

Avdeling Evenstad

Vetle S. Lindgren

## Rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger *Hymenoscyphus fraxineus* i asketrær *Fraxinus excelsior* i Norge

Root collar infections caused by *Hymenoscyphus fraxineus* in ash trees *Fraxinus excelsior* in Norway



Foto: Vetle S. Lindgren

Bachelor i utmarksforvaltning

2017

Samtykker til utlån hos høgskolebiblioteket JA  NEI   
Samtykker til tilgjengeliggjøring i digitalt arkiv Brage JA  NEI

## Innhold

Sammendrag.....	3
Abstract .....	4
Forord .....	5
1. Innledning .....	6
2. Materiale og metode .....	9
2.1 Studieområde.....	9
2.2 Datainnsamling.....	11
2.3 DNA-isolering av honningsopp .....	15
2.4 DNA-analyse av askeskuddbeger.....	16
3. Resultater .....	17
4. Diskusjon .....	24
4.1 Andre funn i undersøkelsen.....	26
4.2 Konklusjon .....	27
5. Referanseliste.....	28

## Sammendrag

Askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxineus*) truer den europeiske askens (*Fraxinus excelsior*) overlevelse over store deler av Europa. Soppen infiserer vanligvis trekrona, men i Belgia, Frankrike og Tsjekkia har man sett at soppen også kan infisere rothalsen på treet. Sommeren 2016 undersøkte jeg asketrær i områder rundt Oslofjorden. Målet med undersøkelsen var å påvise at det finnes rothalsinfeksjoner forårsaket av askeskuddbeger også i Norge. Videre ville jeg prøve å beskrive noe av rothalsinfeksjonenes påvirkning på asketrærne.

134 asketrær ble undersøkt. Jeg fant nekroser forårsaket av askeskuddbeger i rothalsen hos 71 trær visuelt, ved hjelp av et tilvekstbor. I tillegg påviste jeg askeskuddbeger i rothalsen på 3 av disse trærne ved hjelp av DNA-analyse. Fem trær hadde rothalsinfeksjon uten å være infisert i trekrona, noe som tyder på at askeskuddbeger i rothalsen ikke er en sekundær infeksjon. Jeg fant en signifikant forskjell i kronetetthet mellom trær med og uten rothalsinfeksjon av askeskuddbeger. Trær uten rothalsinfeksjon hadde en kronetetthet på 76,7 %, mens trær med rothalsinfeksjon hadde en kronetetthet på 63,5 %.

Videre påvise jeg skoghonningsopp og hagehonningsopp i rothalsen på asketrær ved hjelp av DNA-analyse. Disse var til stede i rothalsen sammen med askeskuddbeger i 45 % av tilfellene. Mine resultater viser også at andelen asketrær med rothalsinfeksjon av askeskuddbeger avtar jo større trærne blir.

Dette studiet bekrefter for første gang at askeskuddbeger er til stede i rothalsen til asketrær i Norge. Asken går en usikker fremtid i møte, men som det har blitt vist i flere europeiske land, klarer noen asketrær seg bedre enn andre, også her til lands.

## Abstract

Ash dieback is caused by *Hymenoscyphus fraxineus*, an invasive ascomycete threatening the survival of the European common ash (*Fraxinus excelsior*) in large parts of Europe. The fungus usually infects the crown of the tree, but in Belgium, France and Czechoslovakia it has been observed that it can also attack the root collar of the tree directly. In the summer of 2016 I investigated ash forests in areas around Oslofjorden, to see if root collar infections caused by *H. fraxineus* also occurs in Norway.

134 ash trees were investigated. Necrosis caused by *H. fraxineus* was found visually on 71 trees by using a long hollow drill for wood samples. I also found *H. fraxineus* in 3 of these trees by performing a DNA-test. Five trees were infected in the root collar without being infected in the crown, suggesting that the attack of *H. fraxineus* in the root collar is not a secondary infection. I found a significant difference in crown density among trees with and without root collar infection. Trees without root collar infection had a crown density of 76,7 %, while trees with infection in the root collar had a crown density of 63,5 %.

Furthermore, I detected *Armillaria borealis* and *Armillaria cepistipes* in the root collar of ash trees by performing a DNA-test. I found that these were also present in the root collar together with *H. fraxineus* in 45 % of the cases. My results also indicate that the proportion of ash trees infected by *H. fraxineus* in the root collar declines as the trees get bigger.

This study confirms for the first time that *H. fraxineus* is present in the root collar of ash trees in Norway. The future of the ash tree does not look bright, but as has been shown in studies in other European countries, some trees are doing better than others in Norway as well.

## Forord

Da jeg gikk i gang med denne oppgaven, og ikke minst datainnsamlingen, hadde jeg veldig lite erfaring på området. Dette gjaldt både tema og metodikken rundt datainnsamling. Det er forskjell på teori og praksis, og noe som kan virke enkelt i planleggingsfasen kan vise seg å bli vanskeligere enn antatt. I tillegg har jeg lært at ting som regel tar lengre tid enn man tror, og at det er viktig å være forberedt, også på uforutsette hindringer på veien.

Jeg vil takke Halvor Solheim på NIBIO som har vært min eksternveileder, som har delt av sin kunnskap og erfaring, og hjulpet meg gjennom hele prosessen. Videre vil jeg takke Antonio Bjørn Stefano Poleo, som har vært min internveileder på campus Evenstad. Hans kritiske spørsmål, korrekturlesing og gode forklaringer har vært til uvurderlig hjelp. Jeg vil også takke Kjartan Østbye og medlemmene i ferskvannsekologigruppa på Evenstad for spørsmål og tilbakemelding underveis. Da jeg isolerte og analyserte sopprøver hos NIBIO, fikk jeg hjelp av Ari Hietala og Anne Eskild Nilsen. Jeg vil takke dem for all hjelpen jeg fikk da jeg drev med noe jeg aldri hadde gjort før. Jeg vil også takke Terje Olav Ryd (skogbrukssjef i Lier kommune) og Ellen Finne (seniorrådgiver i landbruksavdeling hos fylkesmannen i Vestfold) for hjelp til å finne områder med ask til datainnsamlingen. Takk til Øystein Røsok hos fylkesmannen i Oslo og Akershus for dispensasjon til prøvetaking i Åstad naturreservat i Asker kommune. Til slutt vil jeg takke alle grunneiere som har stilt skogen sin til disposisjon for min undersøkelse.

Evenstad, 28. april 2017

Vetle Schwensen Lindgren

## 1. Innledning

Europeisk ask (*Fraxinus excelsior*) er en varmekjær løvtreeart som er utbredt over den europeiske tempererte sonen, fra atlantehavskysten i vest til Volga i øst (Beck, Caudullo, Tinner & de Rigo 2016). I Norge finnes den naturlig på Østlandet nord til Elverum og langs hele kysten opp til Nærøy i Nord-Trøndelag. Asketreet blir normalt rundt 200 år, men det finnes også eksempler på trær som har blitt 500 år. Tidligere ble asken godt utnyttet, særlig innen medisin (Urtekildens planteleksikon, 2010). Ask er et solid og hardt treslag, og blir blant annet brukt til møbler, gulv og som skaft til redskaper. Tidligere ble ask også brukt til formål der stålet i senere tid har overtatt (Beck et al. 2016).

Den europeiske asken er i dag i sterk tilbakegang i store deler av Europa som følge av askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxineus*), en sopp som angriper asketreet (Gross et al. 2013, Kowalski 2006). Soppen ble første gang oppdaget på europeisk ask i Polen i 1992, og hadde i 2011 spredt seg til 22 europeiske land (Timmermann et al. 2011). Soppen ble første gang oppdaget i Norge i 2008 (Talgø et al. 2009). I 2015 var det kun askebestandene nord for Trondheimsfjorden, som utgjør den europeiske askens nordligste utbredelsesområde, som ikke var angrepet i Norge (Solheim 2015).

Det er antatt at askeskuddbeger er av nord-øst asiatiske opprinnelse (Zhao et al. 2012), der den lever i symbiose med asiatiske ask (*Fraxinus mandshurica*) (Mckinney et al. 2014). Den har trolig kommet til Europa med infisert plantemateriale. Det er i dag enighet om at soppsporene produseres på råtnende bladverk av ask i sommerhalvåret (Figur 1), for så å spres med vinden (Timmermann et al. 2011, Zhao et al. 2012, Chandelier et al. 2014). I tillegg kommer



Figur 1. Hvite fruktlegemer av *H. fraxineus* på stilken til et vissent askeblad.

flytting av infisert ask og sporer ved menneskelig hjelp (Dandy, Marzano Porth, Urquhart & Potter 2017). Typiske symptomer på askeskuddbeger hos ask er visnende bladverk, døde skudd, nekroser i bark og stamme, samt misfarge i veden (Gross et al. 2013, Kräutler & Kirisits 2012). Det ser ut til at soppen først angriper bladene, for så å spre seg inn i veden om den rekker det før bladfelling (Kirisits & Cech 2009, Schumacher 2011). Et asketre angrepet av

askeskuddbeger vil ofte ha døde greiner ytterst i trekrona, med tettere bladverk lenger inn mot stammen. Ofte har infiserte trær vannris, som er en mengde små skudd med blader treet produserer for å kompensere for det døde bladverket lenger ut i krona (Solheim 2012). Asketreet er sårbart mot vårfrost (Boswell & Kerr 2001). På avstand kan døde skudd som følge av dette i noen tilfeller se ut som angrep av askeskuddbeger.

Noe som er mindre studert er rothalsinfeksjoner i asketrær, som også forårsakes av askeskuddbeger. Rothalsen er området der rota går over i stammen, ved treet base. Det ser ut til at det i noen tilfeller kan skje en direkte infeksjon i rothalsen på treet (Lygis, Vasiliauskas, Larsson & Stenlid, 2005). Dette kjennetegnes ved brun misfarge i veden, som trenger inn mot treet kjerne som en kile. Dette er en nekrose. Nekrosen kan strekke seg noen titalls centimeter oppover i stammen, men avtar gradvis i utbredelse med høyde over bakken. En studie fra Frankrike avdekket at asketrær som viste symptomer på vanlig infeksjon av askeskuddbeger i trekrona også hadde symptomer i rothalsen, og at disse ikke hadde fysisk forbindelse med andre infeksjonsområder i krona (Husson et al. 2012). Dette kan tyde på en separat infeksjon av samme sopp. I *Tsjekkia* påviste man askeskuddbeger i rothalsen på 44 % av undersøkte trær (Havrdová et al 2016). At askeskuddbeger også trenger inn i rothalsen, akselererer trolig den allerede pågående nedbrytningsprosessen som finner sted hos asketrærne betraktelig (Enderle, et al. 2013). I både Belgia og Frankrike har man funnet en sammenheng mellom fuktigheten i området og hyppigheten av rothalsinfeksjoner (Chandelier et al. 2016, Marçais et al. 2016).

Honningsopp (*Armillaria spp.*) er en utbredt hattsoppslekt med fire arter i Norge (Solheim & Børja 2013). Soppen er en av de viktigste årsakene til død og forråtnelse hos både løvtrær og bartrær verden over (Wargo & Shaw 1985). I enkelte tidligere studier har det vært antatt at honningsopp har vært den eneste soppen som har infisert rothalsen (Skovsgaard et al. 2009). I en belgisk studie tok man prøver av rothalsen til asketrær og fant at 95 % av prøvene som inneholdt honningsopp, også inneholdt askeskuddbeger (Chandelier et al. 2016). En mulig årsak til dette er at trær som allerede er svekket av askeskuddbeger lettere rammes av honningsopp (Lygis et al. 2005).

I Norge foreligger ingen data som bekrefter utbredelsen av rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger. Målet med denne studien har derfor vært å påvise rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger i utvalgte askeskoger i Akershus, Buskerud og Vestfold. Jeg ville finne utbredelsen og omfanget av soppen i disse områdene. I tillegg var det et mål å forsøke å beskrive rothalsinfeksjonenes påvirkning på asketrærne. Jeg registrere også om de asketrærne jeg

undersøkte var infisert av honningsopp. Basert på dette satte jeg opp tre spørsmål, med tilhørende hypoteser som jeg ville teste: (1) Er rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger tilstede i askeskoger i Norge? (2) Er infeksjon av askeskuddbeger i rothalsen til asketrær en sekundær infeksjon? Kanskje er trær med en allerede svekket trekrone mer mottakelige for en infeksjon i rothalsen? I så fall vil jeg ikke finne trær som kun er angrepet av askeskuddbeger i rothalsen. (3) Er det en forskjell mellom kronetettheten til trær med og uten rothalsinfeksjon av askeskuddbeger? Det kan hende at trær som allerede er svekket av vanlig infeksjon i trekrona vil være mer mottakelig for en infeksjon i rothalsen?

Spørsmål 1:

$H_0$ -Det finnes ikke rothalsinfeksjoner i askeskogene jeg undersøker, og jeg kan dermed ikke bekrefte at de er tilstede i Norge.

$H_1$ -Det finnes rothalsinfeksjoner i en eller flere av askeskogene jeg undersøker, og jeg kan dermed bekrefte at de er tilstede i Norge.

Spørsmål 2:

$H_0$ -Jeg finner trær som kun er infisert i rothalsen, noe som kan tyde på at det ikke er en sekundær infeksjon.

$H_1$ -Jeg finner ikke trær som kun er infisert i rothalsen, noe som kan tyde på at det er en sekundær infeksjon.

Spørsmål 3:

$H_0$ -Det er ingen forskjell i kronetetthet mellom trær med og uten rothalsinfeksjon av askeskuddbeger.

$H_1$ -Det er en forskjell i kronetetthet mellom trær med og uten rothalsinfeksjon av askeskuddbeger.



## 2. Materiale og metode

### 2.1 Studieområde

Studieområdet mitt har vært kystnære skoger rundt Oslofjorden, i fylkene Akershus, Buskerud og Vestfold (Figur 2). Disse fylkene ligger innenfor den boreonemorale sonen, som er en overgangssone mellom den boreale barskogen og den nemorale edelløvskogen (Sunding 2011). Studiepopulasjonene er bestander av ask og edelløvskoger med høyt innslag av ask.



Figur 2. Kart over studieområdet og hvor det ligger plassert i Norge. 6 områder ble undersøkt. De røde prikkene representerer de enkelte feltene som ble undersøkt, totalt 10.

For å få tilgang til områder å undersøke var det nødvendig å innhente tillatelse fra grunneiere. Noen felter tilhørte Universitetet i Ås og var allerede klarert, mens andre var naturreservater hvor det var nødvendig å søke fylkesmennene om tillatelse. Her var det bare Åstad naturreservat i Asker kommune som ble klarert, av fylkesmannen i Oslo og Akershus. På privat grunn var det ingen formaliteter når det gjaldt tillatelser, men det var utfordrende å finne egnede områder med ask og i tillegg få tak i grunneiere.

Innsamlingen av data foregikk sommeren 2016. Det var nødvendig å gjøre dette om sommeren, fordi man er avhengig av bladverk for å kunne måle kronetettheten. Snø og tele ville også i mange tilfeller budt på problemer ved inspeksjon av rothalsen. I løpet av november samlet jeg prøver til DNA-analyse av fire forskjellige infiserte asketrær, for å bekrefte at askeskuddbeger var tilstede i rothalsen. For honningsopp samlet jeg inn 12 forskjellige prøver fra to tilfeldige trær i hvert område.

Seks områder rundt Oslofjorden ble undersøkt. Innenfor fire av disse områdene hadde jeg to felter med ask som jeg undersøkte (Tabell 1). Feltene bestod i hovedsak av blandingsskog, men tre av dem inneholdt bare ask. Det er uvisst om dette var plantede eller kun skjøttede bestander. Alle trærne i hvert områdene ble slått sammen i datasettet.

Tabell 1. Oversikt over de ulike områdene jeg besøkte og typen skog som ble undersøkt

Område	Felt	Skogtype
Ås	Ås 1	Blandingsskog
	Årungen	Kun ask
Åstad	Åstad	Blandingsskog
Lier	Lier	Blandingsskog
Grimsrud	Grimsrud 1	Blandingsskog
	Grimsrud 2	Blandingsskog
Våle	Våle 1	Blandingsskog
	Våle 2	Kun ask
Falkensten	Falkensten 1	Kun ask
	Falkensten 2	Blandingsskog

## 2.2 Datainnsamling

Under datainnsamlingen brukte jeg samme metode som i en studie fra Belgia (Chandelier et al. 2016). Denne gikk ut på å velge seg ut et tre i sentrum av den aktuelle bestanden, for så å velge seg ut tilfeldige asketrær i en radius rundt dette treet. Det var ingen standardisert størrelse på radiusen, størrelsen ble bestemt av tettheten av asketrær i området og antallet asketrær jeg registrerte. Jeg tok ut kompasskurs og målte skrittlengden i retningen av de forskjellige trærne jeg valgte meg ut fra senterreet. Dette for å kunne finne tilbake til de samme trærne senere om det skulle bli nødvendig. Kun trær med en diameter i brysthøyde (DBH) på over 10 cm ble målt og undersøkt. Mindre trær er det praktisk sett vanskeligere å undersøke i rothalsen, og observasjonene blir sikrere med større dimensjoner på trær. Små trær har ofte skudd lenger ned på stammen, som kan være infisert på vanlig måte. Dette gjør at man kan forveksle en vanlig infeksjon med en rothalsinfeksjon. DBH ble målt med en diameterklave. Senere klassifiserte jeg trærne i fem størrelsesgrupper basert på DBH; 10 – 15 cm, 15 – 25 cm, 25 – 35 cm, 35 – 45 cm og >45 cm, i henhold til det belgiske studiet (Chandelier et al. 2016).

Fuktigheten anslo jeg på en skala fra 1 – 5, både for hvert tre og for hvert felt som ble undersøkt. Jeg brukte ikke en standardisert metode for måling av fuktighet. Helningsgrad, type vegetasjon, skogens tetthet og nærheten til vann var ting jeg brukte som vurderingsparametere da jeg skulle bedømme fuktigheten i et område eller rundt et tre.

I hvert felt undersøkte jeg om lag 15 trær, avhengig av tettheten av ask og topografien i området. Noen ganger står askene ganske tett, andre ganger er de mer spredt utover i blandingsskog. 15 trær var derfor et passelig antall, slik at det undersøkte området ikke skulle bli altfor stort i de feltene hvor askene stod spredt. 15 var også et antall det var mulig å oppnå i de fleste feltene, ettersom en del av områdene var kuperte og ikke inneholdt så mange asketrær. For lettere å finne tilbake til hvert enkelt tre senere var det også en fordel at de ikke sto veldig langt fra senterreet.

Kronetettheten er mengden blader som gjenstår i krona og sier noe om hvor hardt trekronen er angrepet. Kronetettheten anslø jeg i prosent, etter øyemål (Figur 3). Jeg noterte også hvorvidt treet hadde vannris. For å undersøke om det er en statistisk signifikant forskjell i kronetetthet mellom trær med og uten rothalsinfeksjon, utførte jeg en to utvalgs t-test med antatt lik varians i Excel. P-verdi  $<0,05$  ble regnet som signifikant.

I tillegg til å se etter askeskuddbeger noterte jeg om treet var angrepet av honningsopp. Dette gjøres ved å se etter mycelflak og rhizomorfer under barken nær rota. Her er det få forvekslingsarter, men for å være sikker samlet jeg inn prøver til DNA-analyse.



Figur 3. *Asketre (Fraxinus excelsior) infisert av askeskuddbeger (Hymenoscyphus fraxineus) i trekrona (midt i bildet). Her ble kronetettheten anslått til 40 %. Treet har også vannris (nye skudd med blader inn mot stamme og større grener).*



For hvert tre foretok jeg også en boreprøve med tilvekstbor, for å se etter misfarge i veden. Brune områder i boreprøven er et kjennetegn på rothalsinfeksjon (Figur 4). Det er viktig å ikke tolke mørk kjerneved som tegn på infeksjon. Etter inspeksjon ble kjerneprøven satt tilbake og hullet fylt med silikon. Dette for å sikre at treet ikke skulle bli infisert ytterligere, både av askeskuddbeger og andre sopparter. I verneområdene var det viktig å skade trærne minst mulig, mens det på privat grunn i de fleste tilfeller var akseptabelt å skave av bark og felle en del trær for å få bedre og sikrere data. Der dette ble gjort, baserte den visuelle vurderingen av rothalsen seg på bilder av infeksjoner fra lignende studier, samt jevnlig korrespondanse av bilder med veileder.



Figur 4. Boreprøve fra asketre (*Fraxinus excelsior*). Her er det infeksjon i rothalsen.

I november 2016 var jeg tilbake i noen av feltene for å samle inn prøver av både askeskuddbeger og honningsopp. Dette ble gjort for å bekrefte at det faktisk var disse soppartene som var til stede. For honningsopp var det tilstrekkelig å samle inn mycelflak (Figur 5) eller rhizomorfer (Figur 6), men for å få prøver av askeskuddbeger i rothalsen (Figur 7) felte jeg fire mindre trær og tok med hele stammen inn på laboratoriet, delt i biter for lettere håndtering. Det var viktig å ha med hele stammen for å få med hele nekrosen oppover i treet. Stokkene ble så fryst ned i noen uker frem til DNA-analyseringen skulle begynne.



Figur 5. *Mycel*flak (hvitt område) av honningsopp (*Armillaria* spp.).



Figur 6. *Rhizomorph* av honningsopp (*Armillaria* spp.).



Figur 7. Rothalsinfeksjon med nekrose i felt asketre, trolig forårsaket av askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxineus*).

### 2.3 DNA-isolering av honningsopp

DNA-isolering fra 12 honningsopp-prøver ble gjort i desember 2016, hos Norsk Institutt for Bioøkonomi (NIBIO) på Ås. Her hadde jeg med meg en fagperson under hele prosessen. Dette var til stor hjelp siden det var første gang jeg var med på å isolere DNA. Dette er en tidkrevende og møysommelig prosess hvor det er viktig å være nøye hele veien. Redskaper skal steriliseres jevnlig, og det er viktig å bruke riktige doser av de forskjellige løsningene. For å kunne stole på resultatet er det avgjørende at man er nøye med ikke å blande innholdet i de forskjellige rørene. Dette innebærer at man må håndtere prøvene varsomt, bytte plasthansker ofte og at man er forsiktig når man fører pipetten fra prøven og bort til søppelbøtta, så man ikke risikerer at en dråpe fra en prøve faller ned i en annen.

Det var kun prøver av mycelflak jeg isolerte DNA fra, fordi disse var lettest å knuse for å få ut DNAet. Vi dupliserte de 12 opprinnelige prøvene til 12 ITS1-delprøver og 12 ITS4-delprøver. Det brukes primere for å kutte RNA/DNA-strengen på utvalgte steder. For sopp bør ITS-regionen (ITS1 & ITS2) benyttes ved artsbestemmelse, ifølge Halvor Solheim (personlig kommunikasjon, 19. april 2017). For å få til dette bruker man primerne ITS1 og ITS4, som kutter slik at hele ITS1 og ITS2 kommer med. Delprøvene med isolert DNA ble så sendt til Tyskland for videre analyse (GATC-biotech). Vi brukte en GENBANK (National Center for Biotechnology Information, [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)) for å sammenligne sekvensene vi fikk tilbake fra Tyskland. 10 av hver DNA-delprøve var brukbare (vev fra 10 forskjellige honningsopp-prøver).

## 2.4 DNA-analyse av askeskuddbeger

DNA-analysen av askeskuddbegerprøvene ble gjort i januar 2017 hos NIBIO. I denne prosessen fikk jeg også god hjelp. Tre av de fire innsamlede asketre-stammene var brukbare og ble delt i skiver, med en skive for hvert lengdeintervall (Figur 8). To av trærne hadde lengdeintervaller på 10 cm (en skive per 10 cm), og et tre hadde lengdeintervall på 25 cm (en skive per 25 cm). På denne måten fikk jeg skiver fra hele nekrosen oppover i treet uten å måtte håndtere store stokker. Videre ble de fire første skivene fra hvert tre valgt ut til prøvetaking (10, 20, 30 og 40 cm fra rothalsen og opp på to av trærne, og 0, 25, 50 og 75 cm på det ene treet). Skivene knakk jeg så i to med et hoggjern. Deretter tok jeg en prøve på hver side av den ene halvdel, ved hjelp av et spesiallaget hoggjern. En prøve ble tatt fra det infiserte vevet, og en ble tatt i det friske for kontroll. Begge prøvene ble tatt 1 cm inn i veden fra treet ytterkant, ikke medregnet barken. I tillegg unngikk jeg å få med vev fra sagflaten, siden denne hadde vært eksponert for omgivelsene og de andre skivene. Mellom hver prøvetaking ble redskapene desinfisert, ved å dyppe dem i sprit og så avbrenne ved hjelp av en gassbrenner. Videre ble prøvene knust og DNAet isolert. DNA-analysen kunne gjøres på NIBIO, da den riktige primeren var tilgjengelig.



Figur 8. Asketre (*Fraxinus excelsior*) delt opp i skiver.



### 3. Resultater

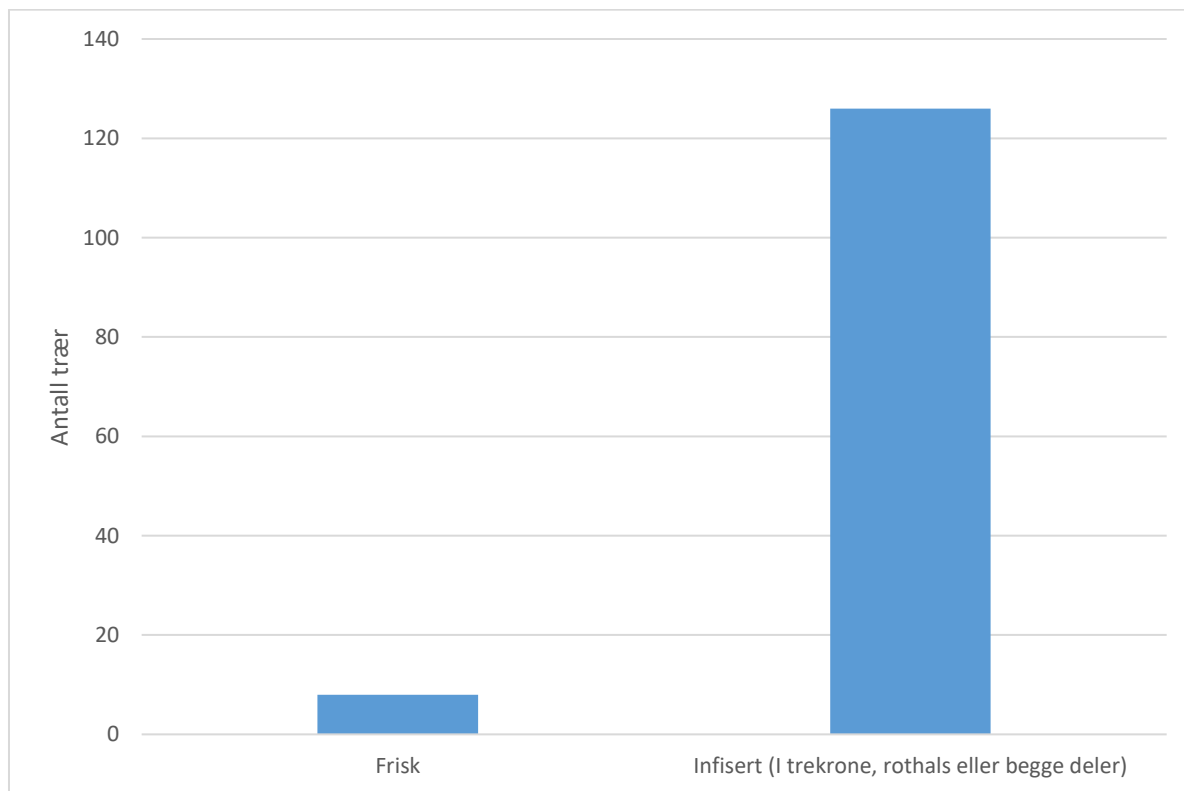
Jeg påviste to forskjellige arter av honningsopp fra prøvene av mycelflak jeg hadde samlet inn fra asketrær. Dette var skoghonningsopp (*Armillaria borealis*) og Hagehonningsopp (*Armillaria cepistipes*). Skoghonningsopp finnes over hele landet, mens hagehonningsopp er vanlig i Sør-Norge (Sundheim & Talgø 2010).

Fra prøvene av selve asketrærne fikk jeg bekreftet at det er askeskuddbeger som er tilstede i rothalsen. Jeg hadde til sammen 24 prøver, hvorav 12 var fra infisert ved og 12 var fra frisk ved. I 11 av prøvene med infisert ved og i to av prøvene med frisk ved påviste vi askeskuddbeger. (Tabell 2). Total mengde DNA uthentet fra hver prøve er angitt i pg (pikogram).

Tabell 2. Resultat av DNA-test av 3 forskjellige asketrær (G1, V2 og V2-3) med misfarging i rothalsen.

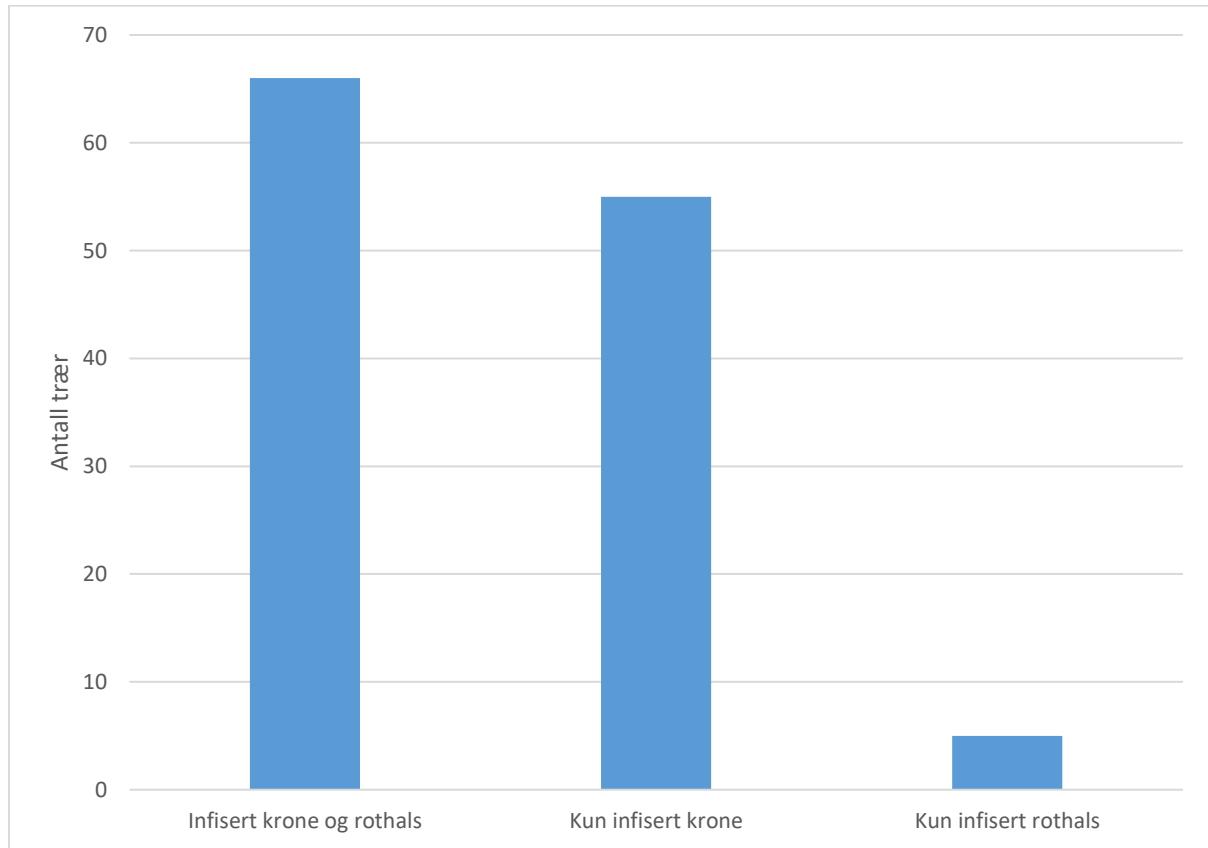
tre/skive nr.	ved farge	Prøve	Vekt(mg)	askeskuddbeger	
				total mengde DNA, pg	DNA pg/mg
G1-0	vedmisfarging	1	14,7	261,1011997	17,761986
	uten vedmisfarging	2	32,5	0	0
G1-25	vedmisfarging	3	32,3	1969,498695	60,975192
	uten vedmisfarging	4	24,5	0	0
G1_50	vedmisfarging	5	23,5	0	0
	uten vedmisfarging	6	16,9	0	0
G1-75	vedmisfarging	7	28,9	7010,323824	242,57176
	uten vedmisfarging	8	24,7	0	0
V2-10	vedmisfarging	9	35,6	227,4605228	6,3893405
	uten vedmisfarging	10	25,6	360,2452799	14,072081
V2-20	vedmisfarging	11	27,6	186,9655104	6,7741127
	uten vedmisfarging	12	28,8	0	0
V2-30	vedmisfarging	13	24,6	122,3351291	4,9729727
	uten vedmisfarging	14	32,2	0	0
V2-40	vedmisfarging	15	33,8	719,6382697	21,291073
	uten vedmisfarging	16	27,1	0	0
V2-3-10	vedmisfarging	17	30,9	335,3706799	10,85342
	uten vedmisfarging	18	27,5	0	0
V2-3-20	vedmisfarging	19	43,7	264967,9107	6063,3389
	uten vedmisfarging	20	33,6	0	0
V2-3-30	vedmisfarging	21	33,4	100133,4227	2998,0067
	uten vedmisfarging	22	30,2	0	0
V2-3-40	vedmisfarging	23	39	258,0013174	6,6154184
	uten vedmisfarging	24	34,4	1059,962382	30,81286

126 av 134 undersøkte asketrær var rammet av askeskuddbeger enten i trekronen, rothalsen eller begge (Figur 9). Dette utgjør 94 % av alle undersøkte trær. Kun åtte trær var helt fri for infeksjon av askeskuddbeger.



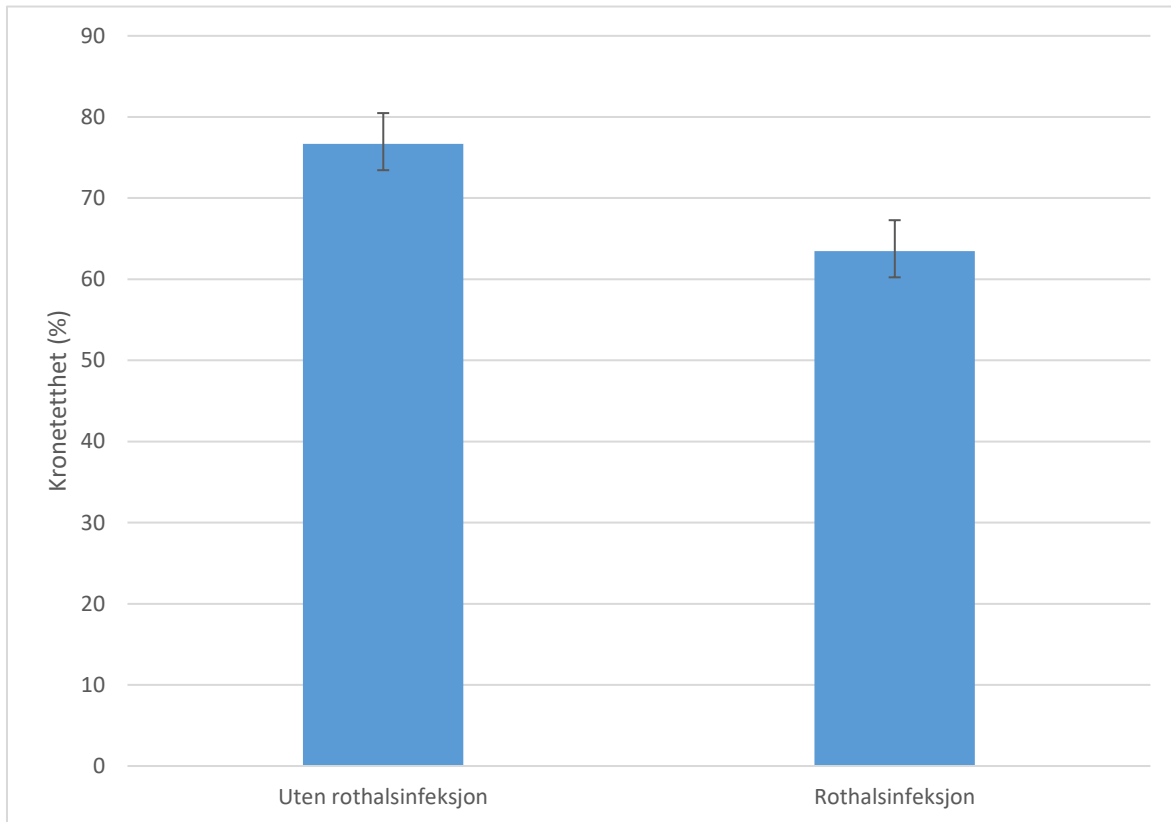
Figur 9. Fordeling av friske og infiserte asketrær (*Fraxinus excelsior*) rammet av askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxienus*) enten i trekronen, rothals eller begge.  $N= 134$

121 trær var angrepet av askeskuddbeger i trekrona, noe som utgjør 90 % av alle undersøkte trær. 66 av disse var også angrepet i rothalsen (Figur 10). Totalt ble 71 rothalsinfeksjoner påvist, fordi fem trær var infisert i rothalsen uten å være infisert i krona.



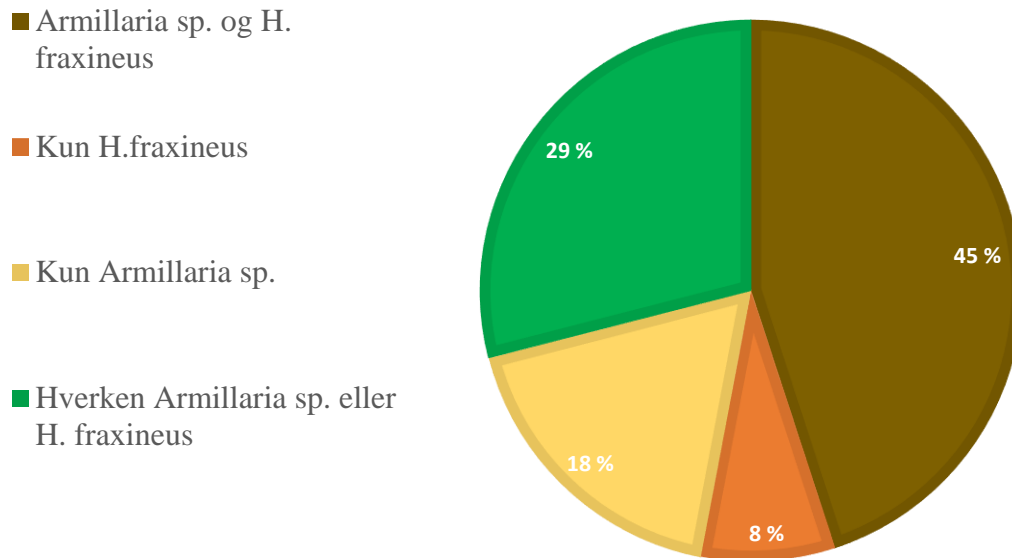
Figur 10. Fordeling av asketrær (*Fraxinus excelsior*) infisert av askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxineus*) i krone og rothals.  $N=126$

Det var en signifikant forskjell i kronetetthet mellom trær som var infisert i rothalsen og trær som kun var infisert i krona ( $t_{126} = -2,6$ ,  $p = 0,009$ ; Figur 11). Gjennomsnittlig kronetetthet uten rothalsinfeksjon var 76,7 % ( $\pm 2SE = 3,815$ ), mens kronetettheten hos trær med rothalsinfeksjon var gjennomsnittlig 63,5 % ( $\pm 2SE = 3,226$ ).



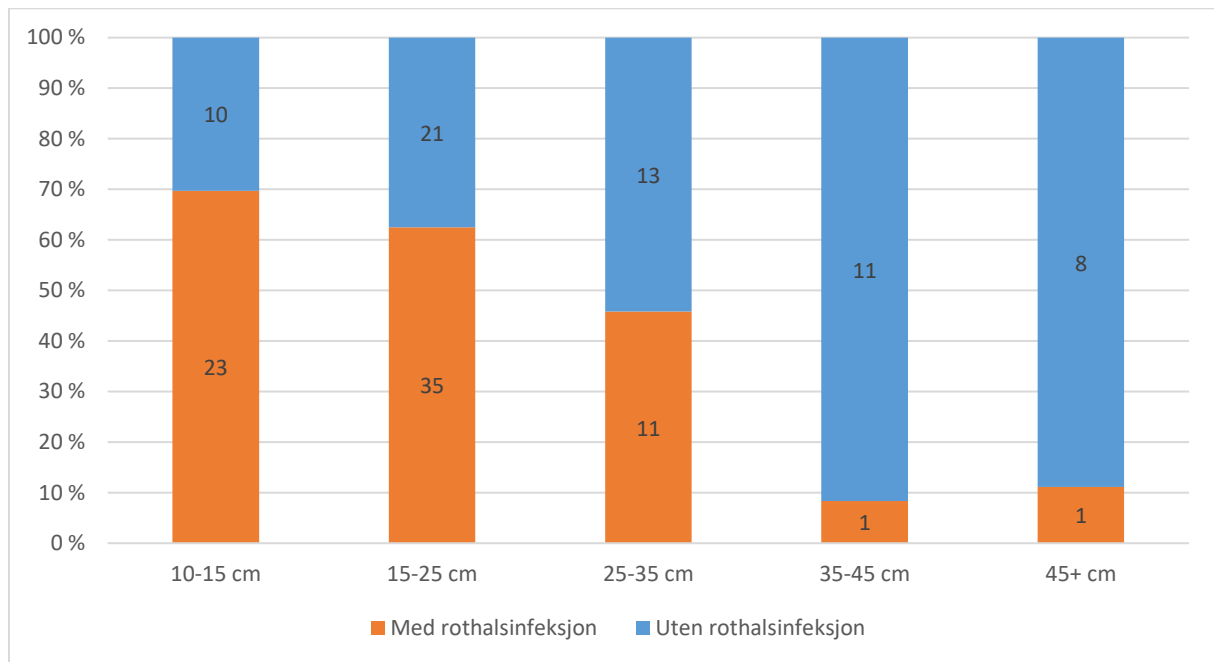
Figur 11. *Kronetetthet hos undersøkte asketrær (Fraxinus excelsior) med og uten rothalsinfeksjon, angitt i prosent N = 134.*

I min undersøkelse fant jeg at 45 % av trærne var rammet av både askeskuddbeger og honningsopp i rothalsen (Figur 12). Videre var 8 % av trærne kun rammet av askeskuddbeger, mens 18 % kun var rammet av honningsopp. På 29 % av trærne ble ingen av soppene funnet i rothalsen.



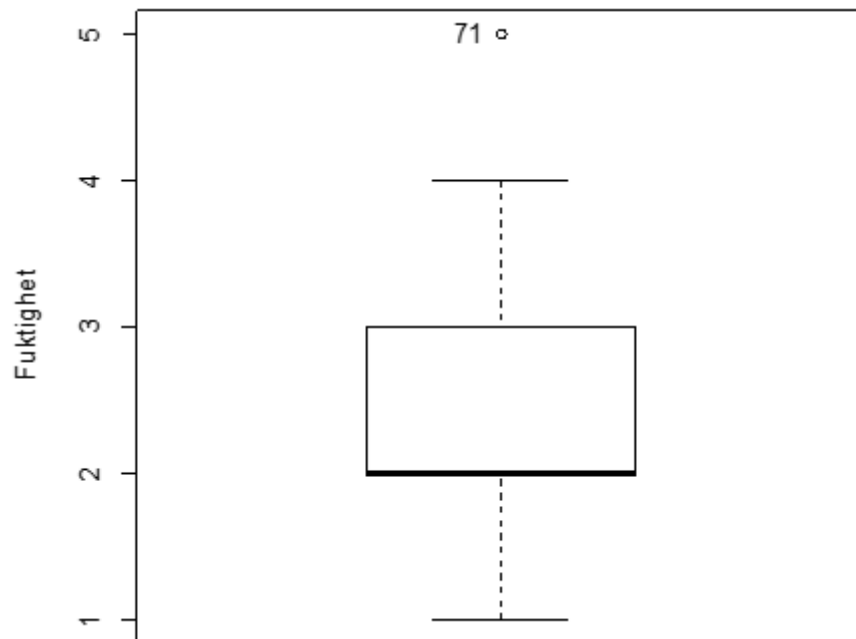
Figur 12. Prosentvis fordeling av tilstedeværelsen av askeskuddbeger (*Hymenoscyphus fraxineus*) og honningsopp (*Armillaria* spp.) i rothalsen på undersøkte asketrær (*Fraxinus excelsior*).  $N=134$

De undersøkte trærne ble inndelt i fem størrelsesklasser, basert på DBH. Hos trær med DBH på 10 – 15 cm var 70 % infisert i rothalsen (Figur 13). For størrelsesklassen 15 – 25 cm var andelen med rothalsinfeksjoner 62,5 %, mens den for 25 – 35 cm var 46 %. For klassen 35 – 45 cm og >45 cm var andelen med rothalsinfeksjoner henholdsvis 8 % og 11 %.



Figur 13. Prosentvis inndeling av asketrær (*Fraxinus excelsior*) med og uten rothalsinfeksjon fordelt på forskjellige størrelsesklasser. Tallene i stolpene er antallet trær i hver gruppe. N=134

Medianen for anslått fuktighet blant trærne som ble undersøkt er 2 (Figur 14). Kun ett tre stod i et område med fuktighet på 5.



Figur 14. *Boxplot som viser medianen for fuktighet rundt de undersøkte asketrærne (Fraxinus excelsior). N=134*

## 4. Diskusjon

Mine funn viser at rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger er tilstede i asketrær i Norge. I tillegg viser resultatene fra DNA-analysene av den infiserte veden fra nekrosene i rothalsen på de tre asketrærne jeg tok prøver av at askeskuddbeger er tilstede her. Jeg er den første i Norge som påviser dette. Man kan imidlertid aldri være helt sikker på at en påvisning ved hjelp av DNA ikke kan skyldes at prøvene har blitt kontaminert på sin vei fra prøvetaking til endelig analyse. For eksempel viste det seg at to av prøvene med frisk og tilsynelatende ikke-infisert ved inneholdt DNA-materiale av askeskuddbeger. Her har det trolig skjedd en kontaminering, muligens ved at noe vev har havnet i feil rør, eller det kan ha vært slurv med desinfiseringen av redskapene. En mulighet er også at soppen kan være til stede i friskt vev uten at det kan observeres som misfarging, for eksempel i et tidlig stadium av infeksjonsprosessen. Dette er så vidt jeg vet ikke testet i andre studier. I mine skiver med infisert ved påviste jeg askeskuddbeger i 11 av 12 prøver (92 %). Til sammenligning påviste man i Frankrike askeskuddbeger i rothalsen på 79 av 89 (89 %) asketrær (Marçais et al. 2016). I Belgia ble det påvist askeskuddbeger i rothalsen på 101 av 103 (98 %) asketrær (Chandelier et al. 2016). En vesentlig forskjell her er at disse studiene hadde et mye større datagrunnlag enn min. Det som likevel er interessant, er at jeg hadde fire prøver for hvert tre, og selv om det ikke ble påvist askeskuddbeger i en av prøvene (G1 – 50), ble askeskuddbeger likevel funnet andre steder i samme tre (G1 – 0, G1 – 25 og G1 – 75). Mine observasjoner i felt og DNA-analysen taler sterkt for at rothalsinfeksjoner er tilstede i Norge. Jeg vil derfor forkaste min  $H_0$ -hypotese om at rothalsinfeksjoner av askeskuddbeger er fraværende i Norge, og styrke  $H_1$ -hypotesen om at de er tilstede.

Jeg fant at 121 trær var angrepet i trekrona, og at 66 av disse også var angrepet i rothalsen. Til sammen påviste jeg 71 rothalsinfeksjoner, fordi fem trær var angrepet av askeskuddbeger i rothalsen uten å være angrepet i trekrona. Siden trær var infisert i rothalsen uten å være infisert i trekrona tyder dette på at infeksjonen i rothalsen ikke er sekundær. Dette betyr at soppen kan angripe rothalsen uavhengig av om treet allerede er angrepet i trekrona. Det er i samsvar med en undersøkelse fra Tsjekkia, der 34 % av undersøkte asketrær med rothalsinfeksjon hadde en kronetetthet på over 95 % (Havrdová et al 2016). Kanskje er det andre parametere som avgjør om asketrær angripes i rothalsen. I Frankrike og Belgia fant man at hyppigheten av rothalsinfeksjoner tiltok med økt fuktighet i området (Husson et al. 2012, Marçais et al. 2016, Chandelier et al. 2016). I min undersøkelse anslo jeg fuktigheten på en skala fra 1 – 5. Om jeg skulle gjort datainnsamlingen på nytt tror jeg det ville vært mer hensiktsmessig å bruke en standardisert metode for å måle fuktighet. Min subjektive vurdering av fuktigheten i de ulike



områdene er lite egnet til å konkludere med noe håndfast, fordi jeg ikke baserte den på noe annet enn min egen oppfatning av fuktigheten der trærne vokste. For å avgjøre graden av fuktighet kikket jeg på helningsgrad, jordsmonn, hvor tett skogen vokste, vekstene som ellers vokste der og nærheten til vann/bekk. Det er også trolig at jeg fikk en bedre evne til å bedømme fuktigheten etter hvert som jeg fikk mer erfaring, men det er likevel ikke tilstrekkelig til at disse dataene har høy troverdighet i en statistisk analyse eller at de enkelt kan etterprøves. Jeg kan derfor ikke peke på noen sammenheng mellom hyppigheten av rothalsinfeksjoner og fuktighet i Norge. Kronetettheten ble i likhet med fuktigheten også anslått, og ikke målt med en standardisert metode slik det ble gjort i Tsjekia (Havrdová et al 2016) og Belgia (Chandleier et al. 2016). Jeg var med veileder Halvor Solheim ut før jeg startet feltarbeidet og øvde på å anslå kronetettheten til asketrær. Jeg mener imidlertid at anslagene ble mye bedre for kronetettheten enn de ble for fuktighet. Dette skyldtes øving med veileder i forkant, men også at det er færre faktorer som påvirker kronetettheten. Den endrer seg heller ikke fra dag til dag. I tillegg anga jeg kronetettheten på en ganske grov skala (tall for hver 5 %), så feilmarginen her kan ikke ha vært veldig stor. Årsaken til at noen trær angripes i rothalsen og andre ikke forblir fortsatt ukjent. Fem observasjoner av askeskuddbeger kun i rothalsen er imidlertid lite. En svakhet ved min studie er også at observasjonene av rothalsinfeksjoner er gjort visuelt, utenom de tre som ble DNA-testet. I både Frankrike (Marçais et al. 2016) og Belgia (Chandelier et al. 2016) ble alle rothalsinfeksjonene påvist med DNA-prøve. Basert på det jeg har funnet ut i min undersøkelse, beholder jeg min  $H_0$ -hypotese om at infeksjonen i rothalsen av askeskuddbeger ikke er sekundær.  $H_1$ -hypotesen forkastes.

Mine resultater peker likevel på at det er en sammenheng mellom vanlig infeksjon og infeksjon i rothalsen. Jeg fant en signifikant forskjell i kronetetthet mellom asketrær som var infisert av askeskuddbeger i rothalsen og ikke. Asketrær uten rothalsinfeksjon hadde en gjennomsnittlig kronetetthet på 76,7 %, mens trær med rothalsinfeksjon hadde en gjennomsnittlig kronetetthet på 63,5 %. Kronetettheten er en indikasjon på treets helsetilstand. Mine funn kan derfor tyde på at et tre med allerede svekket kronetetthet er mer mottakelig for en infeksjon i rothalsen. Likevel taler de fem asketrærne som kun var infisert i rothalsen imot dette. Det kan imidlertid hende at degraderingen av krona går fortere hos de trærne som er angrepet av askeskuddbeger begge steder. I Frankrike fant man en signifikant korrelasjon mellom hvor hardt asketrær var angrepet i rothalsen og hvor hardt de var angrepet i trekrona i de askebestandene som var hardest rammet av askeskuddbeger (Husson et al. 2012). Denne korrelasjonen fant man også i Belgia (Chandleier et al. 2016). I Litauen viste en studie at kronetettheten hos asketrær ble redusert

med hardere angrep i røttene av hovedsakelig hagehonningsopp, men også av andre råtesopper (Bakys et al. 2011). Selv om askeskuddbeger ikke ble påvist i undersøkelsen fra Litauen, er det trolig en tøffere påkjenning for asketrærne å kjempe mot askeskuddbeger på to steder. Jeg kan styrke  $H_1$ -hypotesen om at det er en forskjell i kronetetthet mellom trær med og uten rothalsinfeksjon.  $H_0$ -hypotesen forkastes.

#### 4.1 Andre funn i undersøkelsen

En del andre observasjoner ble også gjort i forbindelse med undersøkelsen, som ikke direkte dekkes av hypotesene. Honningsopp er en art som angriper sekundært, etter at trær allerede er svekket på annen måte (Solheim & Børja 2013). Honningsopp har vist seg å opptre vanlig sammen med askeskuddbeger i rothalsen på asketrær i andre europeiske land (Bakys et al. 2011, Chandelier et al. 2016, Enderle et al. 2013). Jeg fant også mye honningsopp i min undersøkelse og fikk ved hjelp av DNA-analyse påvist at både skoghonningsopp og hagehonningsopp finnes i rothalsen på asketrær i Norge. I Frankrike fant man honningsopp og askeskuddbeger i rothalsen på 47 % av undersøkte trær (Marçais et al. 2016). I Belgia påviste man begge soppene i 39 % av undersøkte trær (Chandelier et al. 2016). I min undersøkelse fant jeg at både askeskuddbeger og honningsopp var til stede i rothalsen på 45 % av trærne. Selv om de fleste av mine observasjoner ikke er basert på DNA-prøver, er trenden relativt lik.

90 % av asketrærne jeg undersøkte var infisert på vanlig måte, i trekrona. Dette er et høyt tall, men mange studier viser at det er svært mange trær som angripes og at andelen infiserte trær øker over tid etter kolonisering av askeskuddbeger for første gang. I Danmark har undersøkelser vist at så lite som 1 – 5 % av asketrærne kan være resistente mot askeskuddbeger (Tollefsrud & Solheim 2015). I en studie fra Tyskland undersøkte man 300 mindre asketrær på en plantasje og påviste askeskuddbeger i skudd og greiner på 95 % av trærne (Schumacher, Kehr & Leonhard 2009). I Frankrike undersøkte man 3350 asketrær og fant at bare 8 % var uten infeksjon av askeskuddbeger (Husson et al. 2012). Hvorfor infeksjonsprosenten ser ut til å være noe lavere i Norge enn i noen andre land er vanskelig å svare på. Kanskje er det klimatiske faktorer som spiller inn, eller en lavere tettheten av ask. Det kan også hende at infeksjonsprosenten vil stige ytterligere i Norge, siden vi ikke har hatt askeskuddbeger her like lenge som i mange andre land.

Jeg delte opp de undersøkte asketrærne på samme måte som de gjorde i en belgisk undersøkelse (Chandelier et al. 2016). I min undersøkelse fant jeg at andelen rothalsinfeksjoner var avtagende med større DBH på treet. Hos trær i størrelsesklassen 10 – 15 cm var hele 70 % infisert av

askeskuddbeger i rothalsen. I størrelsesklassen 35 – 45 cm og >45 cm var andelen rothalsinfeksjoner bare 8 % og 11 %. I disse to gruppene var det vel å merke også færrest observasjoner. I Belgia viste det seg at prosentandelen trær med rothalsinfeksjon i hver størrelsesklasse var ganske lik, og gjennomsnittet lå på 55 %. Unntaket var trær >45 cm, hvor gjennomsnittlig andel rothalsinfeksjoner lå på 35 %. En forklaring kan være at større trær har tykkere bark, noe som muligens gjør det vanskeligere for askeskuddbeger å trenge gjennom. Dette er også foreslått i det belgiske studiet (Chandelier et al. 2016).

## 4.2 Konklusjon

Jeg har med min undersøkelse for første gang påvist at askeskuddbeger angriper rothalsen hos asketrær i Norge. I tillegg har jeg beskrevet noe av rothalsinfeksjonenes påvirkning på asketrærne. Den europeiske asken står overfor store utfordringer i de kommende årene, også her til lands. Selv om noen individer kan være resistente, vil det trolig være så få individer igjen at den genetiske variasjonen vil gå kraftig ned. I økologien sier man at populasjonen går gjennom en flaskehals (Nei, Maruyama & Chakraborty 1975). Med lav genetisk variasjon er populasjoner dårligere rustet til å takle nye livsbetingelser som krever tilpasning. Som en følge av dette kan asken for eksempel få en større utfordring enn opprinnelig når det gjelder å tilpasse seg fremtidige klimaendringer. I Litauen hvor askeskuddbeger har herjet i en lengre periode enn i Norge, ser man at det er for få asketrær igjen til å konkurrere med treslag som or og gran, som overtar (Tollefsrud et al. 2015). Her trengs det trolig menneskelig hjelp for å få asken reetablert. Når prosessen med å finne resistente trær å avle videre på er i gang er det viktig å forsikre seg om at treet ikke bare er infeksjonsfritt i trekrona, men også i rothalsen.

For videre studier kan det være interessant å se på om det går an å dokumentere at antallet rothalsinfeksjoner øker med økt fuktighet også i Norge. Om dette stemmer kan det være en ide å spare tørre områder med askeskog for hogst, i hvert fall inntil videre. For å finne ut av dette ville jeg anbefalt å bruke en standardisert metode, man kunne for eksempel måle fuktigheten i undersøkte askeskoger jevnlig gjennom hele vekstsesongen, for så å finne gjennomsnittet av disse målingene for hver lokalitet. En jordfuktighetssensor (Vernier Soil Moisture Sensor) kan brukes til dette. Denne kan også stå ute i lengre perioder og loggføre fuktighet i jorda. I tillegg kunne det vært en idé å prøve å finne grunnen til at asketrær med større DBH i mindre grad ser ut til å være rammet av askeskuddbeger i rothalsen enn trær med mindre DBH.

## 5. Referanseliste

- Ask. (s.a). Urtekildens planteleksikon. (2010). Ask. Lokalisert på [http://www.rolv.no/urtemedisin/medisinplanter/frax\\_exc.htm](http://www.rolv.no/urtemedisin/medisinplanter/frax_exc.htm) (16.02.2016).
- Bakys, R., Vasiliauskas, A., Ihrmark, K., Stenlid, J., Menkis, A. & Vasaitis, R. (2011). Root rot, associated fungi and their impact on health condition of declining *Fraxinus excelsior* stands in Lithuania. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 26(2), 138-135.
- Beck, P., Caudullo, G., Tinner, W. & de Rigo, D. (2016). *Fraxinus excelsior* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*, 98-99.
- Boswell, R. C. & Kerr, G. (2001). The influence of spring frosts, ash bud moth (*prays fraxinella*) and site factors on forking of young ash (*Fraxinus excelsior*) in southern Britain. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 74(1), 29-40.
- Chandelier, A., Gerarts, F., San Martin, G., Herman, M. & Delahaye, L. (2016). Temporal evolution of collar lesions associated with ash dieback and the occurrence of *Armillaria* in Belgian forests. *Forest Pathology*, 46(4), 289-297.
- Chandelier, A., Helson, M., Dvorak, M. & Gischer, F. (2014). Detection and quantification of airborne inoculum of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* using real-time PCR assays. *Plant Pathogen*, 63(6), 1296-1305.
- Dandy, N., Marzano, M., Porth, E. F., Urquhart, J. & Potter, C. (2017). Who has a stake in ash dieback? A conceptual framework for the identification and categorisation of tree health stakeholders. *Dieback of European Ash (Fraxinus spp.): Consequences and Guidelines for Sustainable Management*, 15-26.
- Enderle, R., Peters, F., Nakou, A. & Metzler, B. (2013). Temporal development of ash dieback symptoms and spatial distribution of collar rots in a provenance trial of *Fraxinus excelsior*. *Eur J Forest Res*, 132, 865-876.
- GENBANK. (2017). Lokalisert på [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)
- Gross, A., Holdenrieder, O., Pautasso, M., Queloz, V. & Sieber, T. N. (2013). *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. *Molecular Plant Pathology*, 15(3), 5-21.
- Havrdová, L., Novotná, K., Zahradník, D., Buriánek, V., Pešková, V., Šrůtka, P. & Černý, K. (2016). Differences in susceptibility to ash dieback in Czech provenances of *Fraxinus excelsior*. *Forest Pathology*, 26(4), 281-288.
- Husson, C., Caël, O., Grandjean, J. P., Nageleisen, L. M. & Marcais, B. (2012). Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. *Plant Pathology*, 61(5), 889-895.

- Kirisits, T. & Cech, T. L. (2009). Observations on the sexual stage of the ash dieback pathogen *Chalara fraxinea* in Austria. *Forstschutz Aktuell*, (48), 21-25.
- Kirisits, T., Kritsch, P., Kräutler, K., Matlakova, M. & Halmschlager, E. (2012). Ash dieback associated with *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in forest nurseries in Austria. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 9(4), 230-235.
- Kowalski, T. (2006). *Chalaria fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology*, 36(4), 264-270.
- Lygis, V., Vasiliauskas, R., Larsson, K. H. & Stenlid, J. (2005). Wood-inhabiting fungi in stems of *Fraxinus excelsior* in declining ash stands of northern Lithuania, with particular reference to *Armillaria cepistipes*. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20(4), 337-336.
- Marçais, B., Husson, C., Godard, L. & Caël, O. (2016). Influence of site and stand factors on *Hymenoscyphus fraxineus* induced basal lesion. *Plant Pathology*, 65(9), 1452-1461.
- Nei, M., Maruyama, T. & Chakraborty, R. (1975). The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations. *Evolution*, 29(1), 1-10.
- Kinney, L. V., Nielsen, L. R., Collinge, D. B., Thomsen, I. M., Hansen, J. K. & Kjær, E. D. (2014). The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long-term solution. *Plant Pathology*, 63(3), 485-499.
- Schumacher, J. (2011). The general situation regarding ash dieback in Germany and investigations concerning the invasion and distribution strategies of *Chalara fraxinea* in woody tissue. *EPPO Bulletin*, 41(1), 7-10.
- Schumacher, J., Kehr, R. & Leonhard, S. (2009). Mycological and histological investigations of *Fraxinus excelsior* nursery saplings naturally infected by *Chalaria fraxinea*. *Forest Pathology*, 40(5), 419-429.
- Skovsgaard, J. P., Thomsen, I. M., Skovsgaard, I. M. & Martinussen, T. (2009). Associations among symptoms of dieback in even-aged stands of ash (*Fraxinus excelsior* L.) *Forest Pathology*, 40(1), 7-18.
- Solheim, H. (2012). *Askeskuddbeger*. Artsdatabankens faktaark nr. 277. Lokalisert på <http://www2.artsdatabanken.no/faktaark/Faktaark277.pdf>
- Solheim, H. & Børja, I. (2013). Honningsopp – den smarte opportunist. *Norsk Skogbruk*, 58(3) 34.
- Sunding, P. (2011). *Boreonemoral sone*. I store norske leksikon. Lokalisert på [https://snl.no/boreonemorale\\_sone](https://snl.no/boreonemorale_sone) (29.11.17).
- Sundheim, L. & Talgø, V. (2010). *Armillaria* spp. *Plantevernleksikonet, NIBIO*. Lokalisert på [https://leksikon.nibio.no/vieworganism.php?organismId=1\\_1461](https://leksikon.nibio.no/vieworganism.php?organismId=1_1461) (25.04.17).

Talgø, V., Sletten, A., Brurberg, M. B., Solheim, H. & Stensvand, A. (2009). *Chalara fraxinea* Isolated from Diseased Ash in Norway. *Plant disease*, 93(5), 548.

Timmermann, V., Børja, I., Hietala, A. M., Kirisits, T. & Solheim, H. (2011). Ash dieback: pathogen spread and diurnal patterns of ascospore dispersal, with special emphasis on Norway. *EPPO Bulletin*, 41(1), 14-20.

Tollefsrud, M. M. & Solheim, H. (2015). *Evolusjon kan redde ask fra å dø ut*. Fakta fra MILJØ 2015. Lokalisert på <https://www.google.no/search?q=evolusjon+kan+redde+ask+fra+%C3%A5+d%C3%B8+ut&oq=evolusjon+kan+re&aqs=chrome.69i59j69i57.3195j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

Tollefsrud, M. M., Solheim, H. & Fjellstad, K. B. (2015). *Ask i tilbakegang*. Lokalisert på <http://www.nibio.no/nyheter/ask-i-tilbakegang>

Vernier Software & Technology. (2017). Lokalisert på <https://www.vernier.com/products/sensors/sms-bta/> (18.04.17).

Wargo, P. M. & Shaw, C. G. (1985). Armillaria root rot: the puzzle is being solved. *Plant disease*, 69 (10), 826-832.

Zhao, Y., Hosoya, T., Baral, H., Hosaka, K. & Kakishima, M. (2012). *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albida* reported from Japan. *MYCOTAXON*, (122), 25-41.