

Sluttrapport og prosjektrengnskap

1. Tittel: Kartlegging av svarte karstrenger i kålrot og identifisering av årsaker til sjukdommen (Svarte Karstrenger)

2. Sammendrag (maks. 250 ord)

Kålrot er en rotgrønnsak som er godt egnet til langtidslagring. Ved lagring er kålrota utsatt for å utvikle råte som følge av ulike plantepatogener. Mørkfarging av karstrenger og ledningsvev er et problem som ofte finnes i lagret kålrot og medfører at varen blir usalgbar. Disse symptomene har uklare årsaksforhold. Prosjektet Svarte Karstrenger har som mål å bedre kunnskapen om årsakene til svarte karstrenger i kålrot. Forekomst og utbredelse av symptomer på svarte karstrenger (SK) i kålrot er kartlagt ved bruk av en spørreundersøkelse blant kålrotprodusenter, og registrering av symptomer i felt, ved høsting og på lager. Sopp og bakterier er isolert fra kålrot med SK, og videre testet i smitteforsøk for å vurdere om de kan være medvirkende årsak til utvikling av symptomer. Nær halvparten av produsentene melder at de har hatt problemer med SK i sin produksjon. Data fra kartlegging av kålrot på lager påviste SK i 9,5% av undersøkt vare. Både sopp og bakterier er isolert fra kålrot med SK. Vanligst påviste arter av sopp var *Fusarium spp.*, *Plectosphaerella spp.* og *Gibellulopsis nigrescens*. Det ble ikke påvist bakterier som regnes for å være plantepatogene. I kontrollerte smitteforsøk utviklet det seg symptomer på SK i planter smittet med flere arter av sopp og et referanseisolat av bakterien *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Denne bakterien er ikke påvist i kålrotprøver fra felt eller lager. Resultatene viser en klar årsakssammenheng mellom sopp/bakterier og symptomer på SK, og at kålrota kan ha en latent infeksjon ved høsting som utvikles videre på lager.

3. Mål og resultater

Hovedmål: Sikre kvalitetsproduksjon av kålrot ved bedre kunnskap om årsakene til svarte karstrenger (SK).

Delmål

- Kartlegge forekomst og utbredelse av svarte karstrenger
- Identifisere sopp og bakterier som forekommer i kålrot med svarte karstrenger
- Undersøke patogenisitet av identifiserte sopp og bakterier.

3.1 Resultater

3.1.1 Spørreundersøkelse

Resultater fra spørreundersøkelsen er basert på svar fra 14 produsenter med totalt 40 felt/hold for 2019. Produsentene har fra 4-40 års erfaring med kålrotproduksjon. Kort oppsummert er Vigod dominerende sort, og alle bruker insektnett. De fleste bruker gras (35%) og korn (35%) som vekstskift for kålrot, mens meldestokk (38%) og tunrapp (33%) var dominerende ugras som ofte finnes på kålrot felter. Mjøldogg er et velkjent problem i kålrot og 42 % av produsentene sprøyter mot mjøldogg.

Nær halvparten av produsentene har hatt problemer med svarte karstrenger (43.8% ja, 37.5% nei, 18,8% vet ikke). De fleste har hatt svarte karstrenger i sin kålrot i mer enn 10 år. Noen beskriver at sjukdommen dukker opp av og til, men at det ikke forårsaker store problemer.

Svinn ved høsting er varierende mellom produsenter fra 0 til 25% (gj.snitt 10%). Kålrot lagres fra 3 til 9 måneder med gjennomsnitt 7 måneder, ved 1°C og fuktighet over 92%. Kålrotsvinn (sortert ut) etter lagring varierer fra 5 til 40% (gj.snitt 19%).

Årsaker til kålrotsvinn (sortert ut) etter lagring var følgende: sjukdommer (1-70%, gj.snitt 21%), mekaniske skade (0-10 %, gj.snitt 3,6%), feil størrelse (0-50%, gj.snitt 18%), og fysiologisk/misforming (2-50%, gj.snitt 16%).

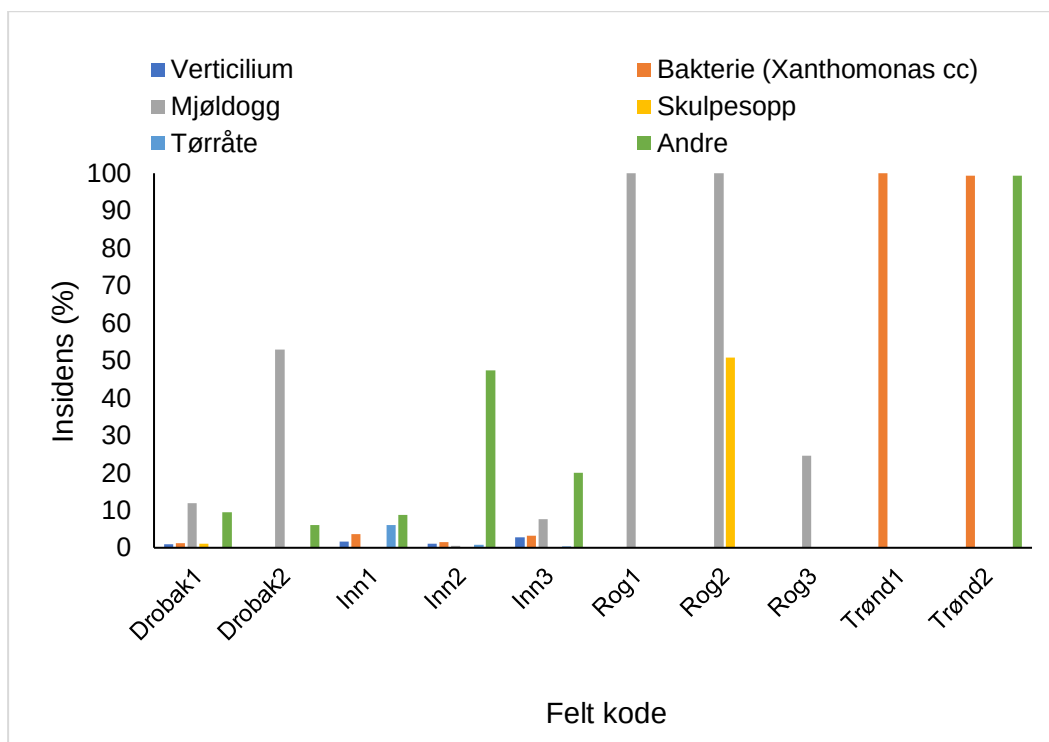
Kålrotsvinnet (sortert ut) etter lagring pga SK alene varierer fra 0 til 3% med gjennomsnitt 1%. Svarte karstrenger symptomer på kålrot først synlige ved sortering og pakking (67%), og 60% av produsenter ment at symptomene på SK forandret under lagring og man kan se brun til mørke flekker i snitt flata når man pusse etter lagring, og SK kan utvikle seg midt i kålrota.

Har du noen tanker/erfaringer i forhold til hvilke forhold som kan påvirke forekomst av SK i kålrota?
Det er forslag om at «rask nedkjøling påvirker transport av sukker. Må heller ikke lagres for kaldt. For rask nedkjøling etter opptak (fra høy temperatur), mye nedbør, jordtype, strukturskade, og fleste knyttet sjukdommen til sopp og bakterier».

Er svarte karstrenger (SK) et økende problem? 24,4% var enig, men 64,3% var helt uenig eller ganske uenig i påstanden. Andelen som oppgir at de var helt eller ganske enige i følgende påstandene: SK problemet varierer fra år til år (71,4%), varierer mellom felt (64,3%), SK utvikles i lagringsperioden (42,8%), årsaken til SK er mikroorganismer som sopp og bakterie (28,6%) og vet ikke (64,3%), og kålrot med SK er ikke salgbare (71,4%).

3.1.2 Registrering av sykdommer på felt.

Forekomst av sykdommer varierer fra felt til felt. Mjøldogg var den vanligst forekommende sykdommen (Figur 1).



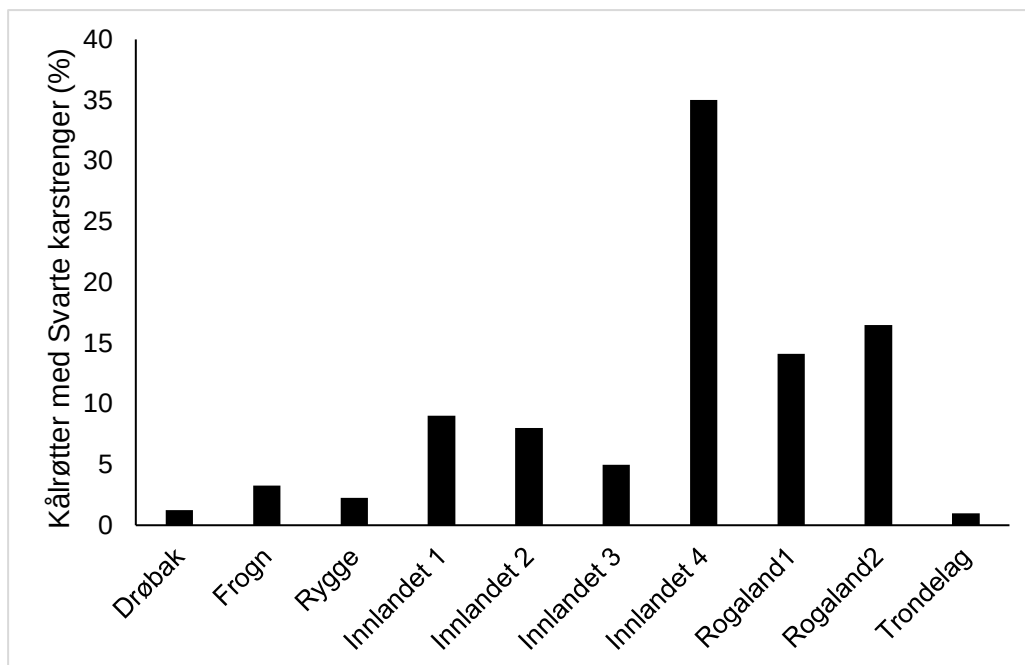
Figur 1. Forekomst av ulike sykdommer registrert i kålrot en uke før høsting på felt i 2019.

3.1.3 Forekomst av SK på kålrøtter ved uttak fra lager som hadde symptom av SK på blad i felt

Forekomst av SK i kålrot som hadde symptom på bladverket og lagret på kjølelager var 22,7% og 12% hos NLR Rogaland og NLR Øst, henholdsvis. Det indikerer at patogener kan ligge latent i planten og utvikle seg på lager.

3.1.4 Kartlegging av svarte karstrenger ved uttak fra lager

Forekomst av svarte karstrenger varierer mellom regioner og mellom produsenter fra 1% til 35% (Figur 2). Gjennomsnitt forekomst av svarte karstrenger for alle regioner var 9,5%.



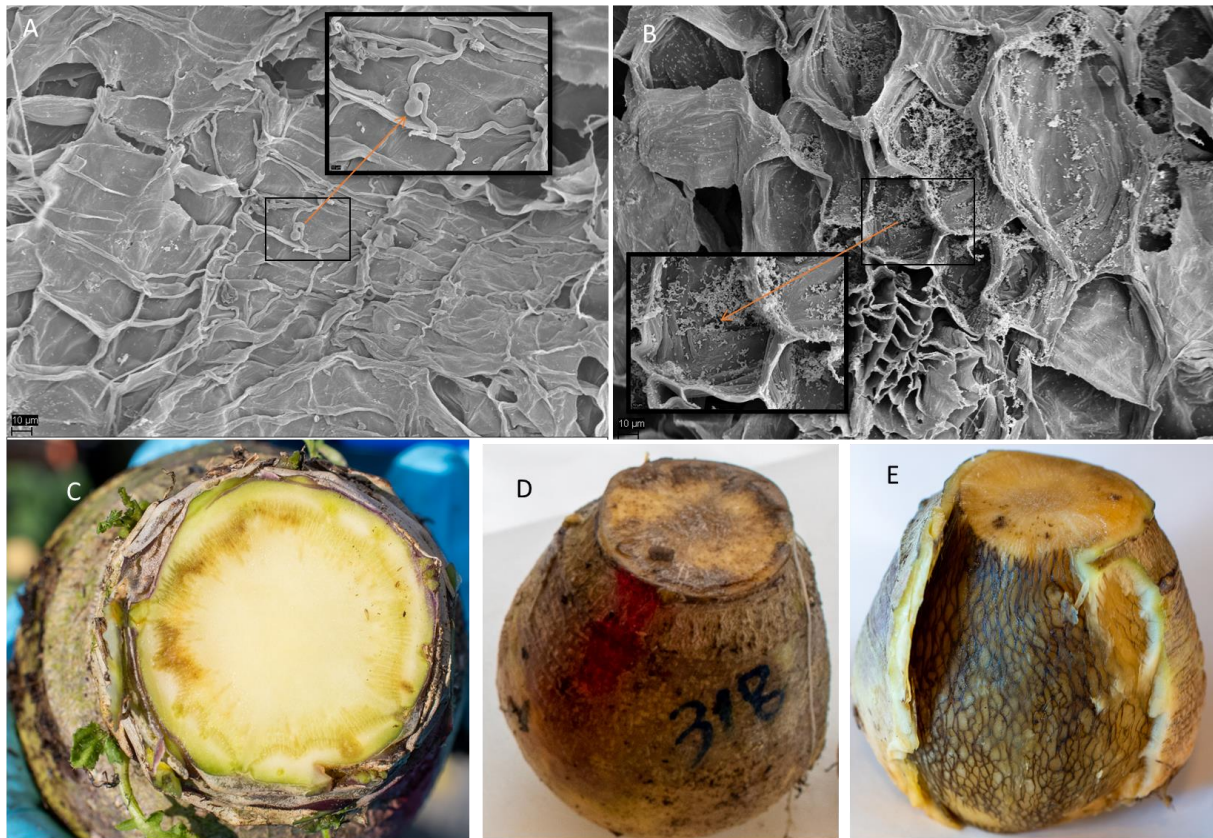
Figur 2. Forekomst av svarte karstrenger på kålrøtter ved uttak fra lager i 2019 og 2020.

3.1.5 Identifisere sopp og bakterier som forekommer i kålrot med svarte karstrenger

Totalt 181 isolasjoner ble tatt fra 73 kålrøtter med symptomer på svarte karstrenger. De 73 kålrøtter kom fra 14 ulike felt eller lager. Fra 181 isolater, var 65 (36%) sopp og 116 (64%) var bakterier. Både sopp og bakterier var påvist fra samme kålrot med svarte karstrenger symptom. I tillegg til røtter, ble det isolert fra blad og stengel av kålrot. Både sopp og bakterier ble påvist. *Fusarium spp.*, *Plectosphaerella spp.* og *Gibellulopsis nigrescens* (syn. *Verticillium spp.*) var de dominerende sopp-arter som ble isolert fra kålrøtter og bladverket.

Totalt 34 bakterie-isolater ble analysert med fettsyreanalyse. Av disse var 17(50%) *Pseudomonas putida*, 3(8,8%) var *Pseudomonas chloraphis* og 14 var forskjellige bakterier. Ingen av de identifiserte bakteriene regnes som plantepatogene. De bakteriene som ble påvist mest er vanlig forekommende i vann og jord. Dette betyr at bakterien som mistenkes å være årsak til symptomet «svarte karstrenger», *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, ikke er blitt detektert i disse isoleringene.

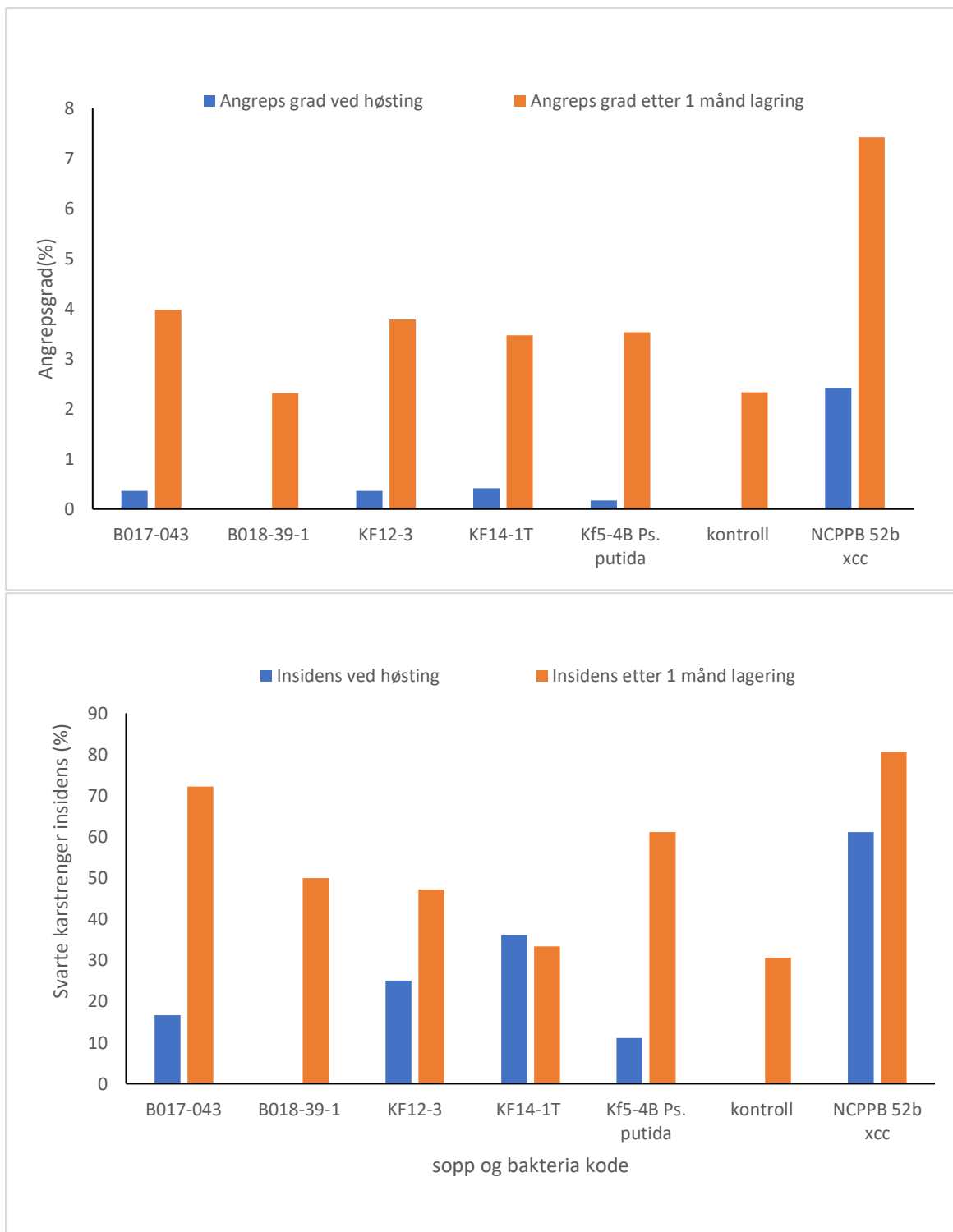
I smitteforsøk med kålrot derimot førte standardisolatet NCPPB 528 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) helt tydelig til de forventede symptomer, svarte karstrenger (Figur 3 C,D og E) og kan helt klart regnes som patogen. Også bakterien *Pseudomonas putida* kunne bli reisolert etter smitteforsøk, men førte ikke til svarte karstrenger.



Figur 3. Skanning elektron mikrograf (SEM) av A) sopp mycel og B) bakterie i kålrot med svarte karstrenger, og kålrot smittet med NCPPB 528 (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*): C) ved høsting, D og E) etter 1 til 5 måned lagring. Foto: Belachew Asalf

3.1.6 Patogenisitetstest

Smitte forsøk i 2018, det var guling av blad med V-monster og noen mørk farging av karstrenger på stenglene på en eller flere av sorter. Ved høsting av kålrøtter, var det ikke symptom av SK i smittet og usmittet kontroll, men etter en måneder kjølelager ble svarte karstrenger påvist i nesten alle behandlinger inkludert usmittet kontroll. I 2020 smitte forsøk, ble det påvist SK symptom ved høsting i alle behandlinger unntatt usmittet kontroll og Bo18-39. Etter en måned på kjølelager ble svarte karstrenger påviste på alle behandlinger inkludert usmittet kontroll. Det var forskjell mellom behandlinger om både insidens og angrepsgrad, med størst angrep i kålrøtter smittet med NCPPB 528 (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*)(figur 4).



Figur 4. Patogenitets test av kandidat patogenere i 2020 smitte forsøk. Figur i topp viste angrepsgrad og figur i bunn viste Insidens av svarte karstrenger ved registrering etter en måneds lagring i kjølerom.

Vurdering av resultater/nytteverdi

Resultatene viser en klar årsakssammenheng mellom sopp/bakterier og symptomer på svarte karstrenger i kålrot, og at kålrota kan ha en latent infeksjon ved høsting som utvikles videre på lager.

Prosjektet har fremskaffet økt kunnskap om årsaker til svarte karstrenger i kålrot. Denne kunnskapen kan bidra til å fremme riktig tiltak for å sikre kvalitetsproduksjon av kålrot (hovedmål i prosjektet).

Kunnskapen i dette prosjekt legger grunnlag for videre forskning på mulige effekter av lagringstemperatur, smittekilder og aktuelle tiltak for å redusere problemer med svarte karstrenger i norsk kålrot. Det er behov for oppfølging og mer forskning på kålrot.

4. Gjennomføring av prosjektet

Prosjektet ble gjennomført med tre hovedtema/arbeidspakker som reflekterer de tre delmålene kartlegging, identifikasjon av skadegjørere og patogenitetstest.

4.1 Kartlegging av forekomst og utbredelse av svarte karstrenger

Kartlegging av forekomst og utbredelse av svarte karstrenger ble gjennomført i form av en spørreundersøkelse blant kålrotprodusenter, samt registrering og prøveuttak av kålrot fra felt, ved høsting og etter lagring i ulike deler av landet.

Kålrotprodusenter i ulike deler av landet har stilt sine felt til rådighet for registrering og uttak av prøver, samt svart på spørreundersøkelsen. Rådgivere fra NLR Trøndelag, NLR Innlandet, NLR Øst, og NLR Rogaland har stått for det praktiske arbeidet med feltregistreringer, prøveuttak, og oppfølging av spørreskjema i samarbeid med kålrotprodusentene.

4.2 Identifikasjon av sopp og bakterier i kålrot med svarte karstrenger

Kålrot med SK symptom ble analysert for identifikasjon av sopp og bakterier som kan settes i sammenheng med forekomst av svarte karstrenger. Prøvene ble hentet fra felt og lager hos produsenter i ulike deler av landet, eller fra forsøksfelt hos NIBIO eller NLR. Arbeidet med identifikasjon av årsaker omfatter morfologiske, isolasjon, mikroskopi, biokjemiske og DNA-baserte metoder. Analysearbeidet ble utført hos NIBIO Plantehele.

Prøver av kålrot ble vasket og overflatesterilisert, symptomene på kålrot var beskrevet etter skjæring, og bilder tatt fra representativ prøver før videre undersøkelser. Kålrotskiver ble inkubert fuktig og symptomet og patogenene ble undersøkt før videre arbeid med isolering av sopp og bakterier. Små biter av vev fra kålrota ble tatt ut i serie fra friskt vev og inn mot symptomatisk vev, og dyrket på skåler med kunstig medium (PDA, PDAS, Vann agar (VA) og PARP) ved romtemperatur (20-25°C). Isolerte sopp-patogener ble identifisert ved morfologi med mikroskop og agar-karakter. DNA-baserte metoder ble brukt for å skille nært beslekta arter.

De fleste bakterieisolater som ble analysert vokste frem på skåler etter isolering som beskrevet over. Bakteriene ble strøket på nytt bakteriemedium (NGA) og en til flere isolater ble rensset opp. Det relative innhold av forskjellige fettsyrer i celleveggen til bakterier er spesifikk for arten. Bakterieisolatene blir strøket på spesial medium, inkubert ved 28°C og høstet neste dag. Til FAA (Fatty Acid Analysis) ekstraheres fettsyrene og omdannes til fettsyremetylestere. Disse separeres ved hjelp av gasskromatografi. Det oppstår karakteristiske mønstre, som sammenlignes med kjente mønstre i databasen. Er det "høy match" med en kjent bakterie i databasen regnes det som identifikasjon.

4.3 Patogenitetstest

Smitteforsøk ble utført for å undersøke om sopp og bakterier som er isolert fra kålrotprøver med svarte karstrenger kan forårsake tilsvarende symptomer under kontrollerte forhold. Sopp og bakterier som ble isolert fra kålrot-prøver ble først vurdert i tester på kålrot skiver på lab. Resultat på lab-testen ble brukt som utgangspunkt for å velge kandidat-patogener til smitteforsøk i kålrotplanter.

Frøplanter av tre kålrotsorter (Neve, Vige og Vigod) ble dyrket i potter hos NIBIO Plantehele. Plantene ble smittet med sopp og bakterier som var isolert fra kålrot med SK symptom. Både sporesuspensjon og agar-plug ble brukt for smitting. Ved smitting ble to bladstilk fjernet, og smittene tilført i sårene etter denne. Smitteforsøkene ble gjennomført to ganger, høsten 2018 og 2020. I 2018 ble det brukt fire sopp isolater og en ubehandla kontroll. Forsøket ble utført i veksthus. I 2020 var det 6 behandlinger hvor 4 var sopp og 2 bakterier og en ubehandlet kontroll. Ett av bakterieisolatene var

standardisolatet NCPPB 528 (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*(Xcc)), hentet fra isolatsamlingen hos NIBIO. *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* ble inkludert fordi den er kjent fra litteraturen som årsak til SK. Denne bakterien er ikke funnet ved isolasjon fra kålrøtter med SK symptom. Forsøkene var faktorielle (Patogener*Kålrot sort) randomisert blokkforsøk med tre gjentak (blokker).

Svarte karstrenger relatert symptom på bladverket, stengel og andre sjukdommer ble registrert på bladverket. Svarte karstrenger i røtter ble registrert for hver kålrot ved høsting og etter en måneds lagring i kjølerom (2-4°C).

5. Formidling

Det var holdt følgende foredrag på fagmøter og konferanser:

1. Asalf B. et al. 2021. Svarte Karstrenger i kålrot. Fagforum i grønnsaker. Zoom møte. 28.01.2021.
2. Asalf B. et al. 2020. Svarte Karstrenger i kålrot. Fagforum i grønnsaker, Quality Airport Hotel Gardermoen, Jessheim 29.01.2020.
3. Asalf B. 2020. Forsøk mot sykdommer i grønnsaker i Norge. Regionalt nettverk og samarbeide om plantebeskyttelse i specialfrøder, Elite Hotel Ideon, Lund, Sverige 04-03-2020-05.03.2020.
4. Asalf et al. 2019. Svarte Karstrenger i kålrot. NLR kursuka, Skjetten 12.11.2019 – 13.11.2019
5. Asalf B. et al. 2019. Incidence of postharvest diseases of rutabaga (*Brassica napus* var. *Napobrassica*) Vth International Symposium on postharvest pathology, Liege, Belgium

Rådgiver på NLR Rogaland, NLR Trøndelag, NLR Innlandet og NLR Øst har formidlet om svarte karstrenger prosjektet til deres medlemmer på markdager, fagmøter og årsmelding

Sted, dato

Ås, 10.09.2021

Prosjektleder

Belachew Asalf