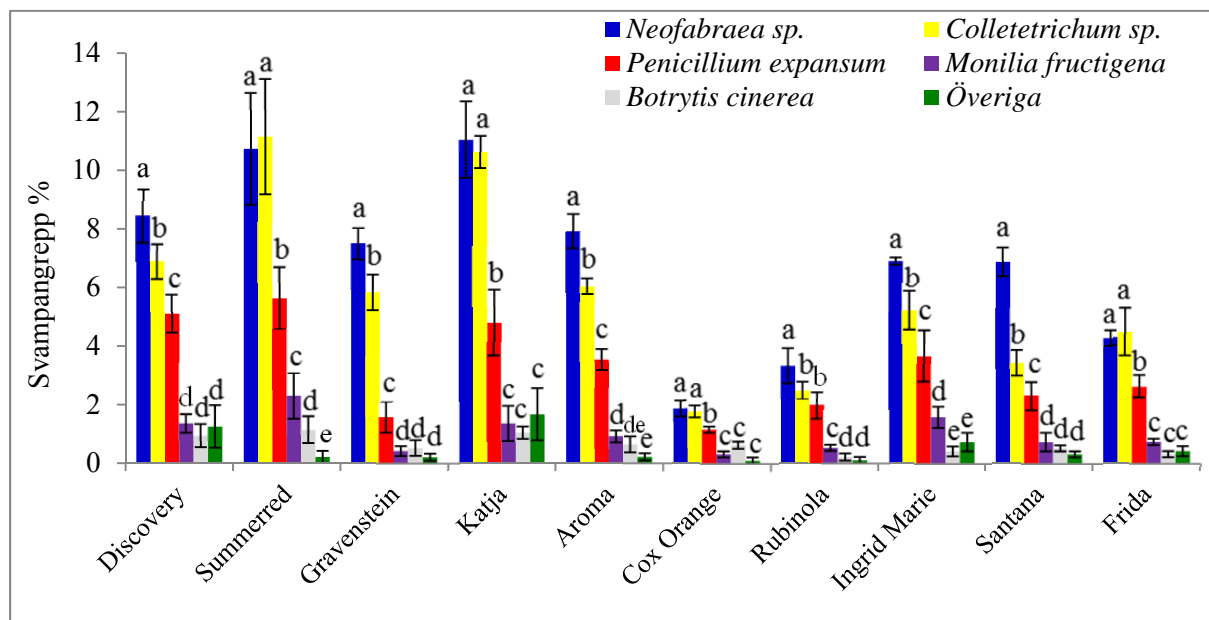


Fig. 13. Äpplesorttolerans mot svampangrepp med olika svamparterna (2012-2013), bar=±SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/sort, vid p=0,05.

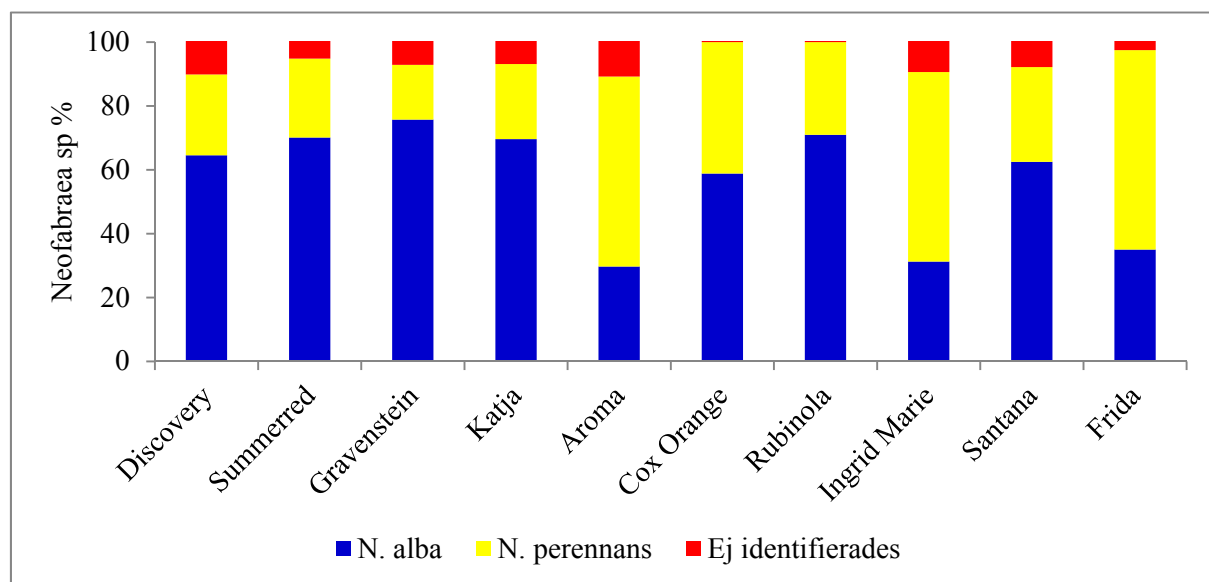


Fig. 14. *Neofabraea* arter som kunde identifieras i ruttna frukter av tio äpplesorter under två säsongar (2012-2013 medelvärde).

Rutten äpple från olika packarier

Den farligaste svamparten var *Neofabraea sp.* som orsakade 39-50% av lagringförlusten hos de fem undersökta packarierna. Den näst farligaste svampen var *C. acutatum* som orsakade 25-40% av förlusten. *P. expansum* var den tredje svampkällan och orsakade mellan 9 % och

16 % av förlusten (Fig. 15).

En jämförelse mellan fem olika packerier visar att *Neofabraea sp.* dominerade bland rutten frukt som samlades från Äppelriket, Kivikås och Göranssons medan *C. acutatum* dominerade bland rutten frukt som plockades från kyllager i Alnarp och Balsgård. *P. expansum* hittades mest bland rutten frukt som samlades från Äppelriket, Kivikås och Göranssons (Fig. 16).

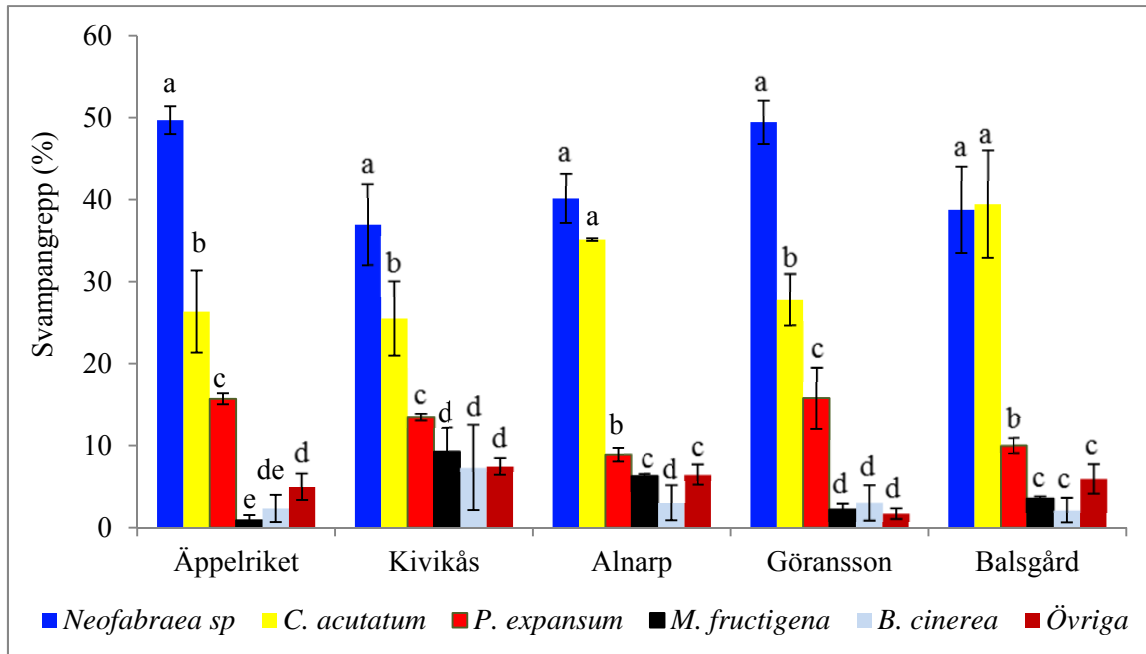


Fig. 15. Olika svamparter som orsakade svampangrepp i lagrade äpple hos fem olika packerier (2011-2012 medelvärde), bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/packeriet, vid $p=0,05$.

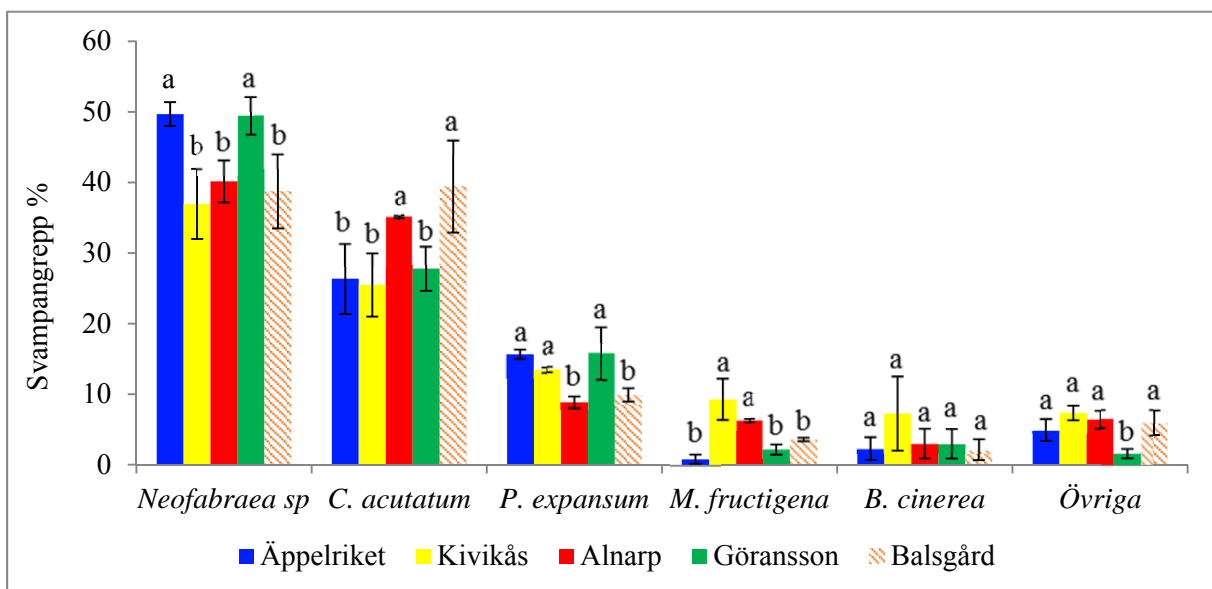


Fig. 16. En jämförelse mellan svampangrepp i olika packerier (2011-2012 medelvärde, bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/svampart vid $p=0,05$.

Förekomsten av svampangrepp orsakat av *Neofabraea sp.* var högre under 2012 än under 2013. Svampangrepp orsakat av *B. cinerea* observerades endast under 2013s säsong.

Svampangrepp orsakat av andra sorter visade inga signifikanta skillnader mellan de två säsongerna (Fig. 17).

Undersökningarna visade också att den mesta frukten som samlades från Äppelriket, Göranssons och Kivikås och som visade på *Neofabraea* symptom, hade angripits av *N. alba* medan de som samlades från Balsgård och Alnarp angreps av *N. perennans* (Fig. 18). Mellan 10 och 20 % av frukten som visade på *Neofabraea* symptom gick inte att identifieras (Fig. 18).

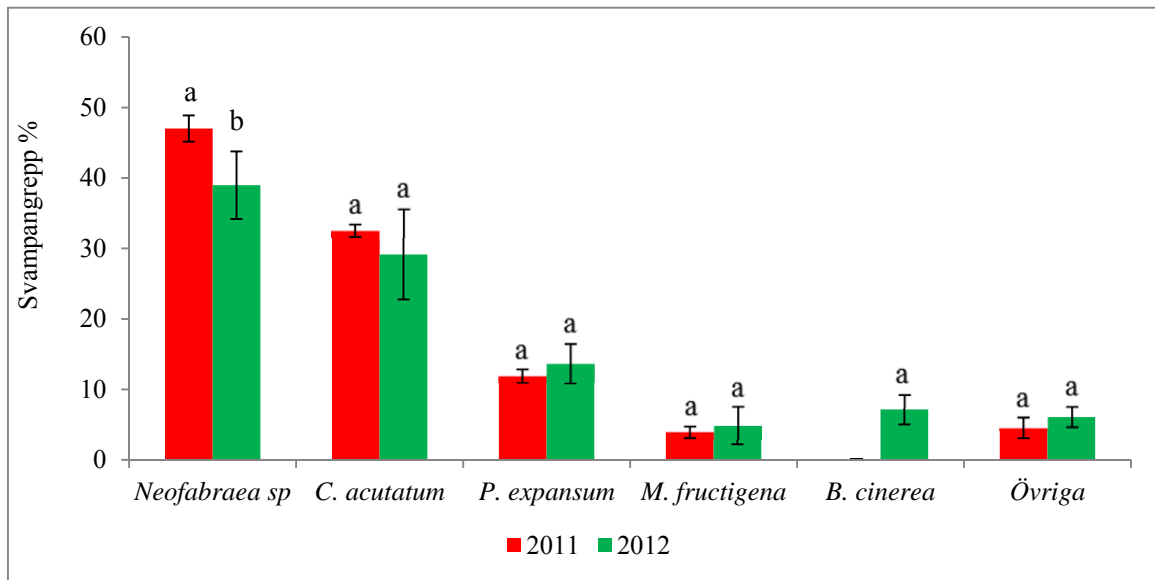


Fig. 17. En jämförelse mellan svampangrepps förekomsten under två säsongar (medelvärde av fem packarier), bar= \pm SD, olika bokstäver= signifikant skillnad mellan kolumn/svampart vid $p=0,05$.

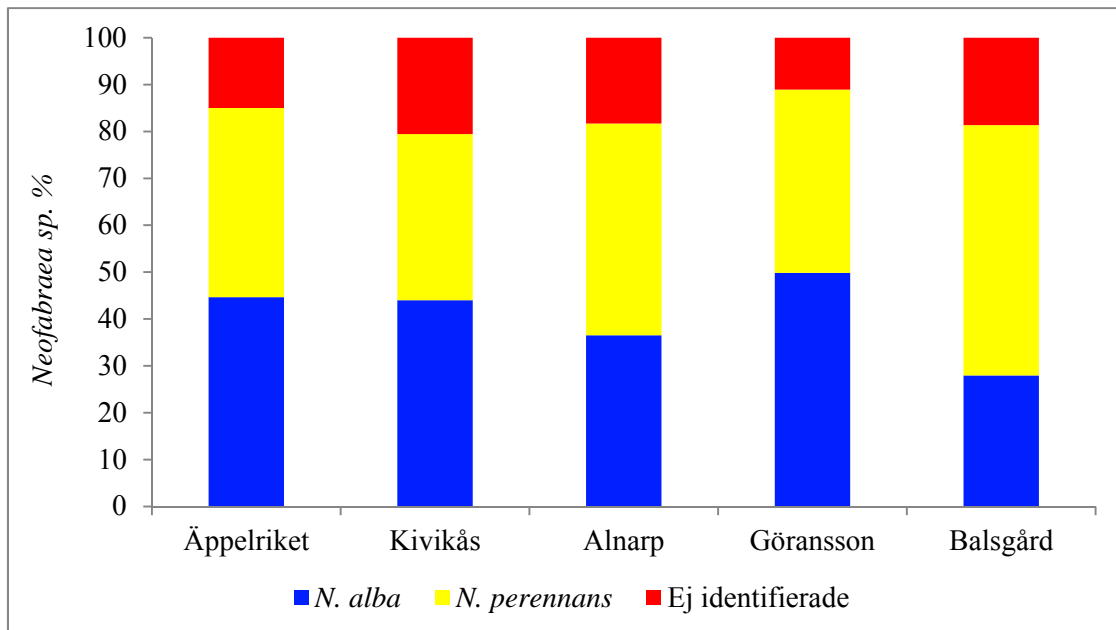


Fig. 18. *Neofabraea* arter som kunde identifieras i ruttna frukter, samlades från fem olika packarier under två säsongar (2011-2012 medelvärde).

Diskussion och slutsats

Bristen på information hos rådgivare och odlare om skadegörare som orsakar höga lagring förluster kan förhindra bekämpningsstrategier, särskilt i IP respektive ekologisk produktion. I de olika studierna som inkluderades i detta projekt och utfördes under de tre senaste säsongerna, har lagringssjukdomar undersökts genom att bestämma vilka fysiologiska sjukdomar respektive svamparter som orsakar lagringsröta. Tillräcklig information om svamparter i området, deras identifieringsmetoder, och spridning har skaffats. Några miljövänliga bekämpningsmetoder som kan förhindra eller minska svampangreppen har också presenterats.

Fysiologiska skador på frukten uppstår före, under och efter lagringen som ett resultat av störningar i trädens metabolism, vilket i sin tur har sin orsak i t.ex. brist på näringsämnen eller ogynnsamma miljöbetingelser. Fysiologiska skador hos frukten visar sig som oönskade förändringar i färg, form och storlek, vilket försämrar dess kvalitet och lagringspotential. De viktigaste fysiologiska skador som noterades i denna studie var mjuk skalbränna och mösk (inre fysiologisk nedbrytning), bland ekologiska och IP äpplen.

Bland ekologisk frukt, visade "Frida" högre känslighet mot mjuk skalbränna jämfört med "Amorosa" medan ingen skillnad i toleransen noterades mot mösk hos de båda sorterna. Bland IP frukt visade "Frida", "Ingrid Marie", "Rubinola", "Summerered" och "Aroma" mindre tolerans mot mjuk skalbränna jämfört med de andra sorterna. "Summerered", "Rubinola" och "Discovery" visade större förlust pga. mösk jämfört med de andra sorterna.

Mjuk skalbränna beror på oxidation av omättade fettsyror och onormal andningsmetabolism på grund av låg lagringstemperatur, sen plockning och fördröjd nedkylning efter skörd. Känsliga sorter som plockas sent måste lagras vid 1-2 grader högre temperatur än optimalt under flera veckor, innan de kyls ner till den optimala lagringstemperaturen. Att spruta träden med kalcium flera gånger minskar risken med 40 % (Tahir 2006).

För att undvika uppkomsten av mösk måste frukten plockas i rätt skördetidspunkt och lagras i optimala lagringsbetingelser. God tillgång till kalcium och bor samt måttlig beskärning kan hjälpa till att minska problemet medan stötskador, frost eller fördröjd lagring kan öka risken för mösk (Tahir 2006).

Svampsjukdomar är en av de väsentliga anledningarna till att den svenska fruktproduktionen står inför allvarliga ekonomiska problem (Jönsson et al. 2010; Tahir och Nybom 2008). I ekologiska odlingar orsakar problemet stora bortfall av försäljningsvärdig frukt (Tahir och Nybom 2013). Jönsson et al. 2010 har rapporterat att den populära sorten "Aroma" erhöll 20 gånger större bortfall från ekologiskt odlade träd jämfört med IP-odlade träd från samma fält. I denna studie ökade svampangreppet bland ekologisk "Amorosa" med ca 90 % jämfört med IP frukt. "Frida" visade bättre tolerans än "Amorosa", där svampangreppet ökade med ca 50% bland ekologisk frukt jämfört med IP frukt.

Bland IP frukt, visade olika sorter olika tolerans mot svampangrepp. Tidiga sorter var mer känsliga än sena sorter. De tio sorterna kan delas in i fyra grupper; sorter med mycket låg tolerans ("Summerered" och "Katja"), sorter med låg tolerans ("Discovery", "Aroma", "Ingrid Marie" och "Gravenstein"), sorter med bra tolerans ("Santana" och "Frida") och sort med mycket bra tolerans ("Cox Orange").

Lagersjukdomen som tidigare kallades gloeosporiumröta var den farligaste svampen som orsakade de största förlusterna bland IP- respektive ekologiska äpplen samt hos olika sorter. Två grupper av svamparter kunde identifieras som orsakar gloeosporiumröta; *Neofabraea*

alba och *Neofabraea perennans*. Orsaken av en del av gloeosporiumrötan kunde inte identifieras. Den delen kan ha orsakats av en annan *Neofabraea* art, t.ex. *N. marticotis*.

Bland den rutten frukt som visade på *Neofabraea* symptom, var *N. perennans* farligare än *Neofabraea alba* för "Frida", "Amorosa", "Aroma" och "Ingrid Marie" medan *N. alba* var farligare än *N. perennans* för de andra sorterna. Bland rutten frukt som samlades från olika packerier, var *N. alba* farligare än *N. perennans* i tre packerier (Äppelriket, Göranssons och Kivikås) medan det rapporterades vara tvärtom i de andra två packerierna (Alnarp och Balsgård). I och med att de tre första packerierna är stora och samlar frukt från flera odlingar och flera sorter, kan de representera verkligheten. På så sätt kan *N. alba* räknas som huvud anledning för gloeosporiumrötan i området.

Det var mycket svårt att skilja mellan de två *Neofabraea* arterna genom att enbart studera symptomen. *N. perennans* hade alltid en mörkbrun fläck i mitten (bild 9) medan *N. alba* hade en ljusbrun fläck i mitten med en mörkare ring runtomkring (bild 10).



Bild 9. Symptomer av *N. perennans*(Balsgård, foto: I. Tahir)



Bild 10. Symptomer av *N. alba* (Kivik, foto: I. Tahir)

Efter undersökningen av symptom på frukter, identifierades arterna enligt morfologin av artmycelium på olika medier (*N. perennans* som vit-gulaktig och bomullsformig "bild 11"; och *N. alba* som vit-gråaktig och luddig "bild 12"), spormorfologin (*N. alba* som är bågformade "bild 13" eller *N. Perennans* som är svagt böj-formad med spetsiga ändrar "bild 14") och enligt PCR.



Bild 11. Myceliumsmorfologin av *N. perennans* (Kivik, foto: I. Tahir)



Bild 12. Myceliumsmorfologin av *N. alba* (Balsgård, foto: I. Tahir)

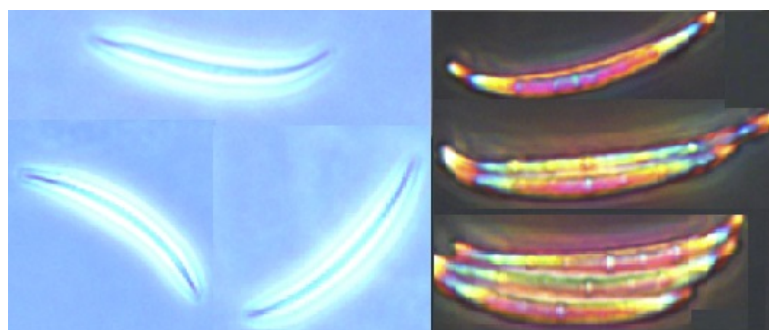


Bild 13. Spormorfologin av *N. alba* (Balsgård, foto: I. Tahir)



Bild 14. Spormorfologin av *N. perennans* (Kivik, foto: I. Tahir)

Neofabraea arter angriper frukten redan i odlingen och orsakar små döda fläckar på skalet som sprider sig in i frukten under fuktigt väder. Sporerne ligger latent i lenticellerna eller som sår på skalet innan de börja växa när frukten har nått en viss mognadsfas i lagret. Fruktar är mest mottagliga för angreppet strax efter blomning och känsligheten minskar under sommaren för att åter öka något, närmare skörden. Om blommorna infekteras kan sjukdomen utvecklas under odlingssäsongen men smittan kan också ligga latent och utvecklas först när frukten ligger i lagret (Mari et al. 2002; Weibel et al. 2005). Växtskyddsbehandling bör göras redan i samband med att blomningen avslutas för att minska risken för rester av bekämpningsmedel i frukten.

Bitterröta som orsakas av *C. acutatum* observerades som den näst farligaste skadegöraren under fruktlagring i alla försöksdelar. Svamparten identifierades enligt symptom på frukt. För att förstärka identifieringens trovärdighet bedömdes svampen enligt mycelium-morfologin

(rosa-krämformade på PDA ”bild 15”) och enligt konidia-morfologin (cylinderformade med trubbiga ändar ”bild 16”).



Bild 15. Myceliumsmorfologin av *C. acutatum* (Kivik, foto: I. Tahir)



Bild 16. Konidia-morfologin av *C. acutatum* (Kivik, foto: I. Tahir)

Angreppet kan få ett epidemiskt förlopp vid varmt och fuktigt väder. Svampen övervintrar i fruktmumier, drabbade skott, ogräs, och knoppar. Blomknoppar och blad är mer mottagliga än bladknoppar och skott (Weber, 2011).

Grönmögel (som orsakas av svampen *P. expansum*) går även under benämningen mjuk röta och uppträder vanligtvis i slutet av lagringen. Svamparten är mycket aggressiv och deras sporer kan sprida sig via luften. *P. expansum* identifierades enligt symptom på frukt, myceliumsmorfologin (grön – blågrön ”bild 17”) och enligt konidia morfologin (klotformig ”bild 18”).

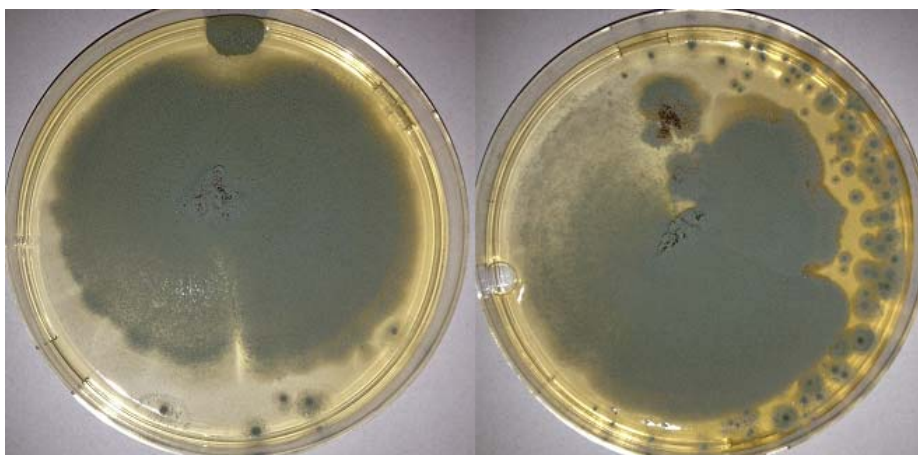


Bild 17. Myceliumsmorfologin av *P. expansum* (Kivik, foto: I. Tahir)

Fruktmögel orsakas framför allt av svampen *M. fructigena*. Fruktmöglet noterades i nästan alla försöksdelar och identifierades enligt symptom på frukt, och enligt konidia-morfologin ”bild 19”.

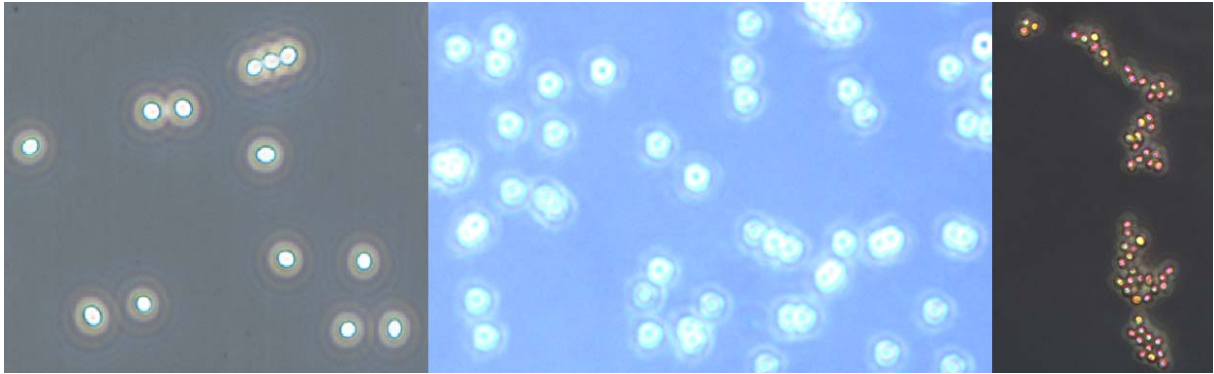


Bild 18. Konidia-morfologin av *P. expansum* (Kivik, foto: I. Tahir)

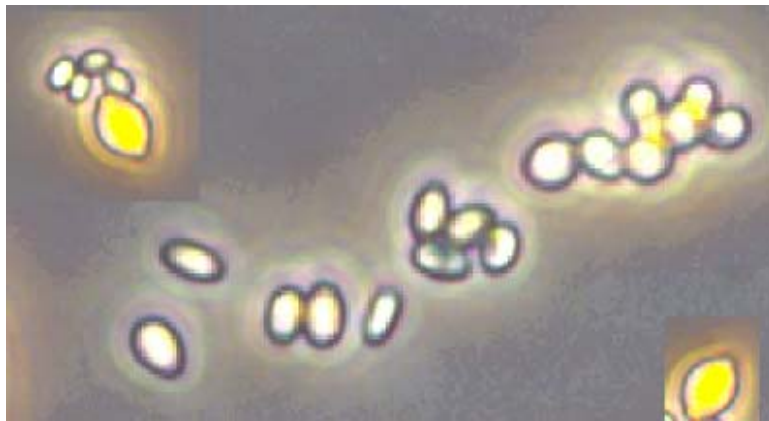


Bild 19. Konidia-morfologin av *M. fructigena* (Kivik, foto: I. Tahir)

M. fructigena infekterar frukten genom skador eller sår i skalet som kan orsakas av insekter eller någon form av stötskada. Angripna frukter skrupnar ihop till fruktmumier som blir rika källor för nya infektioner. Grönmögel (*Botrytis cinerea*) och övriga svamparter identifierades enligt symptom på frukter.

Alla prover som analyserades med PCR bekräftade att den okulära besiktningen av svampangreppen har varit korrekta (bild 20).

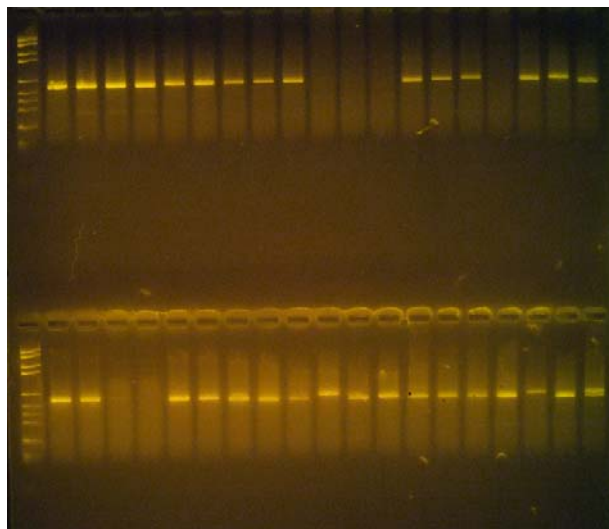
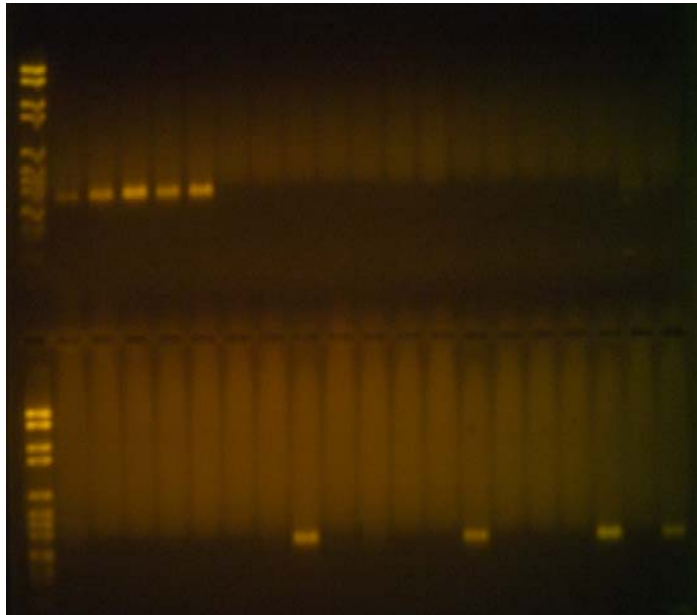


Bild 20. All proverna visade svampangrepp enligt PCR analys

Identifieringen baserat på mycelium- respektive konidiamorfologi överensstämde med PCR identifieringen av *N. alba* (bild 21).



*Bild 21. Prover som visar *N. alba* enligt PCR analys.*

Miljövänliga bekämpningsmetoder

Vid konventionell äppleodling behandlas fruktträden vid minst två tillfällen med kemiska bekämpningsmedel för att förhindra utveckling av svamprelaterade lagrings rötter. Den tillåtna användningen av kemiska fungicider innan skörd blir alltmer begränsad även för IP-odlare, speciellt för odlingar belägna på vattenskyddsområden. Således har undersökningen av de nya alternativa och miljövänliga behandlingarna (så kallade "naturliga" fungicider), blivit ett viktigt önskemål. Till dessa hör exempelvis biologisk kontroll, uppvärmning samt behandlingar med harmlösa medel som vinäger, etanol m.m.

Varmt vatten

Uppvärmning efter skörd har använts i flera år för att kontrollera svampangreppet (i Tyskland mot *Gloeosporium*röta, i Israel mot *Penicillium sp.* och i andra europeiska länder mot frukttröta och gråmögel) (bild 22). Olika former av värmebehandling på frukten direkt efter plockning har visat sig ha mycket god effekt på just *Neofabraea sp.* och gråmögel. Äpplen är täckta med en hinna som består av kutin och vax. Denna hinna skyddar äpplena mot infektioner, stötskador och vattenförluster.

I början på säsongen bildas sprickor i hinnan vilka så småningom utvecklas till ett nätverk på skalet. Vid uppvärmning ökar vaxmängden och dess struktur ändras så att nätverket av sprickor försvinner och istället ansamlas vaxskiktet i kuddliknande områden. Dessa "krockkuddar" dämpar eventuella stötar och reducerar därmed stötskadorna (Tahir et al., 2009). Även lenticeller och mindre sår täpps igen vilket försvårar för svampen att angripa genom dessa öppningar. Samtidigt bidrar uppvärmningen till att stärka försvarsmekanismerna

hos frukten och hämma patogenas tillväxt. Uppvärmad frukt är allmänt mer plastisk än kall frukt och har därmed bättre möjligheter att motstå stötskador. Uppvärmningen minskar även enzymerna polygalakturonas och galaktosidas vilket innebär att cellväggarna bryts ner i långsammare takt. Därmed erhålls fastare äpplen med mindre lösligt pektin och mer olösligt pektin. Man har också funnit att dessa väggar binder till sig mer kalcium jämfört med kalla äpplen (Lurie, 1998).

I en tidigare studie studerade effekterna vid efterskörd-behandling av äpplen i Sverige. Resultaten gav vid handen att uppvärmningsbehandling är en verksam och säker alternativ metod till kemiska medel men att uppvärmningstemperaturen och perioden måste anpassas till respektive sort. För de fyra sorterna som ingick i försöket ("Aroma", "Amorosa", "Ingrid Marie" och "Karin Schneider"), hade uppvärmningen på 30–40° C, under 48 timmar, en tydligt positiv effekt. Uppvärmningen minskade andelen rutten frukt med 80 % hos alla fyra sorter. Uppvärmad "Aroma" och "Amorosa" var 10 % fastare och 6 % sötare än obehandlad frukt. Uppvärmad "Ingrid Marie" och "Karin Schneider" var 20-30% fastare och 25 % sötare än obehandlad frukt. Sorterna visar dessutom olika motståndskraft mot fruktrötter.

I Danmark, har doppning i varmt vatten rekommenderats som en effektiv metod mot olika svampangrepp (Maxin, 2012). Dessutom har, en ny lagringssjukdom som orsakas av svampen *Phacidiopycnis washingtonensis*, identifierats och varmt vatten har visat sig ha en bra effekt på svampen. Fruktar som infekteras naturligt med *N. perennans*, *N. alba*, *B. cinerea*, *P. expansum*, *M. fructigena*, *C. acutatum*, mm. och doppas eller duschas med varmt vatten i olika kombinationer av tid och temperatur har bra lagringsduglighet.



Bild 22. Efterskördbehandlingen med varmt vatten.

Mikroorganismer

Användningen av antagonistiska mikroorganismer för att förhindra lagringsröta i äpplen har rapporterats. Organismer som vissa jästarter och bakterier har visat sig ha positiva effekter på lagringssjukdomar, i användningen för sig själv eller i kombination med växthormoner och kemikalier (Janisiewicz mfl. 2008).

Bioaktiva föreningar

Vissa bioaktiva föreningar kan hämma tillväxten av svamp hos äpple (Neri et al., 2009). Många växtoljor från kryddor och örter, som ofta används i vår dagliga kost, kan också hämma svampangrepp. Essentiella oljor (EO), som i kryddor ger smak till mat, innehåller även ämnen som motverkar bakterie- och svamptillväxt (Romanazzi et al., 2007). EO består av terpenoider, sequiterpener och diterpener, som har många olika funktionella grupper som alkoholer, aldehyder, acykliska estrar och laktoner (Tajkarimi et al., 2010). Eugenol från kryddnejlikor och basilika är den mest aktiva komponenten mot svampangrepp (*B. cinerea* och *M. fructigena*) hos äpple (Amiri et al., 2008). Växtoljor och flyktiga ämnen, från pepparmynta, lavendel och sojabönor har också visat sig ha en hämmande effekt på *B. cinerea* (Chu et al., 1999), *M. fructicola*, i körsbär (Chu et al., 2001) och i aprikos (Liu and Chu, 2002). Dessa ämnen har aldrig använts i svenska packerier tidigare. EO har undersökts vid SLU och resultaten fastställde att Tymol och Citral reducerar svampangreppet hos äpple (Tahir 2014) (bild 23).

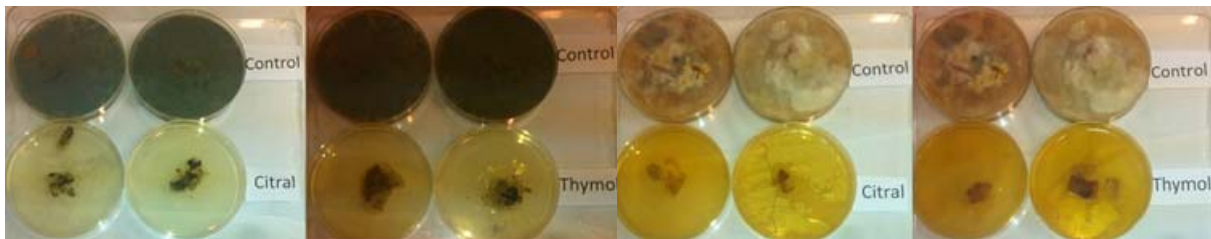


Bild 23. Tymol och Citral effekt på tillväxten av *P. expansum* respektive *Neofabraea* sp. (Alnarp, foto I. Tahir)

Ozon

Ozon är en gas med tre syreatomer; O_3 , och har i USA klassificerats som Generally Recognized As Safe (GRAS) och är tillåtet för behandling av livsmedel. I höga doser är det dock skadligt att inandas för människor och djur, och även växter som utsätts för höga halter kan skadas (Vandersmissen, 2008). Ozon attackerar mikroorganismers cellmembran och sporer (Suslow, 2004) och förhindrar därmed patogentillväxten. Olika frukter bl.a. björnbär, jordgubbar, tomater, vindruvor, plommon, morötter, persikor och tranbär behandlades med ozon i England, Frankrike, Argentina, Spanien och USA, för att minska svampangrepp. Ozon kan tillsättas under hela lagringstiden i låga koncentrationer, eller bara i början av lagringen. Det är viktigt att använda rätt koncentration på ozonbehandlingen, för hög exponering kan som sagt ge negativa effekter. Ozonbehandlingen kan även minska patogensporsspridning, öka halten vitamin C och förbättra fruktens hållbarhet.

Referens

- Amiri, A. and Bomeix, G. 2005. Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre- and postharvest environments: consequences for decay development. *Plant Pathol.* 54:74–81.
- Amiri A., Dugas R., Pichot A.L., 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.
- Børve, J., Stensvand, A. 2007. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. *Plant Health Progress* doi, 10.1094/PHP-0522-01-RS.
- Chu, C.L., Liu, W.T., Zhou, T. and Tsao, R., 1999. Control of post harvest gray mold rot of modified atmosphere packaged sweet cherries by fumigation with thymol and acetic acid. *Can. J. Plant Sci.* 79:685–689.
- Chu, C.L., Liu, W.T. and Zhou, T., 2001. Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce post harvest brown rot and blue mold rot. *Fruits* 56:123–130.
- Henriquez, J.L., Sugar, D., Spotts, R.A. 2004. Etiology of bull's eye rot of pear caused by *Neofabraea* spp. in Oregon, Washington, and California. *Plant Disease* 88:1134-1138.
- Holb, I.J. 2008. Monitoring conidial density of *Monilinia fructigena* in the air in relation to brown rot development in integrated and organic apple orchards. *European Journal of Plant Pathology* 120:397-408.
- Janisiewicz, W., Saftner, R., Conway, W., och Yoder, K. 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Biol Technol* 49: 374-378.
- Johnston, P.R., Jones, D., 1997. Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rot assessed using rDNA sequences. *Mycologia* 89, 420–430.
- Liu, W.T., Chu, C.L. and Zhou, T., 2002. Thymol and acetic acid vapors reduce post harvest brown rot of apricot and plums. *HortScience* 37:151–156.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 14:257-269.
- Mari M., Leoni O., Iori R., Cembali T. 2002. Antifungal vapour-phase of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. *Plant Pathol.* 51:231–236.
- Maxin, P. 2012. Improving apple quality by hot water treatment. PhD Thesis, Aarslev; Denmark
- Neri, F., Mari, M., Brigati, S., och Bertolini, P. 2009. Control of *Neofabraea alba* by plant volatile compounds and hot water. *Postharvest Biol Technol* 51: 425-430.
- Pitt, J.I., 1979. *The Genus Penicillium*. Academic Press, London.
- 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.
- Suslov 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. Dissertation 2006:35, SLU.
- Tahir I.I., Nybom H. 2008. Jämförande försök med skorvresistenta äpplesorter. *Fakta från Partnerskap Alnarp*, 8:1–4.

- Tahir, I., Johansson, E. och Olsson, M. 2009. Improvement of Apple Quality and Storability by a Combination of Heat Treatment and Controlled Atmosphere Storage. *HortScience* 44(6):1648–1654.
- Tahir, I. and Nybom, H. 2013. Tailoring Organic Apples by Cultivar Selection, Production System, and Post-harvest Treatment to Improve Quality and Storage Life. *HortScience* 48(1):92–101.
- Tahir, I. 2014. Bekämpning med ”naturliga fungicider” mot lagringssjukdomar Förstudie. LTJ rapport nr. 6
- Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A., Cliver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21 (2010) 1199–1218.
- Vandersmissen, K. 2008. Advanced Oxidation Processes in Ozonated Water Systems: An Experimental and Theoretical Study. PhD Dissertation, Katholieke Universiteit Leuven, Faculteit Wetenschappen, Departement Chemie, ISBN-nummer: 978-90augusti649-146-9.
- Verkley, G.J.M., 1999. A monograph of the genus *Pezizula* and its anamorphs. *Stud. Mycol.* 44, 1–180.
- Weber, R.W.S., 2011. *Phacidiopycnis washingtonensis*, cause of a new storage rot of apples in Northern Europe. *J. Phytopathol.* 159, 682–686.
- Weber, R. och Roland, W. 2009. An evaluation of possible effects of climate change of pathogenic fungi in apple production using fruit rots as examples. *Erwerbsobtsbau* 51: 115-120.
- Weibel F., Hahn P., Lieber S., Häseli A., Amsler T., Zingg D. 2005. Lutte contre *Gloeosporium* (album et perennans) des pommes biologiques post-recolte avec des produits oxidants et des eaux électrolytiques, et pre-recolte avec differents produits biologiques entre 2001–2004. *Journées Techniques Fruits & Légumes et Viticulture Biologiques*, p. 120.
- Xiao, C. L., and Kim, Y, K. 2008. Postharvest fruit rots in apples caused by *Botrytis cinerea*, *Phacidiopycnis washingtonensis*, and *Sphaeropsis pyriputrescens*. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2008-0919-01-DG.