



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2020 30 stp

Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning

Flekkbarking av furu (*Pinus sylvestris* L.): effekter på vedens kjemiske forsvar og råteresistens

Systematic debarking of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.): effects on chemical defence and rot resistance of the wood

Even Vereide

Skogfag

Forord

Denne masteroppgaven er den siste og avsluttende oppgaven etter fem år som student ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Oppgaven markerer en fullført mastergrad i skogfag ved Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning (MINA). Oppgaven markerer også starten på «Prosjekt blæking», et prosjekt som har til hensikt å finne ut av hva som gir et flekkbarket furutre (*Pinus sylvestris*) bedre holdbarhet. «Prosjekt blæking» er finansiert av Riksantikvaren. I denne oppgaven ser jeg på endringer i kjemisk forsvar og råteresistens i veden på furutrær etter at de har blitt flekkbarket. De kjemiske analysene ble utført ved NMBU og råteforsøket ble utført ved Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO). En bedre forståelse av hva som skjer i et flekkbarket tre, kan hjelpe oss å produsere naturlig holdbare materialer i fremtiden.

En stor takk rettes til mine to veiledere; hovedveileder professor Line Nybakken ved NMBU og tilleggsveileder seniorforsker Ari Hietala ved NIBIO. Tusen takk for fokusert, stødig og god veiledning gjennom hele prosessen! En stor takk rettes også til seniorforsker Gry Alfredsen ved NIBIO for hjelp til oppsett av råteforsøket, flytting av stammeskiver og mer til. Jeg vil også takke senioringeniør Sigrun Kolstad (NIBIO) for brilliant utførelse av råteforsøket, avdelingsingeniør Thor-Erik Vatne Alstad (NIBIO) for profesjonelt uttak av prøver, overingeniør Annie Aasen (NMBU) for stødig rettleiding på kjemilaben, og førsteamanuensis Johan Asplund (NMBU) for nyttig hjelp med statistikken. Takk til Dovre Handverksenter og Romedal almenning for bidrag med forsøkstrær, og takk til Jon Bojer Godal og Steinar Moldal for initiativ til «Prosjekt blæking» og bidrag med utførelsen av flekkbarkingen. Takk til Riksantikvaren for finansiell støtte.

Til slutt vil jeg takke mine medstudenter på NMBU og spesielt gjengen på skogfag for gode og lærerike opplevelser gjennom fem strålende år. Takk til alle mine venner, familie og kjæreste for all støtte jeg har fått på veien!

*«I Sommer blandt Hauger og Bakker, en herlig Furu jeg saa;
den stod der saa staut og saa vakker, med Foden i Stenuren graa»*

Fra «Furuen» av Jonas Lie

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Ås, 12. mai, 2020

Even Vereide

Sammendrag

Flekkbarking av furu (*Pinus sylvestris*) utløser en reaksjon i treet som gjør at yteveden blir mer holdbar mot nedbrytere. Observasjoner av flekker på tømmervegger tyder på at flere av Norges eldre bygninger er bygget av trær som har vært flekkbarket, og disse bygningene ser ut til å ha tålt tidens tann ekstra godt. Med forventet fuktigere klima i fremtiden, en økende interesse for naturlig holdbare materialer og et ønske om å minske bruken av biocider, kan flekkbarking kanskje bli en del av fremtidens «impregnering». Den tekniske årsaken til den økte holdbarheten er fortsatt uklar, men det er flere studier som tyder på at stilbenene pinosylvin (PS) og pinosylvinmonometyleter (PSM) spiller en viktig rolle. I dette studiet ble kjemisk forsvar, med fokus på PS og PSM, analysert på flekkbarkede trær og ubehandlede kontrolltrær. Trærne kom fra to forsøksfelter, ett på Dovre og ett i Romedal, og prøvene ble hentet ut ett år etter flekkbarking. Den kjemiske analysen ble gjort med HPLC og vedens soppresistens ble analysert med en modifisert EN-113 test.

Det var få signifikante forskjeller mellom flekkbarkede trær og kontrolltrær i den kjemiske analysen. Den eneste signifikante endringen var en økning av PSM i yteveden i trær fra Dovre. Råtetesten gav få signifikante forskjeller før og etter flekkbarking. Trærne fra Dovre viste tendens til høyere innhold av stilbener i yteveden enn trærne fra Romedal, men prøvene fra Romedal viste likevel bedre motstand mot sopp. Kjernevedprøvene fra Romedal viste også en tendens til bedre soppresistens enn de fra Dovre, tross relativt likt innhold av stilbenene. Dette kan tyde på at det er andre forskjeller enn de vi har testet i dette studiet som er viktigere for soppresistensen i furuved.

Abstract

Systematic debarking of Scots pine (*Pinus sylvestris*) induces defensive reactions in the tree, which gives the sapwood properties comparable to the well-known durable heartwood. This wood is often called “lightwood”. Traces of wounds like these are found on several old wooden buildings in Norway, and these buildings seem to withstand the everchanging climate. Global warming is predicted to change the Norwegian climate to the wetter, and durable building materials will be essential in the future. Regulations on use of biocides are constantly narrowing, and awareness of carbon footprint of materials are increasing worldwide. The interest in wooden materials are therefore increasing, and development of new environmentally friendly techniques for increasing durability has become a subject of attention. Maybe systematic wounding and formation of “lightwood” is the new technique? The technical reason for the observed increased durability is not ascertained, but a few studies imply that the stilbenes pinosylvin (PS) and pinosylvinmonomethylether (PSM) play an important role. In this study we analysed the chemical defence (PS and PSM) and rot resistance in trees that had been systematically wounded and compared them to untreated control trees. The trees were from two sites in Norway, one at Dovre and one in Romedal, and samples were gathered one year after the wounding. The chemical analysis was done with HPLC and the rot-test was done by a modified EN-113 test.

In the chemical analysis, there were few differences between the wounded trees and control. The only significant difference was an increase in PSM in the sapwood in trees from Dovre. There were also few differences in decay resistance in the rot-test. Sapwood samples from Dovre had slightly higher concentrations of the stilbenes than those from Romedal, but the samples from Romedal demonstrated slightly better decay resistance. The heartwood samples from Romedal also demonstrated better decay resistance than those from Dovre, although they had similar concentrations of the stilbenes. The results imply that there are other differences than the ones tested in this study that is of greater importance in decay resistance of Scots pine wood.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	III
Abstract	V
1 Innledning	- 1 -
2 Materiale og metode	- 5 -
2.2 Plantemateriale	- 5 -
2.3 Kjemisk analyse.....	- 9 -
2.3.1 Klargjøring av prøvene.....	- 9 -
2.3.2 Ekstraksjon	- 10 -
2.3.3 HPLC-analyse	- 10 -
2.4 Råtetest	- 11 -
2.4.1 Klargjøring av vedprøver og EN113-flasker.....	- 11 -
2.4.2 Inokulering av sopp og inkubering av flasker	- 12 -
2.5 Dataanalyse.....	- 13 -
3 Resultater	- 15 -
4 Diskusjon	- 22 -
5 Litteraturliste.....	- 25 -
Vedlegg – Oppskrift på kjernevedreagens	I

1 Innledning

Furu (*Pinus sylvestris*) er det nest viktigste treslaget i Norge, både økonomisk og økologisk. Det ble avvirket ca. 2,9 millioner m³ furu i Norge i 2019 og mer enn 55% av dette ble sagtømmer (SSB, 2019). I dag er sagtømmeret fra furu en viktig del av byggevarehandelen, og brukes typisk til f.eks. kledning, panel, listverk og konstruksjonsmaterialer. Det er i dag økende etterspørsel etter byggematerialer med lavt karbonavtrykk, og dette gjelder spesielt treverk. Furuvedens egenskaper gjør at det er godt egnet til impregnering, og de vanligste impregnerte trematerialer i Norge er derfor laget av furu. Historisk sett har furu vært viktig tømmer til lafting av bygninger, materialer til vinduer, påler og andre litt «krevende» oppgaver.

Mennesket har gjennom tiden utviklet forskjellige teknikker for å øke holdbarheten til materialer i tre og mange av tilnærmingene innebærer å holde treverket tørt. Det er fordi de fleste vednedbrytende organismer (hovedsakelig sopp og insekter) krever et visst innhold av fuktighet i veden for å kunne bryte den ned. Grenseverdien for fuktinnhold i furuved er foreslått å være ganske lav og var mellom 12,9 og 13,8% i ytevedprøver som ble utsatt for fire vanlige brunsopper (Meyer & Brischke, 2015). Andre teknikker har som mål å øke holdbarheten ved bruk i fuktige miljøer som f.eks. båtbygging eller terrasser. Den mest brukte metoden for dette er impregnering med biocider som gjør den ytre delen av materialet giftig for nedbrytere. Den vanligste impregneringen i dag er en kobbersaltløsning. I eldre kobberimpregnering (CCA) ble det brukt en blanding av salter fra tungmetallene kobber, krom og arsenikk, som er svært giftige, og som ved avrenning kan være farlige for mennesker og dyr (Townsend et al., 2004). På grunn av dette har (med få unntak) gjenbruk og bruk av materialer behandlet med denne metoden vært forbudt i Norge siden 2002 (Forskrift om forbud mot CCA-impregnering, 2001). Den moderne kobbersaltløsningen regnes som mindre farlig enn den tidligere, men disse materialene er fortsatt regnet som «farlig avfall» (Avfallsforskriften, 2004). Både materialer fra CCA-metoden og moderne impregnering har den karakteristiske grønne fargen, er følgelig vanskelige å skille, og blir derfor håndtert på samme måte ved resirkulering (Olsen, 2018). Med klimaendringer er det forventet et fuktigere klima i fremtiden (IPCC, 2014), og det er følgelig et behov for å utvikle effektive og mer miljøvennlige teknikker for å øke holdbarheten til trematerialer.

Noen av de eldste bygningene i Norge er bygget med tømmer fra furu, og en del av disse bygningene har tømmer med synlige merker fra systematisk skading av barken (Godal, 1996). Dette tømmeret er fra trær som kan ha vært flekkbarket på en eller annen måte. Flekkbarking

er en gammel teknikk brukt til å øke holdbarheten til tømmeret (Godal, 1996). Den har forskjellige navn avhengig av hvor en er i landet, og har i tillegg til flekkbarking gjerne blitt kalt «blæking», «kvablø» eller «slindrebarking» (Godal, 1996). Veden som oppstår etter slik behandling kalles «lightwood» eller reaksjonsved, og i Sverige kalles det «fetved». Den praktiske utførelsen av flekkbarking varierer også, men alle metodene innebærer en form for såring av barken mens treet fortsatt står ute i naturen. Såringen blir etter tradisjonen gjerne gjort en eller flere ganger over tre-fire år, men det er også funnet tegn til at trærne har fått stå i opptil flere tiår (Godal, 1996). Metoden skal provosere treet til å øke forsvaret i veden og gi yteveden egenskaper som er en mellomting mellom kjerneved og yteved (Godal, 1996). Dette kan ses på som en naturlig og miljøvennlig måte å impregnere treverket på, og slike materialer kan potensielt erstatte noen av de mindre miljøvennlige løsningene vi har i dag.

Furu er naturlig utsatt for stressende faktorer. Abiotiske stress-faktorer kan for eksempel være årets tørreste, varmeste eller våteste dager, men det kan også være av det mer ekstreme slaget, som brann (oftest startet av lynnedslag eller mennesker), ekstremvær (f.eks. storm, flom), sterkt lys, tørke og ekstreme temperaturer (frostskafer/brannskafer). Biotiske stress-faktorer kan f.eks. være barkbiller, som kan gjøre alvorlige skader over store områder ved utbrudd og epidemier. Herbivorer er en annen biotisk trussel for furu. Den viktigste biotiske trusselen er patogener («sykdomsfremkallende» agenter). Patogener i ved er oftest sopper som forårsaker sykdom, misfarging eller råte i veden. For å forsvare seg mot slike trusler i naturen, har furu utviklet flere forskjellige forsvarsmekanismer.

Kjerneved i furu er kjent for å være motstandsdyktig mot nedbrytere og spesielt mot sopp. På grunn av den spesielle holdbarheten har furu gjennom tiden blitt brukt til konstruksjoner som skulle tåle litt ekstra, f.eks. vinduer, stolper, master og kledning. Forsvaret i kjerneveden er mekanisk, siden kjerneved er metabolsk inaktivt («død») (IAWA, 1964). Ved dannelsen av kjerneveden i furu er det foreslått at de fleste endringene skjer i bredden av én årring i grensen mellom yteveden og kjerneveden, og at de viktigste endringene er økning i innhold av ekstraktiver (harpikssyrer (kvaer), fenoler og fettsyrer), og reduksjon i innhold av fuktighet og karbohydrater (Bergström, 2003). De viktigste fenolene som dannes er stilbenene pinosylvin (videre kalt PS) og pinosylvinmonometyleter (videre kalt PSM) (Bergström, 2003; Paasela et al., 2017). Stilbener er godt kjent for å virke som fungicider (sopphekkende) (Chong et al., 2009). Studier av ubehandlede trær tyder på at det er mest PS og PSM ytterst i kjerneveden og at det avtar innover, mens det er svært lite eller ingenting i yteveden (Bergström et al., 1999; Ekeberg et al., 2006). Venäläinen et al. (2004) fant et tydelig høyere innhold av PS og PSM i

kjerneveden i «soppresistente» trær i forhold til «sopputsatte» trær. Det er dessuten observert stor variasjon i innhold av disse stoffene mellom individer (Bergström et al., 1999).

Yteveden, innerbarken (floemet) og kambiet er de metabolsk aktive («levende») delene av treetts stamme. Disse delene er mekanisk beskyttet av barken, men er også i stand til å beskytte seg gjennom aktivt forsvar, som kan bli induisert ved f.eks. mekanisk skade (sår i barken fra f.eks. barkbiller) eller ved infeksjoner av sopp. Mange studier er gjort på innerbarkens forsvarsreaksjon mot mekanisk skading og angrep av barkbiller og sopp, og det er vist at PS og PSM her kan virke som fytoaleksiner (Bois & Lieutier, 1997; Falldt et al., 2006; Franceschi et al., 2005). Fytoaleksiner er kjemiske forsvarsstoffer som produseres lokalt eller transporteres fra andre deler av planten som en reaksjon på f.eks. mekanisk skade eller infeksjon. Det er også gjort noen få studier på ytevedens reaksjon mot slike skader, og det er foreslått at yteveden får egenskaper som kan likne på det vi finner i kjerneved, med endret farge og økt innhold av PS og PSM (Harju et al., 2009; Paasela et al., 2017). Studiene til Harju et al. (2009) og Paasela et al. (2017) ble gjort på henholdsvis tre og fem år gamle planter som ble skadet ved gjennom boring av stammen. Et studium på litt eldre trær (ca. 20 år) fant økt innhold av PSM ved kunstig inokulering av blant annet blåfargesopp (Villari et al., 2012). I et eksperiment der all bark bortsett fra en ti cm. bred barkstripe ble fjernet fra de nederste fire meterne av treet, ble det observert økene innhold av PS og PSM i yteveden gjennom den første vekstsesongen, men etter tre år hadde innholdet gått betraktelig ned igjen (Gustafsson et al., 2003). Gustafsson et al. (2003) fant også et generelt økt innhold av harpikssyrer og et svært redusert innhold av karbohydrater og lipider. Felles for disse studiene er at alle har undersøkt kjemiske endringer i veden, men ingen av dem har i tillegg gjort råtetester på den samme veden. Disse studiene har støttet seg på andre studier som har undersøkt hvordan forskjellige kunstige oppnådde nivåer av de sentrale ekstraktivene påvirker soppaktivitet. En økt forståelse av koblingen mellom de naturlige kjemiske endringene og den økte soppresistensen i et flekkbarket furutre kan hjelpe oss å effektivisere produksjonen av naturlig holdbart tømmer.

Målet med dette studiet var å undersøke hvordan flekkbarking påvirker det kjemiske forsvaret i yteveden i eldre furutrær og hvilken effekt det har på vedens soppresistens. Vi flekkbarket furutrær på våren 2018 og etter en vekstsesong ble prøver fra noen av disse trærne tatt ut for nærmere undersøkelse. Det ble gjort ved kjemisk analyse og råtetesting på prøver fra de flekkbarkede trærne og fra ubehandlede kontrolltrær. I de kjemiske analysene ble innholdet av kjemiske forsvarsstoffer studert, med fokus på stilbenene pinosylvin (PS) og

pinosylvinmonometyleter (PSM). Råtetestene ble gjort med en standard brunråtesopp (*Rhodonia placenta*) for å undersøke en eventuell hemmet effekt på prøver fra flekkbarkedede trær. På bakgrunn av funn i tidligere studier har jeg formulert to hypoteser:

1. Konsentrasjoner av pinosylvin (PS) og pinosylvinmonometyleter (PSM) vil øke betraktelig i yteveden i flekkbarkedede trær sammenliknet med kontrolltrær.
2. På grunn av det økte forsvaret, vil prøvene fra flekkbarkedede trær være mer resistente mot råtesoppen enn prøvene fra kontrolltrærne.

2 Materiale og metode

2.2 Plantemateriale

Forsøksfeltene ble etablert på to steder, ett i Romedal og ett på Dovre (figur 1). Områdene er begge betegnet som boreal barskog, med furu (*Pinus sylvestris*) som dominerende treslag. Feltene ble lagt i homogene områder, slik at trærne skulle ha omtrent samme fysiske forutsetninger. De viktigste bestandsdataene og klimainformasjon for de to feltene er beskrevet i tabell 1.



Figur 1. Plassering av forsøksfelt på Dovre (den øverste markeringen) og i Romedal (den nederste markeringen) (Kartverket, 2020).

Tabell 1. Bestandsdata og klimainformasjon for forsøksfeltene. Klimainformasjon (varmesum og nedbørssum) er fra Ilseng (Romedal) værstasjon og fra Folldal (Dovre) værstasjon (NIBIO, 2020b). Bestandsdata er hentet fra eiendommenes skogbruksplaner og arealressurskart (NIBIO, 2020a).

Egenskap	Romedal	Dovre
Breddegrad	61° 58' 27" N	60° 38' 03" N
Lengdegrad	9° 14' 39" Ø	11° 28' 26" Ø
Helning retning	Vest	Øst
Proveniens	Romedal	Kaupanger Frosth.
HOH (m)	380	480
Bonitet	F14	F11
Alder (skogbruksplan)	166 (i 2020)	133 (i 2020)
Alder (talt)	200	150
Varmesum 2019	1345,3	750,1
Nedbørssum 2019	577,2	441,1
Dato for flekkbarking og uttak av kontroll	02.05.18	30.04.18-04.05.18
Dato for uttak av flekkbarket materiale	11.01.19	20.03.19

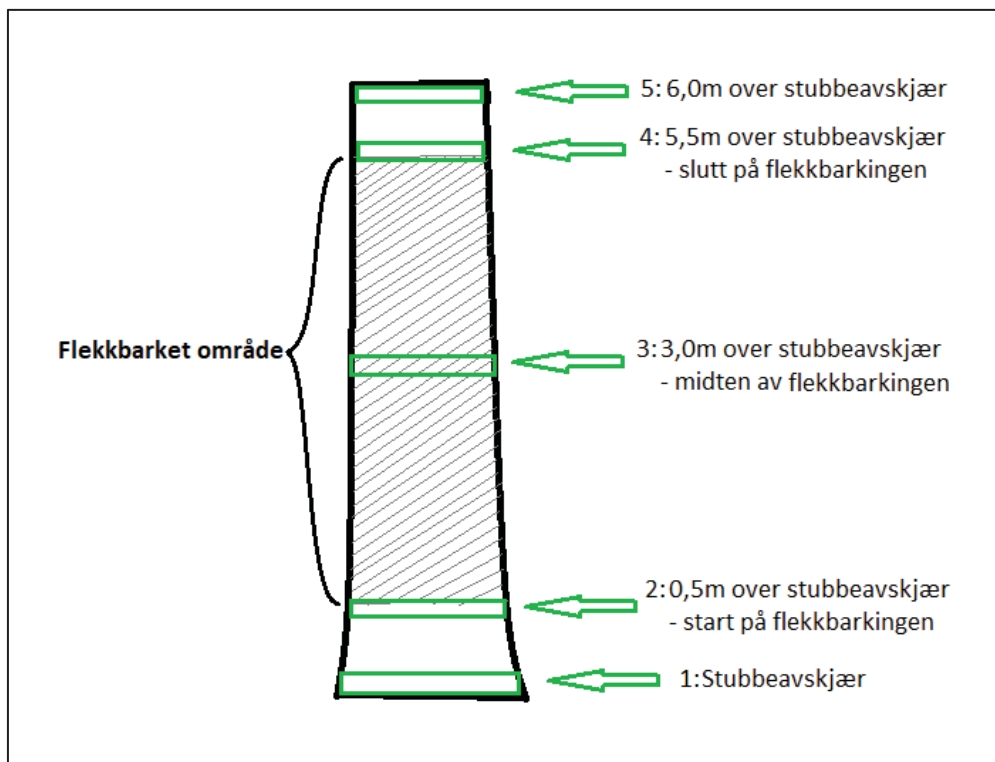
Ti furutrær på hvert forsøksfelt ble flekkbarket i starten av mai 2018. Flekkbarking ble gjort etter samme mønster som er observert på tømmer i gamle bygninger i Norge (personlig meddelelse fra Godal). Det ble skåret «håndflate-store» felter av barken på den nederste delen av treet, mellom 0,5 og 5,5 meter fra stubbeavskjær. Feltene ble skåret av i en «oppadgående spiral» med ca. 45° rotasjon til neste felt. Det neste feltet begynte noen få cm lenger opp enn det forrige (se bilde av flekkbarking i figur 2).



Figur 2. Den praktiske utførelsen av flekkbarking. Foto: Jon Bojer Godal.

Fem kontrolltrær fra hvert sted ble felt samtidig som flekkbarking ble utført. Det ble gjort for å unngå smitteeffekt av stress-signaler, som teoretisk sett kan utløse forsvarsmekanismer hos trær som ikke er skadet (Heil & Ton, 2010). Uttak av skiver fra de flekkbarkedede trærne

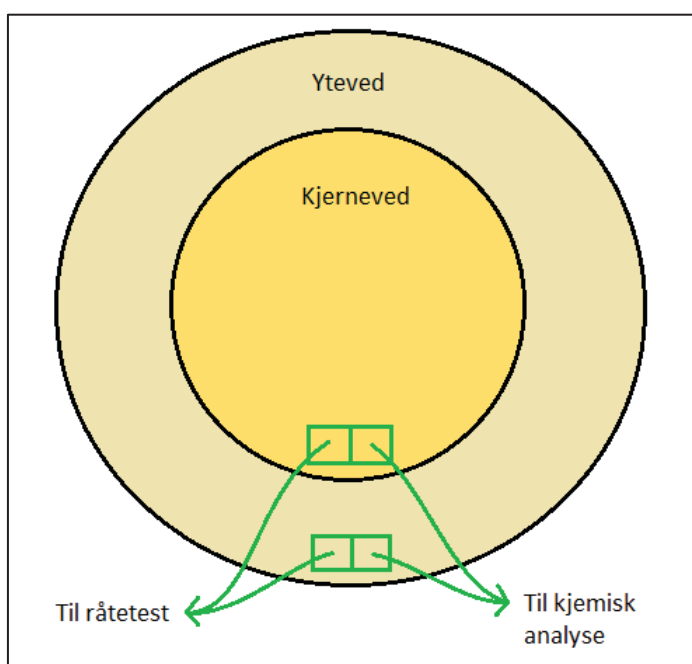
ble gjort på vinteren i 2019, og trærne hadde dermed fått én vekstsesong etter flekkbarking. Fra både kontrolltrær og flekkbarkedede trær ble stammeskiver skåret ut i fem høyder; (1) ved stubbeavskjær (videre kalt SA), (2) 0,5 meter over SA (ved starten av flekkbarking), (3) 3 meter over SA (ved midten av flekkbarking), (4) 5,5 meter over SA (ved slutten av flekkbarking) og (5) ved 6 meter over SA. Etter at stammeskivene ble skåret ble de lagt på is og fryst (-20°C) så fort som mulig. Fem stammeskiver fra 30 trær (20 flekkbarkedede og 10 kontroll) ble totalt 150 stammeskiver. For å undersøke effekten av flekkbarking, ble analysene i dette studiet gjort på stammeskivene som var nærmest skadestedet, nr. 2, 3 og 4, som til sammen er 90 stammeskiver (se illustrasjon av uttaket i figur 3).



Figur 3. Illustrasjon av uttak av stammeskiver (nr. 1 til nr. 5).

Fra hver av de utvalgte stammeskivene (2, 3 og 4) ble det skåret ut to prøver fra kjerneveden og to prøver fra yteveden. Prøvene ble skåret ut ytterst i hver vedtype (med sikkerhetsmarginer for å unngå å få annet vev i prøvene) i klosser på ca. 1 cm³ (1x1x1cm) med båndsgag på NIBIO. Kjerneved-prøvene ble skåret ut ca. tre årringer fra grensen til yteveden. Yteved-prøvene ble skåret ut ca. ti årringer fra grensen til barken. På stammeskiver der det var vanskelig å se grensen mellom kjerneved og yteved, ble det brukt

kjernevedreagens (se vedlegg for oppskrift), som etter påføring gir en sterk gulffarge på kjerneveden. For å unngå å kontaminere prøvene, ble klossene skåret ut ved siden av området med påført reagens. Prøvene fra de flekkbarkede trærne ble skåret ut innenfor sår i barken (fra flekkbarkingen) på de stammeskivene der slike sår var til stede. Fire prøver per stammeskive ble totalt 360 prøver. Én prøve fra hver vedtype ble brukt i henholdsvis kjemisk analyse og råtetesting (totalt 180 prøver til hver). Prøvene som skulle til kjemisk analyse, ble lagt i merkede papirposer og satt i tørkeskap ved 30°C. Prøvene som skulle til råtetesting ble merket og fryst ved -20°C. Se illustrasjon av uttak av vedprøver i figur 4.



Figur 4. Illustrasjon av uttak av vedprøver.

2.3 Kjemisk analyse

Vi analyserte konsentrasjoner av fenoler i vedprøvene med væskechromatografi, videre kalt HPLC (high-performance liquid chromatography).

2.3.1 Klargjøring av prøvene

Etter ca. fem døgn i tørkeskap (30°C) ble prøvene lagret tørt og mørkt frem til oppmaling. Prøvene ble malt til pulver ved bruk av kulemølle (Retch MM400, Haag, Tyskland) og det ferdige pulveret ble lagret tørt og mørkt i Eppendorfrør frem til de skulle veies inn. Pulveret fra kjerneveden ble veid inn til ca. 20 mg, mens pulveret fra yteveden ble veid inn til ca. 40 mg. Den nøyaktige vekten ble registrert og prøvene ble overført til prøverør i plast sammen

med tre homogeniseringskuler av teflon. Prøverørene ble lagret mørkt og tørt frem til ekstraksjon.

2.3.2 Ekstraksjon

Prøverørene med de innveide prøvene ble tilsatt 400 µl metanol (MeOH) (VWR, BHD chemicals, Hi Per Solv Chromanorm. Reag Ph. Eur. For HPLC- gradient grade) og homogenisert i 20 s ved bruk av Precyllis 24 homogenisator (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, Frankrike). Deretter ble prøvene satt i isbad i 15 min før de ble sentrifugert på maks fart (15.000 rpm) i tre min. Etter sentrifugering ble væsken (kalt supernatanten) pipettert over i et merket 10 ml plastrør. Det gjenværende bunnfallet ble på nytt tilsatt 400 µl MeOH og homogenisert i 20 s, men ikke lagt på isbad før sentrifugering. Etter sentrifugering ble væsken på samme måte pipettert over i det samme røret. Dette ble gjentatt to ganger til (totalt fire runder per prøve, inkludert den første runden med isbad). På de to første prøvene ble en femte runde kjørt, og supernatanten fra det ble testet på HPLC for å forsikre oss om at fire runder var nok til å ekstrahere mesteparten av fenolene. Den ekstraherte supernatanten ble tørket i en vakuumsentrifuge (Eppendorf concentrator plus; Eppendorf, Hamburg, Tyskland) i ca. tre timer ved 30°C på program for alkoholfordampning (V-AL). Plastrørene med det tørre ekstraktet ble påført lokk og lagret i fryser (-20°C) frem til analyse på HPLC.

2.3.3 HPLC-analyse

Det tørre ekstraktet ble tatt ut av fryseren og tint i minst 30 min. Prøvene ble deretter løst opp i 200 µl MeOH og 200 µl ultradestillert vann, ved hjelp av ultralydbad. For å unngå at væske skulle fordampe i prosessen (som gir endret konsentrasjon), var lokkene på plastrørene kun av ved tilsetning av metanol og vann. Etter at prøvene var helt oppløst, ble de overført til Eppendorfrør og sentrifugert på maks fart (15.000 rpm) i tre min. Deretter ble væsken pipettert (for å unngå at partikler ble med) over i HPLC-glass og lokk ble satt på.

Ekstraktet ble analysert med et system for væskechromatografi (HPLC) (Agilent series 1100, Agilent Technologies, Waldbronn, Tyskland). Systemet bestod av en binær pumpe (G1312A), en auto-sampler med termostat (G1329A), en kolonneovn med termostat (G1316A) og en diode-matrise-detektor (G1315B). Fenolene ble separert med en kolonne med lengde 50mm og indre diameter på 4,6mm som var fylt med ODS Hypersil (3 µm) partikler (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA). Den mobile fasen bestod av to forskjellige løsninger (A og B) som ble brukt til eluering av prøvene. A-løsningen bestod av 30 ml tetrahydrofuran og fem ml ortofosforsyre blandet i ultradestillert vann til et volum på til sammen 2000 ml. B-

løsningen var metanol (MeOH) av kromatografikvalitet. Prøvene ble eluert etter gradienten beskrevet av Julkunen-Tiitto et al. (1996).

Injeksjonsvolumet var på 20 µl, og prøvene ble kjørt på 30°C. Fenolene ble identifisert ved å sammenlikne spekterdiagrammet fra absorbansen ved 320 nm og de respektive retensjonstidene med en kommersielt tilgjengelig standard av pinosylvin (Sigma-Aldrich). Pinosylvin (PS) og pinosylvinmonometyleter (PSM) hadde tydelige toppen i kromatogrammene, ved retensjonstider på henholdsvis 31.8 og 42.1 min. Arealet under disse toppene ble brukt til beregning av konsentrasjonen av stoffene med følgende formel; $(\text{areal} * \text{RF} * \text{volum oppløst}) / (\text{vekt} * \text{injisert volum}) = \text{konsentrasjon i mg/g tørrvekt}$, der «areal» er arealet under toppene for PS/PSM, «RF» er en responsfaktor for PS ved 320 nm bølgelengde basert på standardkurver, «vekt» er tørrvekt av innveid prøve og «injisert volum» er volumet som ble injisert i HPLC-analysen.

2.4 Råtetest

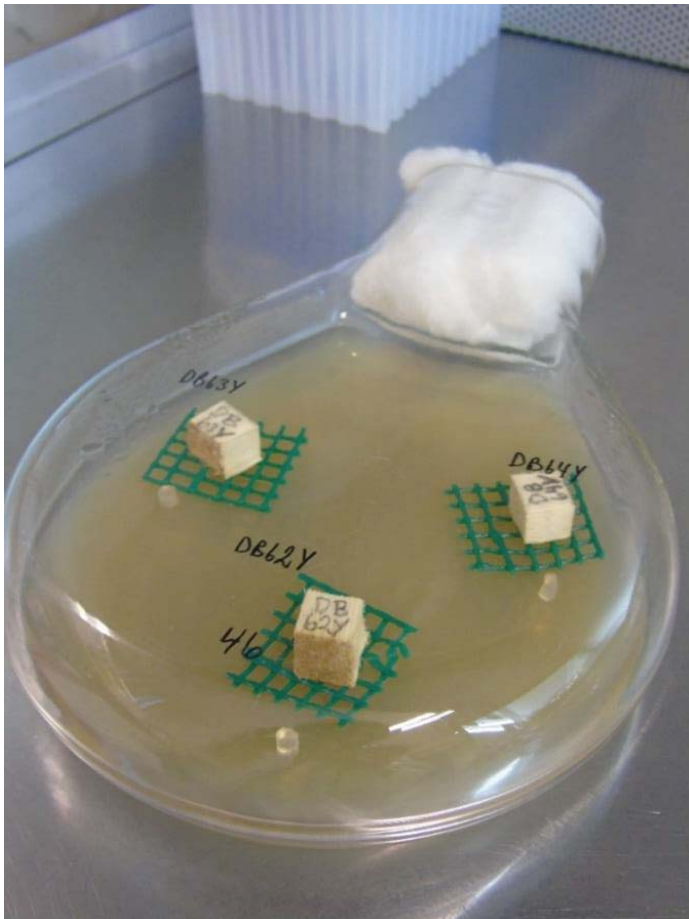
Vi analyserte prøvenes motstandsdyktighet mot råtesopp ved en modifisert EN113-test (CEN, 1997). De 180 prøvene ble fordelt på totalt 60 Kolle flasker, slik at prøver fra samme vedtype (kjerne- eller yteved) og samme individ (samme tre) ble lagt i samme flaske. Det oppsettet gav to flasker per tre, en flaske med tre prøver fra kjerneveden og en flaske med tre prøver fra yteveden (en prøve fra hver stammeskive).

2.4.1 Klargjøring av vedprøver og EN113-flasker

Flis og løse fraksjoner ble fjernet fra prøvene, slik at ingen biter skulle falle av under testen. Deretter ble prøvene tørket ved 60°C i fire døgn og avkjølt i eksikator (et kammer med silicagel som tar opp fuktighet) før de ble veid til «opprinnelig tørrvekt». Prøvene ble så klimatisert ved 20°C og 65% RH frem til prøvene nådde stabil vekt, og ble så veid til «opprinnelig klimatisert vekt». Vekstmedium ble laget med 40 g malt (Difco™ Malt Extract 500g, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD 21152 USA, 38800 Le Pont de Claix, France) + 20 g agar (Agar powder for bacteriology, 1 kg, VWR Chemicals BDH PROLABO, Geldenaalsebaan 464-B-3001 Leuven, Belgium) + 1000 ml deionisert vann. Mediet ble kokt med jevnlig omrøring i ca. en time frem til løsningen klarnet. Hver flaske ble tilsatt ca. 90 ml medium og tettet med propp av bomull før autoklivering (sterilisering). Flaskene ble autoklavert i 20 min ved 121°C og deretter avkjølt i sterilbenk. De sterile flaskene ble lagret kjølig (3°C) frem til inokulering av sopp og prøver.

2.4.2 Inokulering av sopp og inkubering av flasker

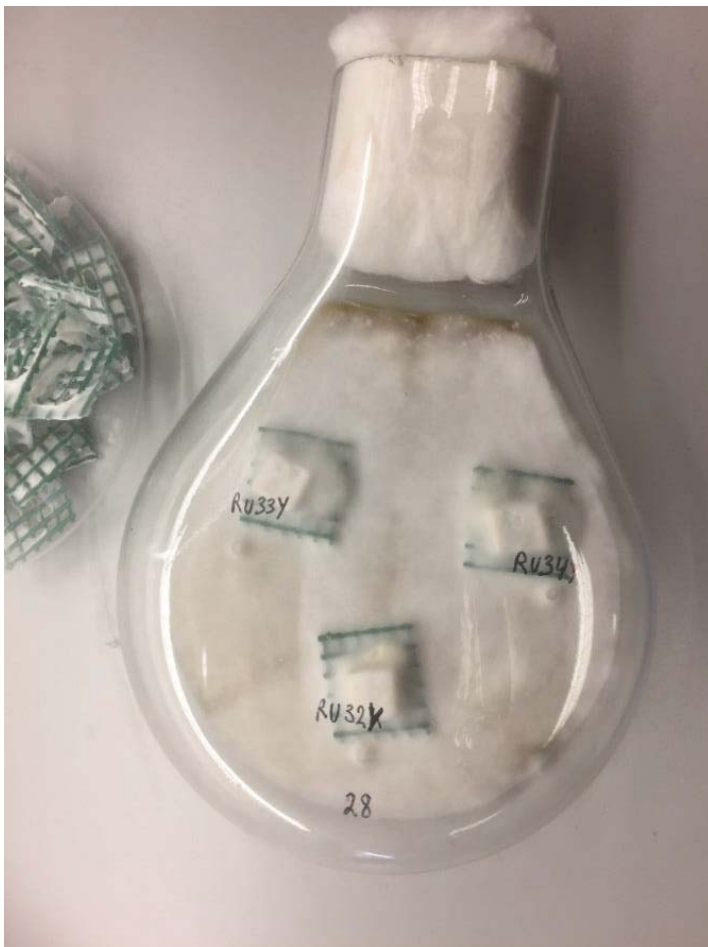
Testsoppen *Rhodonia placenta* (strain FPRL 280) (pastellkjuke) ble dyrket i petriskål med 4% maltagar som vekstmedium. Soppen ble dyrket ca. ni dager før inokulering. Under sterile betingelser ble hver flaske inokulert med tre sylindriske pluggene (4 mm ø, 4 mm høye) av testsoppen. Pluggene ble plassert i mediet i et trekantet mønster med ca. lik avstand mellom hver. Passende store ruter (ca. 2x2 cm) med steril plastnetting («spacer») ble lagt inn ved siden av sopp-pluggene og til slutt ble vedprøvene lagt oppå disse «spacerne». «Spacerne» sørget for at vedprøvene ikke var i direkte kontakt med mediet, som ville ført til for høye fuktnivåer i prøvene. Prøvene ble plassert etter fast mønster, med prøven fra stammeskive nr. 2 innerst, fra nr. 3 til høyre for flaske-åpningen og fra nr. 4 til venstre for flaskeåpningen (se figur 5). Flaskene ble inkubert i lystett klimarom med $70 \pm 5\%$ RH og 22 ± 2 °C i tolv uker.



Figur 5: Inokulerte flasker klare for råtetest. Foto: Sigrun Kolstad.

Etter at prøvene hadde stått i tolv uker, ble flaskene tatt ut av klimarommet og prøvene ble tatt ut av flaskene (se figur 6; prøver dekket med soppmycel). Soppmycel ble tørket forsiktig av

overflaten av prøvene før de ble veid inn til «fuktig vekt etter nedbrytning». Etter veiing ble prøvene tørket ved 102°C i ca. 18 timer. Prøvene ble så avkjølt i eksikator før de til slutt ble veid inn til «tørrvekt etter nedbrytning». Massetapet til prøvene ble beregnet av differansen mellom «opprinnelig tørrvekt» og «tørrvekt etter nedbrytning». Fuktinnholdet i prøvene ble beregnet av differansen mellom «fuktig vekt etter nedbrytning» og «tørrvekt etter nedbrytning».



Figur 6. Prøver overvokst av soppmycel etter 12 uker. Foto: Even Vereide.

2.5 Dataanalyse

Figurer ble laget i Microsoft©Excel 2020 og statistiske analyser ble gjort i R Commander, versjon 3.4.3 (The R Development Core Team 2017). Data fra kjemiske analyser og råtetesten ble sammenstilt. Før statistiske analyser på forskjeller mellom behandlingene (flekkbarket/kontroll) og andre variabler, ble dataene fra yteved- og kjernevedprøvene adskilt for å unngå interaksjonseffekter på grunn av store forskjeller mellom vedtypene. Alle tester ble utført ved 95% konfidensnivå.

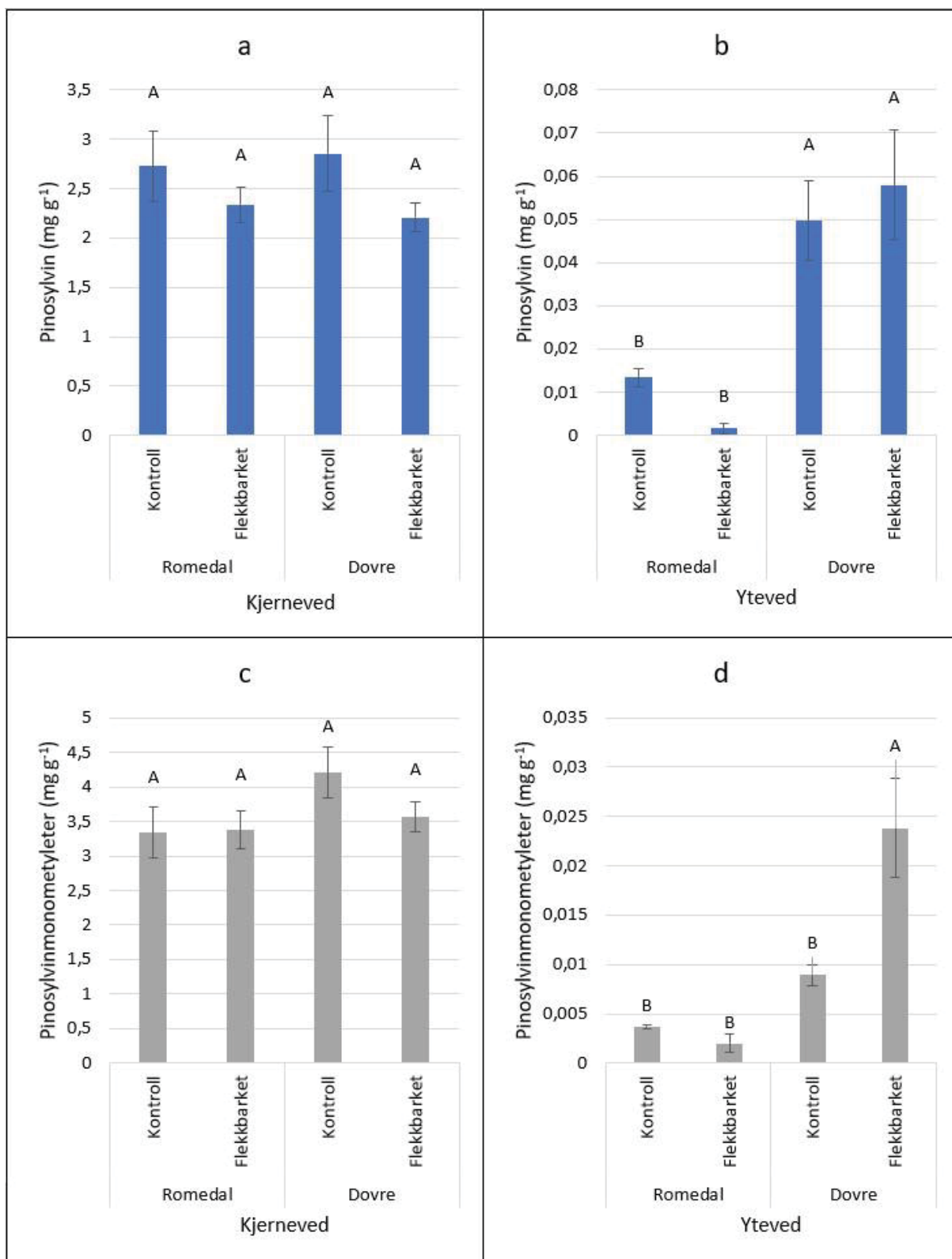
Lineær regresjon mellom «massetap» (som responsvariabel) og konsentrasjon av «PS» og «PSM» (som forklarende variabler) ble kjørt for hver vedtype (kjerne/yte). Dette ble også gjort med «fuktinnhold» som responsvariabel. Det ble laget flerveis ANOVA-modeller med «massetap» og konsentrasjon av «PS» og «PSM» som respons-variabler. Modellene ble laget med gruppering for «sted» (Romedal/Dovre) og «behandling» (flekkbarket/kontroll). For å teste statistiske forskjeller mellom «sted» og forskjeller mellom flekkbarkedede prøver og kontrollprøver, ble det kjørt «Tukeys HSD-test» på ANOVA-modellene. For å teste om det er forskjeller mellom innhold av PS og PSM, ble «paired-samples Wilcoxon tests» kjørt for hver vedtype.

Analyse på forskjeller mellom uttakshøyde (stammeskiver 2, 3 og 4) ble gjort på ANOVA-modeller med «PS» og «PSM» som responsvariabler med gruppering etter «skivenummer» (2, 3 og 4) og «sted» (Romedal/Dovre). For å teste forskjellene mellom uttakshøydene ble «Tukeys HSD-test» kjørt på disse modellene. Korrelasjonsanalyser ble gjort mellom PS og PSM og mellom fuktinnhold og massetap.

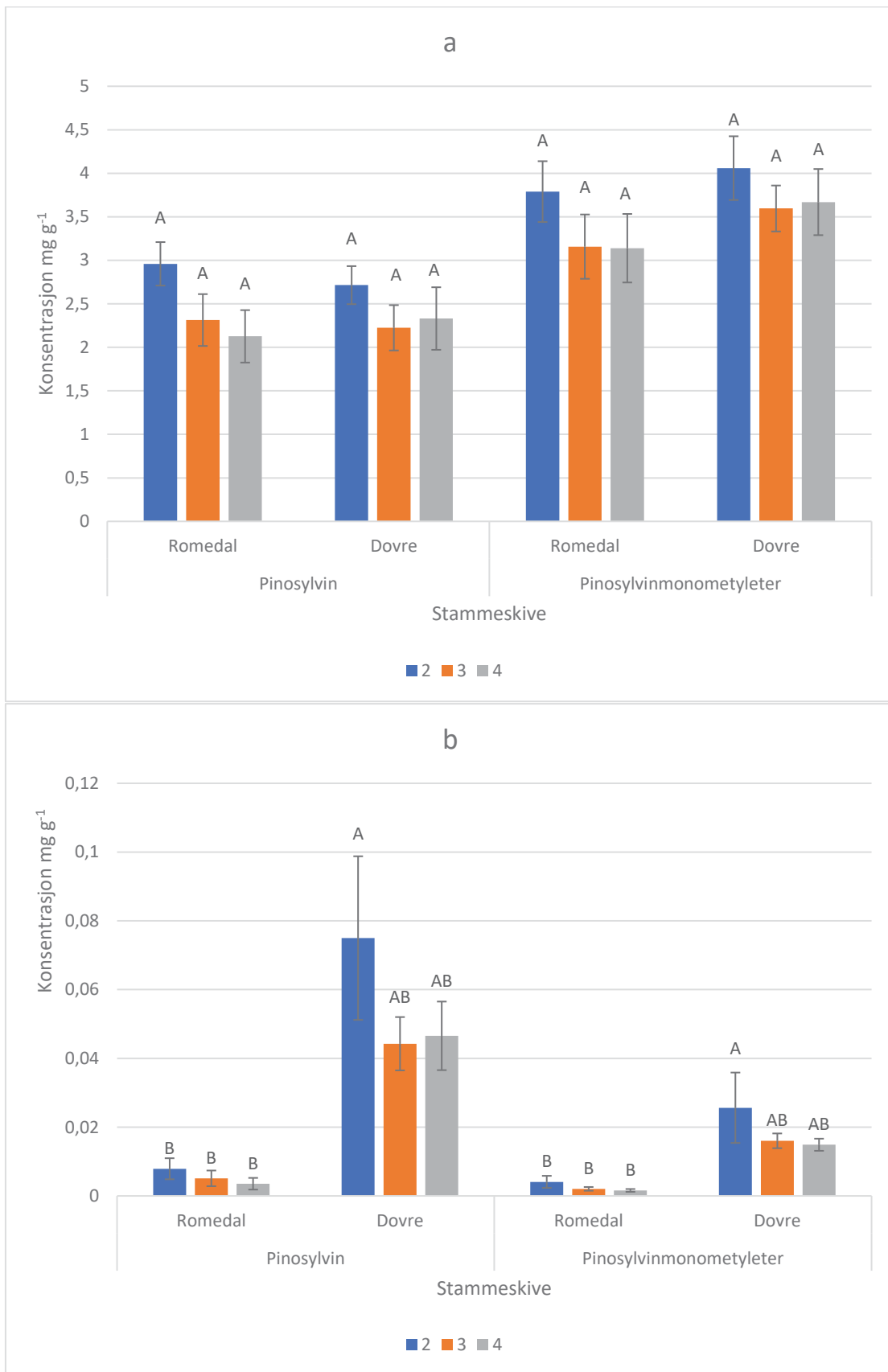
3 Resultater

Det var få signifikante forskjeller mellom kontrolltrær og flekkbarkedede trær. Mengden PS og PSM varierte mye mellom trær, og det var som forventet en høyere konsentrasjon av stilbenene i kjerneved enn i yteved. Innholdet av PSM var signifikant høyere enn PS i kjernevedprøvene, men i ytevedprøvene var det motsatt, med signifikant høyere innhold av PS (figur 7 og 8). Etter flekkbarking ble den eneste signifikante endringen en økning i mengde PSM i ytevedprøvene fra Dovre (figur 7d). En tendens til økning i PS ble også observert i disse prøvene (figur 7b). Kjernevedprøvene fra Romedal og Dovre hadde nesten helt likt innhold av både PS og PSM (figur 7a og 7c), mens ytevedprøvene fra Dovre hadde signifikant høyere innhold av PS og PSM i forhold til ytevedprøvene fra Romedal (figur 7b og 7d). I kjernevedprøvene fra både Romedal og Dovre, samt ytevedprøvene fra Romedal, hadde mengde PS og PSM en tendens til å minske etter flekkbarking, men de observerte forskjellene var ikke statistisk signifikante (figur 7).

Korrelasjonen mellom innhold av PS og PSM var høy i både kjerne- og ytevedprøvene, med hhv $r^2 = 0,66$ og $r^2 = 0,77$. Innhold av PS og PSM viser også en tendens til å være høyest i den nederste delen av treet (stammeskive nr. 2, figur 8). Ved visuell inspeksjon av stammeskivene ble det observert en rødlig farge i yteveden i skiver fra alle flekkbarkedede trær fra Romedal (se bilde i figur 9). Slik farge ble ikke observert på noen av de andre stammeskivene.



Figur 7. Innhold av pinosylvin (PS) (a og b) og pinosylvinmonometyler (PSM) (c og d) i prøver fra kontrolltrær og flekkbarked trær fra Romedal og Dovre. Feilfeltene er uttrykt som standardfeil. Bokstavene over barene forteller hvilke observasjoner som er signifikant forskjellig, der A er forskjellig fra B. Dette gjelder kun innad i delfigurene (a-d), da det er forskjellig mengde PS og PSM i de forskjellige vedtypene (se forskjell mellom skalaene i delfigurene).



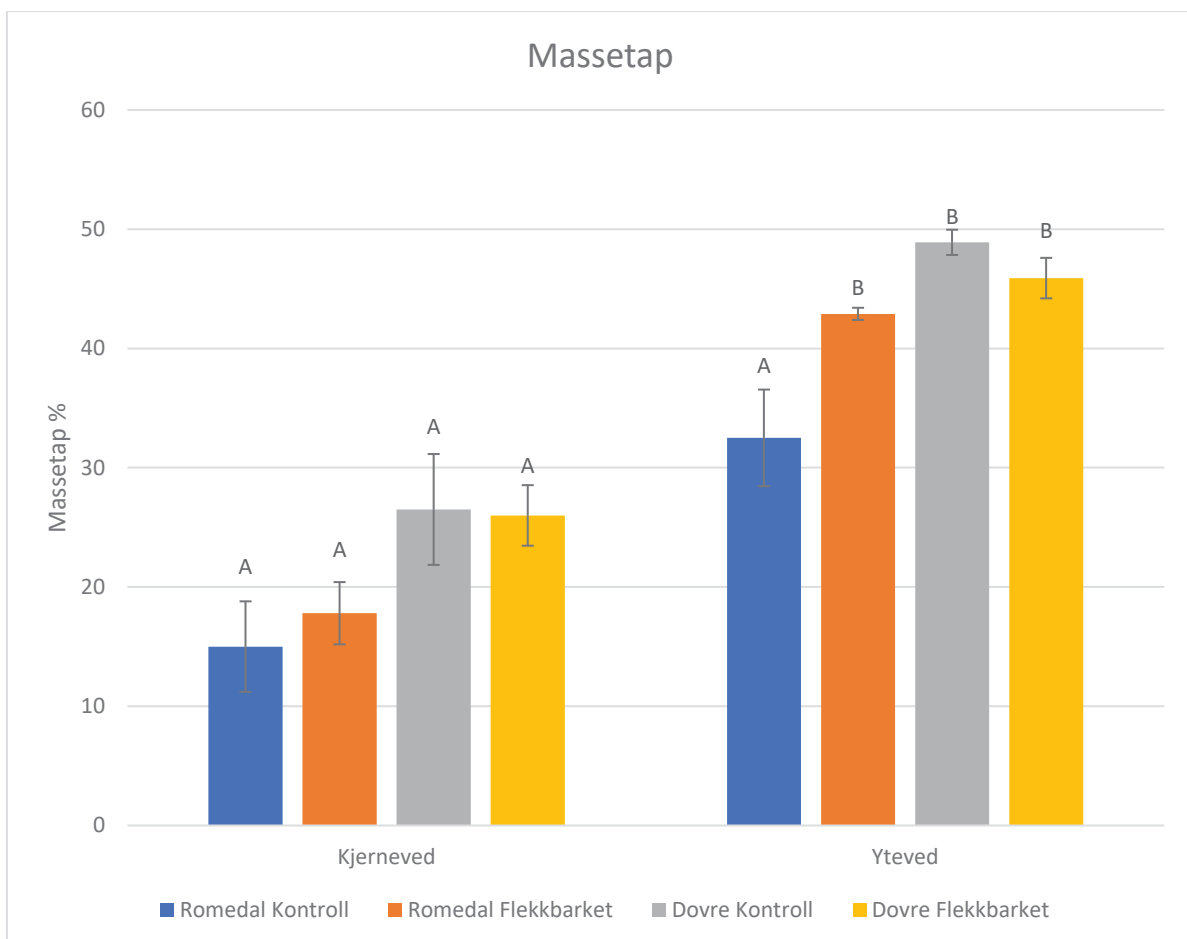
Figur 8. Forskjell mellom pinosylvin (PS) og pinosylvinmonometyleter (PSM), fordelt på de tre stammehøydene (2, 3 og 4) (se forklaring i figur 3) i kjerneveden (a) og yteveden (b). Feilfeltene er uttrykt som standardfeil. Bokstavene over barene forteller hvilke observasjoner som er signifikant forskjellig, der A er forskjellig fra B (gjelder bare innad i delfigurene og gjelder ikke mellom PS og PSM).



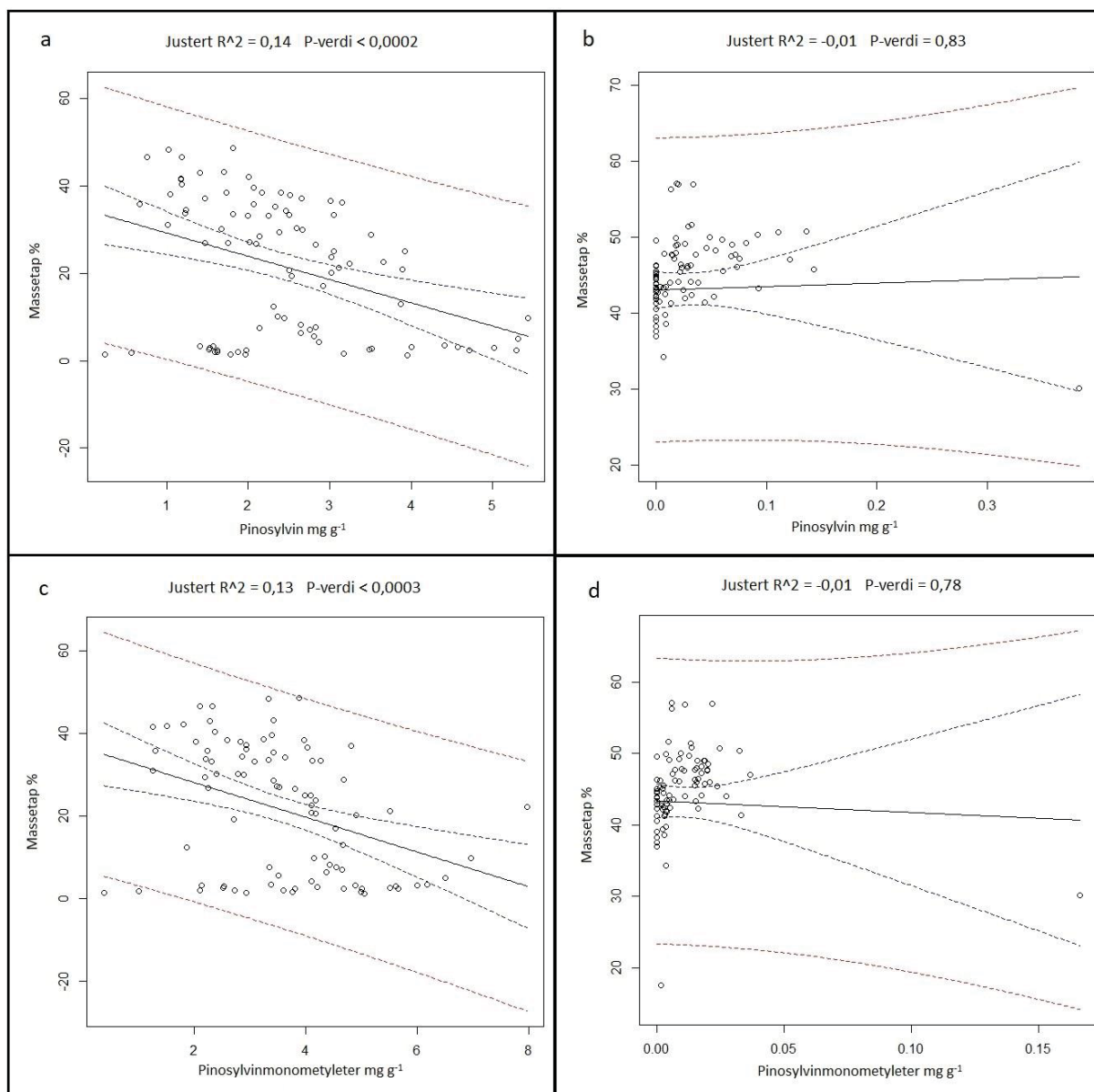
Figur 9: Rødlig farge på yteveden i stammeskiver fra flekkbarkede trær fra Romedal (skivene til høyre), sammenliknet med ytevedskiver fra flekkbarkede trær fra Dovre (til venstre). Foto: Even Vereide

Massetapet ved råtetesten var betraktelig mindre i kjerneveden enn i yteveden (figur 10). Massetapet i kjernevedprøvene viser en negativ korrelasjon med innholdet av PS og PSM, med justert r^2 på ca. 0,14 ($P < 0,0006$) (se figur 11). Det betyr at innholdet av PS og PSM i kjernevedprøvene kunne forklare ca. 14% av variasjonen i massetapet, og at massetapet avtok

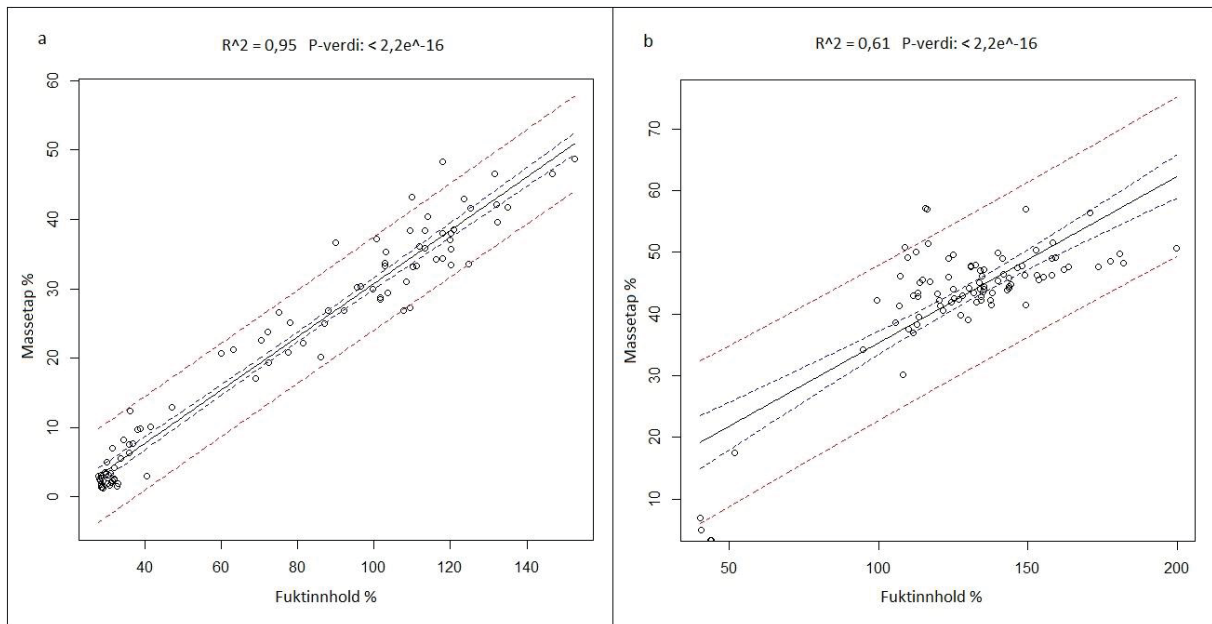
med økende mengde PS og PSM. Massetapet i ytevedprøvene viste praktisk talt ingen korrelasjon med innholdet av PS og PSM (figur 11). I forhold til massetapet, viste fuktinnholdet i kjernevedprøvene en litt sterkere korrelasjon med innholdet av PS og PSM, med $r^2 = 0,16$ ($P < 0,0002$). Variasjonen i massetap var påfallende større i kjernevedprøvene enn i ytevedprøvene (figur 10). Prøvene fra Romedal viste tendens til et større massetap i flekkbarkede prøver enn kontroll, fra både kjerneved (ikke signifikant forskjellig) og yteved (signifikant forskjellig). Prøvene fra Dovre viste tendenser til det motsatte. Romedalprøvene viste også tendens til generelt mindre massetap i forhold til Dovreprøvene i begge vedtypene (figur 10.). Massetapet i prøvene korrelerte sterkt med fuktinnholdet i samme prøve, med $r^2 = 0,95$ for kjernevedprøvene og $r^2 = 0,60$ for ytevedprøvene (figur 12).



Figur 10. Massetap (i % av opprinnelig tørrvekt) i råtetesten i prøver fra kontrolltrær og flekkbarkede trær fra begge lokaliteter, delt for kjerneved og yteved. Feilfeltene er uttrykt som standardfeil. Bokstavene over barene forteller hvilke observasjoner som er signifikant forskjellig, der A er forskjellig fra B (gjelder ikke mellom kjerneved og yteved).



Figur 11. Korrelasjon mellom massetap i råtetesten og konsentrasjoner av pinosylvin og pinosylvinmonometyleter. Delfigurene a og c er fra kjernevedprøvene, og b og d er fra ytevedprøvene. R^2 uttrykker korrelasjonen. P-verdien viser sannsynligheten for at den gjeldende observasjonen er tilfeldig.



Figur 12. Korrelasjon mellom fuktinnhold og massetap i kjernevedprøvene (a) og ytevedprøvene (b) ved råtetesten. R^2 uttrykker korrelasjonen. P-verdien viser sannsynligheten for at den gjeldende observasjonen er tilfeldig.

4 Diskusjon

Etter flekkbarking var den eneste kjemiske endringen en økning i innholdet av PSM i ytevedprøvene fra Dovre, mens ytevedprøvene fra Romedal ikke viste en slik endring. Ellers var innholdet av både PS og PSM generelt lite endret én vekstsesong etter flekkbarking, slik at min første hypotese ikke kan bekreftes. Dette står også i motsetning til tidligere studiers funn med klar økning av disse stoffene i yteveden kort tid etter såring (Gustafsson et al., 2003; Harju et al., 2009). Trærne i studiet til Gustafsson et al. (2003) og Harju et al. (2009) var hhv omtrent 50 år gamle med ukjente vekstforhold og tre år gamle med gode vekstforhold. Trærne i mitt studium var mellom 130 og 200 år og hadde midlere vekstforhold (middels bonitet). Disse forskjellene kan være med på å forklare forskjellen i resultatene, og kan støtte opp om Ekman (1903) sin påstand om at trærne som skal flekkbarkes bør være i «god vekst» og mellom 60 og 100 år gamle for at flekkbarking skal gi gode resultater. Da induserte harpikssyrer («kva») i yteveden er foreslått å dannes av lokalt tilgjengelige karbohydrater (Wolter & Zinkel, 1984), kan det nettopp være en fordel med «god vekst» med høyt innhold av karbohydrater i yteveden. Trærne trenger nødvendigvis ikke være unge (60-100 år) for å være i «god vekst», da redusert vekst i eldre furutrær er foreslått å hovedsakelig komme av lukking av kronetaket og for høy konkurranse (Martinez-Vilalta et al., 2007). Det kan unngås ved konkurransereduserende tiltak. Dette støttes også opp av et eksperiment der lett skading av barken av virakfuru (*Pinus taeda*) viste en økende flyt av harpikssyrer med økende størrelse på trekronen (Ruel et al., 1998).

Råtetesten viste ingen tydelig forskjell mellom kontrolltrærne og de flekkbarkede trærne, noe som står i motsetning til min andre hypotese. Kjernevedprøvene fra Romedal har et litt lavere massetap enn de fra Dovre (ikke signifikant forskjellig) selv om prøvene har ganske lik mengde av PS og PSM. Dessuten har også ytevedprøvene fra Romedal et lavere massetap enn de fra Dovre, og her har Dovreprøvene et tydelig høyere innhold av både PS og PSM. Dette kan dermed tyde på at det er andre viktigere forskjeller mellom trærne fra Romedal og Dovre enn de vi har undersøkt, som er avgjørende for soppresistensen. Korrelasjonsanalysen mellom massetap og innhold av PS og PSM viste ingen tydelig sammenheng i ytevedprøvene og en svak negativ sammenheng i kjernevedprøvene. De svake korrelasjonene mellom innhold av pinosylviner og råteresistens står i motsetning til tidligere studier som har funnet sterkere sammenhenger (Lu et al., 2016; Venäläinen et al., 2004). Klossene som ble brukt i råtetesten er søsterprøver av prøvene som ble brukt i de kjemiske analysene. For noen trær ble det observert stor variasjon i innhold av forsvarsstoffer innad i treet (mellom stammeskiver), men

siden prøvene ble tatt ut rett ved siden av hverandre ble det antatt at forskjellen mellom dem var minimal. Det må likevel regnes med litt usikkerhet i forbindelse med dette.

Ved dannelsen av kjerneved er det foreslått at plantehormonet etylen spiller en regulerende rolle, da det er observert høyere innhold av etylen ved grensen til kjerneveden enn lenger ut i yteveden (Shain & Hillis, 1973). Det er også foreslått at mekanisk skading kan øke innholdet av dette hormonet i yteveden, og dermed gi yteveden egenskaper som kan sammenliknes med det vi finner i kjerneveden (Nagy et al., 2006). I et eksperiment der det ble boret hull i furutrær og hullene ble fylt med etylengass, ble det observert en økning i innhold av harpikssyrer i yteveden som var høyere enn det naturlige innholdet i kjerneveden i det samme treet (Nilsson et al., 2002). Når det gjelder flekkbarking, ble det allerede i 1903 foreslått at cellene nær skadestedet slutter å transportere vann og fylles med harpiks (Ekman, 1903). «Harpikssyrer» er en fellesbetegnelse for flere karboksylsyrer (Zeiss, 1948) som utgjør det vi i Norge ofte omtaler som «kvæ». Ved skader i barken på furu er det kjent at trærne raskt sender harpikssyrer som en slags sårveske til sårstedet, og det er funnet tegn til at såring ikke bare fører til en mobilisering av «stående harpikssyrer», men at det også kan øke treet's harpiksproduksjon i eksisterende harpikskanaler (Ruel et al., 1998). Formasjon av traumatiske harpikskanaler i furu er studert i mindre grad, men det er funnet tegn til at furu kan produsere slike kanaler i vev helt inntil (mindre enn 2 cm fra) soppinfiserte sår (Nagy et al., 2006). Som nevnt fant Wolter og Zinkel (1984) tegn til at harpikssyrer ikke transporteres fra andre steder i treet og frem til såret, men at karbohydrater lokalt i veden blir omdannet til harpikssyrer. Resultater fra Nilsson et al. (2002), Ekman (1903) og Wolter og Zinkel (1984) tyder på at denne prosessen er treg og at sårreaksjonen utvikler seg gradvis fra den ytterste delen av såret (ved barken) og innover i veden. Dersom «tilstrekkelig impregnering» (Ekman, 1903) skal oppnås, gir det derfor mening at trærne må stå noen år etter avbarking. Denne «trege prosessen» burde undersøkes nærmere i fremtidige studier.

Harpikssyrenes rolle i furuvedens soppresistens er, i likhet med stilbenenes rolle, uklar, men det er foreslått at de har en vannavvisende egenskap som indirekte gjør veden utilgjengelig for nedbrytere (Panshin and de Zeeuw (1980) i Harju et al. (2002)). Dette støttes imidlertid ikke av funnene i studiet til Venäläinen et al. (2004), som ikke fant noen sammenheng mellom fuktinnholdet og harpiksinnholdet i kjerneved i furutrær. I et studium av trær som ble klassifisert som «resistente» eller «utsatte» for sopp, var det et tydelig høyere innhold av harpiks i trærne som var «resistente». Feio et al. (1999) fant tydelige tegn til at flere harpikssyrer, som er typiske for furufamilien, hadde sopphekkende egenskaper.

De flekkbarkede trærne i dette studiet har bare fått en vekstsesong på å reagere, og resultatene fra den kjemisk analysen og råtetesten kan dermed tyde på at det har gått for liten tid fra flekkbarking til prøveuttak. Som nevnt er det etter tradisjonen vanlig å la flekkbarkede trær stå i tre år eller mer før hogst (Godal, 1996). Ekman (1903) påstod at trær burde stå i fem til seks år etter flekkbarking før «tilstrekkelig impregnering oppnås». Likevel er det rapportert store endringer i innhold av pinosylviner etter bare én vekstsesong etter avbarking (Gustafsson et al., 2003), som står i motsetning til det som ble observert i dette studiet. Prøvene som ble analysert i studiet til Gustafsson et al. (2003) ble hentet ut i slutten av den første vekstsesongen etter avbarking, mens prøvene i dette studiet ble hentet ut etter at trærne hadde gått i vinterhvile. Om noe skjer med innholdet av stilbener når trærne går i vinterhvile er uklart og burde undersøkes nærmere.

Noen av bygningene med flekkbarket tømmer har stått i flere hundre år, selv om flere råtesopper er vist å være i stand til å bryte ned pinosylvin (Lu et al., 2016; Lyr, 1962) over tid. Enzymene som er foreslått å være aktive oksidanter under nedbryting av pinosylviner er tyrosinase, lakkase og peroksidase, som alle er typisk for flere råtesopper (Lyr, 1962). Lu et al. (2016) fant tydelige tegn til at pinosylviner ble brutt ned av pastellkjuke (*Rhodonia placenta*) og kjellersopp (*Coniophora puteana*). Sistnevnte er en av de viktigste råtesoppene i bygninger i Norge (Alfredsen et al., 2005). Det kan derfor tenkes at råteresistens i flekkbarket tømmer, over tid er mindre avhengig av innholdet av pinosylviner enn forventet, og at det er andre faktorer som spiller viktigere roller. Kanskje er det økt innhold av harpikssyrer eller redusert innhold av karbohydrater og vann (Gustafsson et al., 2003) som er de viktigste faktorene? Kanskje ligger svaret i en kombinasjon av disse. Pinosylviner har vist seg å virke som fytoaleksiner mot f.eks. barkbiller og soppinfeksjoner (Bois & Lieutier, 1997; Franceschi et al., 2005; Villari et al., 2012), og kanskje er det nettopp det som er den viktigste oppgaven til stilbenene i furu? Kanskje er det metningen av ekstraktiver som til slutt blir så stor at soppen ikke blir i stand til å hente næringsstoffer fra vedcellene?

Undersøkelse av innhold av ekstraktiver i veden etter råtetest slik det ble gjort i Lu et al. (2016), kan gi nyttig informasjon om soppens evne til å bryte ned f.eks. stilbener, og burde vurderes som en del av videre studier. Utviklingen i veden etter flekkbarking burde følges over flere år, kanskje opp mot seks år for å få et godt inntrykk av hvilke faktorer som gjør veden holdbar. Harpikssyrenes rolle burde undersøkes nærmere. Det kan også være hensiktsmessig å undersøke om det er forskjeller i dybden av yteveden, og hvordan disse eventuelle forskjellene endrer seg over tid.

5 Litteraturliste

- Alfredsen, G., Solheim, H. & Jenssen, K. (2005). Evaluation of decay fungi in Norwegian buildings. Avfallsforskriften. (2004). *Forskrift om gjenvinning og behandling av avfall av 1. juni 2004 nr. 930*. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2004-06-01-930> (lest 23.04.2019).
- Bergström, B., Gustafsson, G., Gref, R. & Ericsson, A. (1999). Seasonal changes of pinosylvin distribution in the sapwood/heartwood boundary of *Pinus sylvestris*. *Trees-Structure and Function*, 14 (2): 65-71. doi: 10.1007/s004680050210.
- Bergström, B. (2003). Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris*. *Forestry*, 76 (1): 45-53. doi: 10.1093/forestry/76.1.45.
- Bois, E. & Lieutier, F. (1997). Phenolic response of Scots pine clones to inoculation with *Leptographium wingfieldii*, a fungus associated with *Tomicus piniperda*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35 (10): 819-825.
- CEN. (1997). *EN 113. Wood Preservatives - Test method for determining the protectiveness against wood destroying bacidiomycetes*. Brussels: European Committee for Standardisation.
- Chong, J. L., Poutaraud, A. & Huguene, P. (2009). Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177 (3): 143-155. doi: 10.1016/j.plantsci.2009.05.012.
- Ekeberg, D., Flaete, P. O., Eikenes, M., Fongen, M. & Naess-Andresen, C. F. (2006). Qualitative and quantitative determination of extractives in heartwood of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1109 (2): 267-272. doi: 10.1016/j.chroma.2006.01.027.
- Ekman, W. (1903). Tallvirkets impregnering genom stammens barking å rot. *Skogvårdsföreningens tidskrift*.
- Faldt, J., Solheim, H., Langstrom, B. & Borg-Karlson, A. K. (2006). Influence of fungal infection and wounding on contents and enantiomeric compositions of monoterpenes in phloem of *Pinus sylvestris*. *Journal of Chemical Ecology*, 32 (8): 1779-1795. doi: 10.1007/s10886-006-9109-9.
- Feio, S., Gigante, B., Roseiro, J. & Curto, M. (1999). Antimicrobial activity of diterpene resin acid derivatives. *Journal of microbiological methods*, 35: 201-6. doi: 10.1016/S0167-7012(98)00117-1.
- Forskrift om forbud mot CCA-impregnering. (2001). *Forskrift om forbud mot bruk av CCA-impregnert trevirke av 10. september 2001 nr. 1102*. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2001-09-10-1102> (lest 23.04.2019).
- Franceschi, V. R., Krokene, P., Christiansen, E. & Kreckling, T. (2005). Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytologist*, 167 (2): 353-375. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x.
- Godal, J. B. (1996). *Tre til laft og reis*: Landbruksforl.
- Gustafsson, G., Bergstrom, B., Gref, R. & Ericsson, A. (2003). Changes in chemical constituents in the sapwood of *Pinus sylvestris* due to debarking. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 18 (1): 90-96. doi: 10.1080/02827580308617.
- Harju, A. M., Kainulainen, P., Venäläinen, M., Tiitta, M. & Viitanen, H. (2002). Differences in Resin Acid Concentration between Brown-Rot Resistant and Susceptible Scots Pine Heartwood. *Holzforschung*, 56 (5): 479-486. doi: 10.1515/hf.2002.074.
- Harju, A. M., Venäläinen, M., Laakso, T. & Saranpää, P. (2009). Wounding response in xylem of Scots pine seedlings shows wide genetic variation and connection with the constitutive defence of heartwood. *Tree Physiology*, 29 (1): 19-25. doi: 10.1093/treephys/tpn006.
- Heil, M. & Ton, J. (2010). Systemic Resistance Induction by Vascular and Airborne Signaling. I: b. 71, s. 279-306.
- IAWA. (1964). *Multilingual glossary of terms used in wood anatomy*. Winterthur, Switzerland: Verlagsanstalt Buchdruckerei Konkordia.
- IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. I: [Core Writing Team, R. K. P. a. L. A. M. e. (red.)]. Geneva, Switzerland, 151pp.
- Julkunen-Tiitto, R., Rousi, M., Bryant, J., Sorsa, S., Keinänen, M. & Sikanen, H. (1996). Chemical diversity of several Betulaceae species: Comparison of phenolics and terpenoids in northern birch stems. *Trees-Structure and Function*, 11 (1): 16-22. doi: 10.1007/s004680050053.

- Kartverket. (2020). *Kartdata*. Tilgjengelig fra: <https://www.norgeskart.no/> (lest 21.04.20).
- Lu, J. R., Venäläinen, M., Julkunen-Tiitto, R. & Harju, A. M. (2016). Stilbene impregnation retards brown-rot decay of Scots pine sapwood. *Holzforschung*, 70 (3): 261-266. doi: 10.1515/hf-2014-0251.
- Lyr, H. (1962). DETOXIFICATION OF HEARTWOOD TOXINS AND CHLOROPHENOLS BY HIGHER FUNGI. *Nature*, 195 (4838): 289-&. doi: 10.1038/195289a0.
- Martinez-Vilalta, J., Vanderklein, D. & Mencuccini, M. (2007). Tree height and age-related decline in growth in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Oecologia*, 150 (4): 529-544. doi: 10.1007/s00442-006-0552-7.
- Meyer, L. & Brischke, C. (2015). Fungal decay at different moisture levels of selected European-grown wood species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 103: 23-29. doi: 10.1016/j.ibiod.2015.04.009.
- Nagy, N. E., Krokene, P. & Solheim, H. (2006). Anatomical-based defense responses of Scots pine (*Pinus sylvestris*) stems to two fungal pathogens. *Tree Physiology*, 26 (2): 159-167. doi: 10.1093/treephys/26.2.159.
- NIBIO. (2020a). *Arealinformasjon fra Kilden*. Tilgjengelig fra: <https://kilden.nibio.no/> (lest 11.03.20).
- NIBIO. (2020b). *Temperatur- og nedbørsdata fra Landbruksmeteorologisk tjeneste*. Tilgjengelig fra: <https://lmt.nibio.no/> (lest 04.05.20).
- Nilsson, M., Wikman, S. & Eklund, L. (2002). Induction of discolored wood in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Tree Physiology*, 22 (5): 331-338. doi: 10.1093/treephys/22.5.331.
- Olsen, M. (2018). *Er impregnert trevirke farlig avfall?* Tilgjengelig fra: <https://blogg.norskgjenvinning.no/er-impregnert-treverk-farlig-avfall> (lest 23.04.2019).
- Paasela, T., Lim, K.-J., Pietiäinen, M. & Teeri, T. H. (2017). The O-methyltransferase PMT2 mediates methylation of pinosylvin in Scots pine. *New Phytologist*, 214 (4): 1537-1550. doi: 10.1111/nph.14480.
- Ruel, J. J., Ayres, M. P. & Lorio, J. P. L. (1998). Loblolly pine responds to mechanical wounding with increased resin flow. *Canadian Journal of Forest Research*, 28 (4): 596-602. doi: 10.1139/x98-030.
- Shain, L. & Hillis, W. E. (1973). ETHYLENE PRODUCTION IN XYLEM OF PINUS-RADIATA IN RELATION TO HEARTWOOD FORMATION. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, 51 (7): 1331-1335. doi: 10.1139/b73-166.
- SSB, S. s. (2019). *Fakta om Skogbruk*. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/faktaside/skogbruk> (lest 18.03.2020).
- Townsend, T., Tolaymat, T., Solo-Gabriele, H., Dubey, B., Stook, K. & Wadanambi, L. (2004). Leaching of CCA-treated wood: implications for waste disposal. *Journal of Hazardous Materials*, 114 (1-3): 75-91. doi: 10.1016/j.jhazmat.2004.06.025.
- Venäläinen, M., Harju, A. M., Saranpää, P., Kainulainen, P., Tiitta, M. & Velling, P. (2004). The concentration of phenolics in brown-rot decay resistant and susceptible Scots pine heartwood. *Wood Science and Technology*, 38 (2): 109-118. doi: 10.1007/s00226-004-0226-8.
- Villari, C., Battisti, A., Chakraborty, S., Michelozzi, M., Bonello, P. & Faccoli, M. (2012). Nutritional and pathogenic fungi associated with the pine engraver beetle trigger comparable defenses in Scots pine. *Tree Physiology*, 32 (7): 867-879. doi: 10.1093/treephys/tps056.
- Wolter, K. E. & Zinkel, D. F. (1984). OBSERVATIONS ON THE PHYSIOLOGICAL-MECHANISMS AND CHEMICAL-CONSTITUENTS OF INDUCED OLEORESIN SYNTHESIS IN PINUS-RESINOSA. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere*, 14 (3): 452-458. doi: 10.1139/x84-080.
- Zeiss, H. H. (1948). The Chemistry of the Resin Acids. *Chemical Reviews*, 42 (1): 163-187. doi: 10.1021/cr60131a004.

Vedlegg – Oppskrift på kjernevedreagens

Reagens på furu kjerneved

Løsning A: 400 g natriumnitritt (NaNO_2) løst i 600 ml vann.

Løsning B: Mettet løsning av sulfanilsyre ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$) i vann.

Like deler av løsning A og B blandes og spes deretter med 5 deler vann til en bruksløsning. Denne er kun holdbar i noen timer. Kjerneveden farges oransje/rød.

Kilde: Nordisk trebeskyttelsesråd, NTR Dokument 3: 2013



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway