

Svarta fläckar på lagrade morötter – ny sjukdom i Sverige orsakad av *Acrothecium carotae*

Utveckling av ett prognosystem för *Acrothecium*-röta i lagrade morötter

Bakgrund

En sjukdom på lagrade morötter har orsakat stora problem i olika delar av Sverige, Danmark, Holland och Kanada de senaste åren (Pettersson, 1992; Ewaldz, 1992 och 1997; Jönsson, 2004; Hobolth, 1983; Kastelein *et al.*, 2003; Shoemaker *et al.*, 2002). Skadorna visar sig som svarta fläckar på morötterna och de syns oftast inte förrän efter några månaders lagring (Fig. 1). Under de senaste åren har morötter till mycket stora värden kasserats hos svenska odlare. Sjukdomen orsakas av en svamp, *Acrothecium carotae* syn. *Rhexocercosporidium carotae* (de Hoog och van Oorschot, 1985). Upptäckten av den allmänna förekomsten av denna svamp var överraskande eftersom svampen tidigare bara har beskrivits från Norge på 1960-talet (Årsvoll, 1965, 1969 och 1971). Kunskapen om svampen är begränsad och det saknas viktig information om bl.a. svampens livscykel, huvudsakliga smittkälla och infektionsprocess. Den enda värdväxt man känt till förutom morot var vildmorot. I en inledande studie i Sverige våren 2006 påträffades denna svamp på lagrade morötter i mer än hälften av de undersökta fälten. För att undvika stora ekonomiska förluster är det av stort värde att på ett tidigt stadium kunna identifiera smittade partier, som då kan användas innan skadorna uppträder. Eftersom svampen växer mycket långsamt är det svårt att detektera denna sjukdom med hjälp av traditionella odlingsmetoder. En alternativ DNA-baserad detektionsmetod, en artspecifik kvantitativ TaqMan-PCR, har utvecklats vid Plant Research International i Holland. Syftet med dessa båda projekt var att ta fram ett prognosystem för sjukdomen, att utvärdera PCR-metoden för kvantitativ bestämning av svampen samt att öka kunskapen om svampens biologi och spridning.



Fig. 1. Symptom av *Acrothecium*-röta på lagrade morötter.

Material och metoder

Ett trettiotal morotsodlare i Skåne, Halland, Västergötland, Östergötland och på Gotland har deltagit i projektet under tre års tid och efter intervjuer med dessa har ca 130 fält valts ut med hänsyn till jordart, växtföljd, sortval, tidigare angrepp av *Acrothecium*-röta etc. Bland odlarna finns både de som haft stora angrepp av *A. carotae* tidigare och de som aldrig haft problem.

Enkätundersökning

Samtliga odlare har intervjuats rörande markbearbetning, sådd, gödsling och växtskydd. Ett frågeformulär har sammanställts i samarbete med PRI i Holland. Odlarna har fått lämna uppgifter om bl.a. jordart, växtföljd de senaste 10 åren, sorter, förekomst av flockblomstriga växter på angränsande fält tidigare år, data rörande skördeförhållanden som till exempel temperatur, jordfuktighet och typ av skördemaskin samt uppgifter om lagringssätt och lagringstemperatur. En multivariabel statistisk analys av insamlade uppgifter har utförts av forskargruppen i Holland efter varje separat år och även efter båda projektens slut.

Fältbesiktning

Fältbesiktningar har genomförts på samtliga fält under 2006-2008. Tidigare holländska undersökningar har visat att förekomst av flockblomstriga ogräs kan ha betydelse för smittspridningen. Därför har förekomst av flockblomstriga ogräs i fälten och i fältkanterna noterats, liksom förekomst av buskar och träd i närheten av fälten. I de fall flockblomstriga grödor odlas i närområdet har detta också noterats.

Blastprov

Strax före skörd har en bedömning av blastens sundhet gjorts. Mängden bladfläckar har bestämts enligt ett fastställt sjukdomsindex varierande mellan 0 och 9. Bedömningen har utförts på "medelålders" blast på 10 platser per fält. I samband med bedömningen har även ett blastprov tagits hem till laboratoriet. Till detta prov har endast blast med fläckar eller antydan till vissning tagits. Vid bedömning och provtagning av blast har alla bladfläckar beaktats eftersom det inte är känt hur *Acrothecium*-fläckar i blast ser ut. En del av blastprovet har frystorkats och malts och sedan skickats till analys i Holland. Den andra delen av provet har förvarats i kyl och undersökts i mikroskop efter ett par månader i kyl.

Samtidigt som bedömningen av blastens sundhet gjordes, insamlades även blast från vildmorot och andra närbesläktade arter i fältkanterna. Dessa har undersökts dels i mikroskop och dels med hjälp av molekylära metoder genom att bladen har frystorkats, DNA har extraherats och frysta prov har skickats till Holland för analys.

Rotprov

I samband med skörd togs ett rotprov. Först kontrollerades hur stor andel av morötterna som hade blastrester som sitter kvar i nacken och hur långa dessa blastrester var. Därefter kontrollerades mängden mekaniska skador och antalet brutna eller spruckna morötter. Mängden blastrester, mekaniska skador och brutna eller spruckna morötter delades in i fastställda bedömningsgrupper och utifrån dessa beräknades ett index för blastrester och ett index för mekaniska skador. Index för mekaniska skador kan variera mellan 0 och 100. Senare i projektet klassificerades de mekaniska skadorna i grupperna få skador (index <61), medel skador (index 61-79) och mycket skador (index \geq 80).

Skal från halva rotprovet frystorkades och maldes före tvätt och halva provet tvättades innan skalet frystorkades och maldes. Från de pulvrerade rotproven extraherades DNA och frysta prov skickades till forskargruppen i Holland för analys av innehållet av *A. carotae*.

Lagringsprov

Efter ca 5 månaders lagring i konventionella morotslager togs nya rotprov från de lagrade morötterna. Skalprov togs som frystorkades och maldes. DNA extraherades och prover skickades till Holland för TaqMan-PCR analys. Alla morötter med svarta fläckar räknades och morötterna inkuberades i fuktig kammare tills konidier bildats. Dessa undersöktes i mikroskop. En del av fläckarna lades även på selektivt odlingsmedium och svamphyferna som växte ut renodlades. Våren 2009 utökades avläsningen av morötter med svarta fläckar till en sjukdomsgradering där procent rotyta med fläckar graderades.

Resultat

Fältbesiktning

Fältbesiktningen visade att vildmorot var mycket vanligt förekommande i eller intill morotsfälten (Fig.2). Den fanns i nästan hälften av de undersökta fälten. Även vildpersilja, som också har visat sig vara en värdväxt till *A. carotae*, var relativt vanligt förekommande och fanns i ca 15 % av fälten. Hundkex, som visade sig innehålla DNA av svampen och tillika anses vara värdväxt, var mycket vanligt förekommande och fanns intill 70-80 % av alla morotsfält.

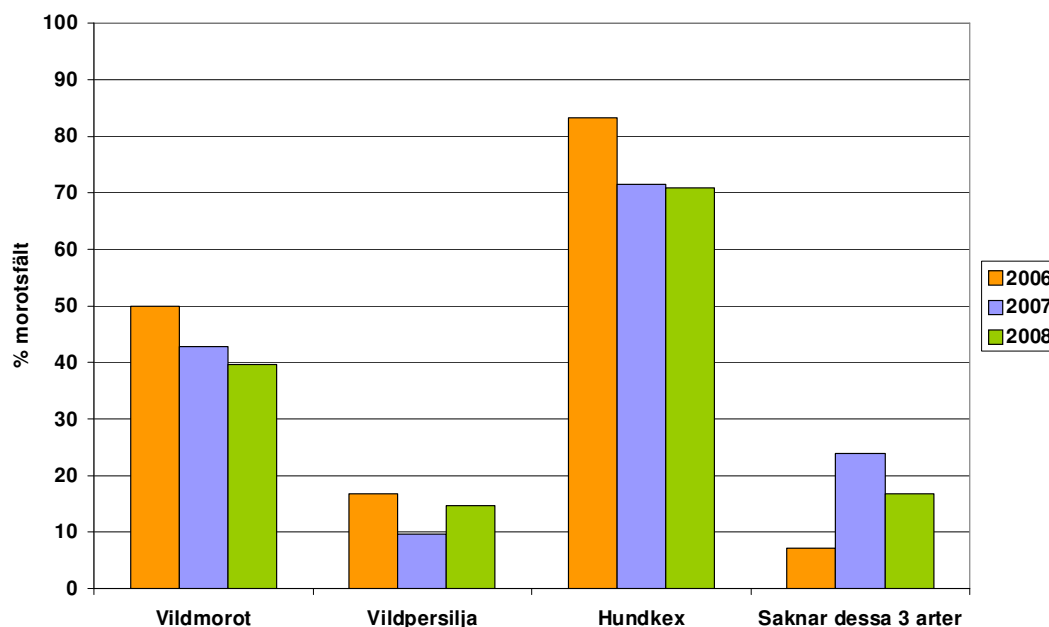


Fig. 2. Förekomst av flockblomstriga värdväxter i eller intill de undersökta morotsfälten.

Blastprov

I blastprov som lagrats i kyl några månader har *A. carotae* påträffats i mikroskop. En del av de frystorkade och malda blastproven visade sig innehålla DNA av *A. carotae* när de analyserades med hjälp av TaqMan-PCR metoden. Även blastprov från vildmorot, vildpersilja och hundkex innehöll DNA av *A. carotae*. Vi tolkar dessa resultat som att både vildpersilja och hundkex måste räknas som värdväxter för svampen, vilket inte tidigare var känt.

Rotprov

Resterande blastmängder efter upptagning var förvånansvärt liten. På de allra flesta morötter fanns det inga blastrester alls.

Däremot fanns det mycket mekaniska skador som kan fungera som inkörsport till svampen på många morötter (Fig. 3). År 2006 var det många morötter som hade relativt få skador (index < 61) medan 2008 hade de flesta morötter mycket skador (index > 80). Variationen var dock mycket stor i fråga om mekaniska skador. Industrimorötter hade i allmänhet större skador än morötter avsedda för färskvarumarknaden.

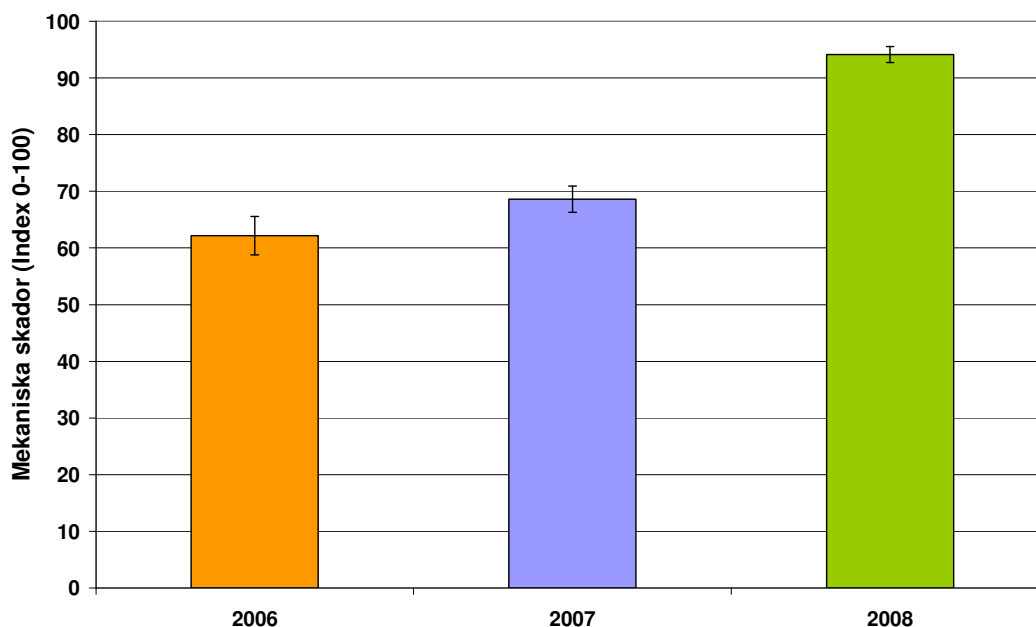


Fig. 3. Mekaniska skador på morötter från alla undersökta fält 2006-2008.

Inga fläckar orsakade av *A. carotae* fanns på morötterna vid skördetidpunkt i oktober-november. Däremot har DNA av *A. carotae* påträffats i en del av morotsproverna vid skörd.

Lagringsprov

De första synliga symptomen av svampen påträffades efter jul 2006 och 2007, men redan i mitten av december 2008. *A. carotae* fanns i 96 % av alla undersökta fält. Av de ca 19 000 undersökta morötterna fanns *A. carotae* på 59 %, vilket är mycket anmärkningsvärt. Förekomsten av svampen varje år separat visas i Fig. 4. *A. carotae* var den allra vanligast förekommande lagringssvampen under de tre år undersökningarna pågick, följd av bomullsmögel. Andra vanliga lagringsrötter såsom kraterröta och lakritsröta fanns på mindre än 5 % av de undersökta morötterna. *Acrothecium*-röta påträffades på alla undersökta morotsorter (Fig. 5). Morötter från vissa fält uppvisade avvikande symptom, men DNA-analysen visade att det fanns *Acrothecium* även i dessa morötter.

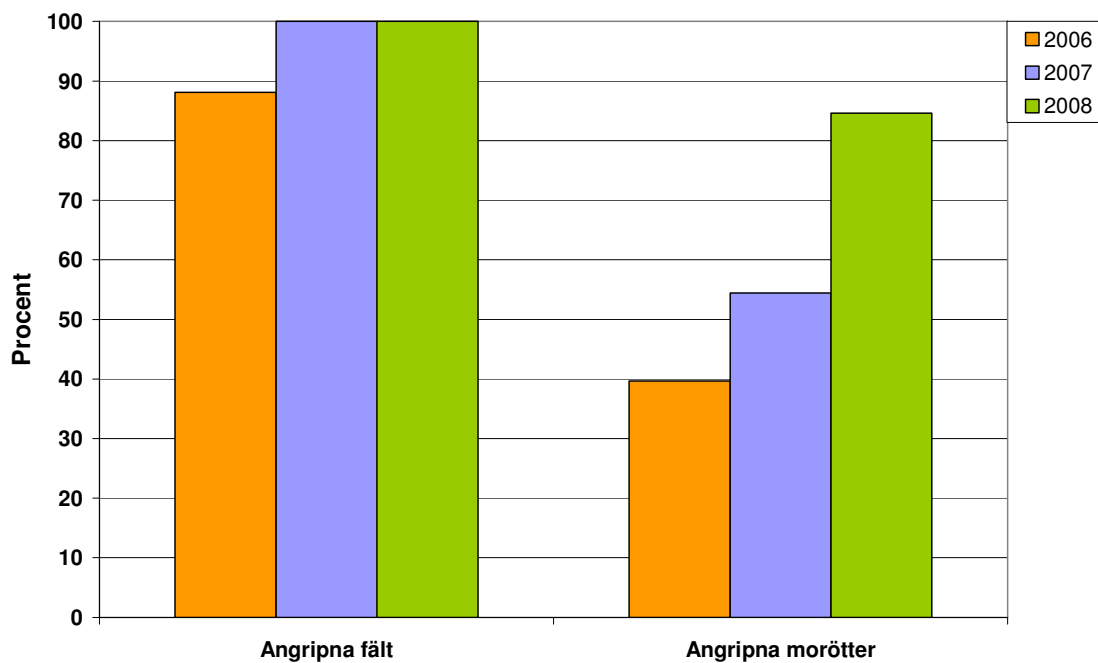


Fig. 4. Andelen av alla undersökta fält (till vänster) samt andelen av alla undersökta morötter, totalt ca 19000, (till höger) med Acrothecium-röta.

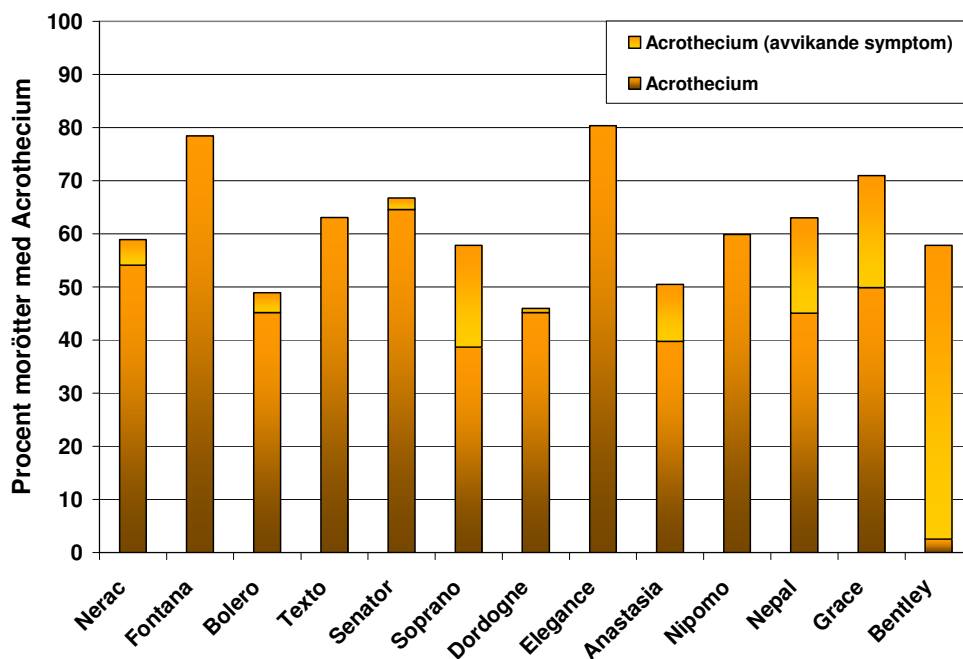


Fig. 5. Angrepp av Acrothecium-röta i de morotssorter där minst 400 morötter av varje sort har graderats.

DNA-analyser

Vid provkörning av den kvantitativa metod, TaqMan-PCR analysen, som har utvecklats i Holland för detektion av *A. carotae*, detekterades svampen i större eller mindre mängd i de flesta morotspartier. Svampen kan detekteras i så låga nivåer som 0,02 pg DNA mg⁻¹ skal. Svampen detekterades på både tvättade och otvättade, såväl som rivna och skalade morötter.

Sambandet mellan resultaten från DNA-analysen och den okulära bedömningen av symptom på morötter efter lagring var mycket starkt (Fig. 6). Däremot var det ett svagare samband mellan *Acrothecium*-DNA i blast och angrepp efter lagring. Även sambandet mellan mängden DNA i morötterna vid skörd och angreppet efter lagring var svagt.

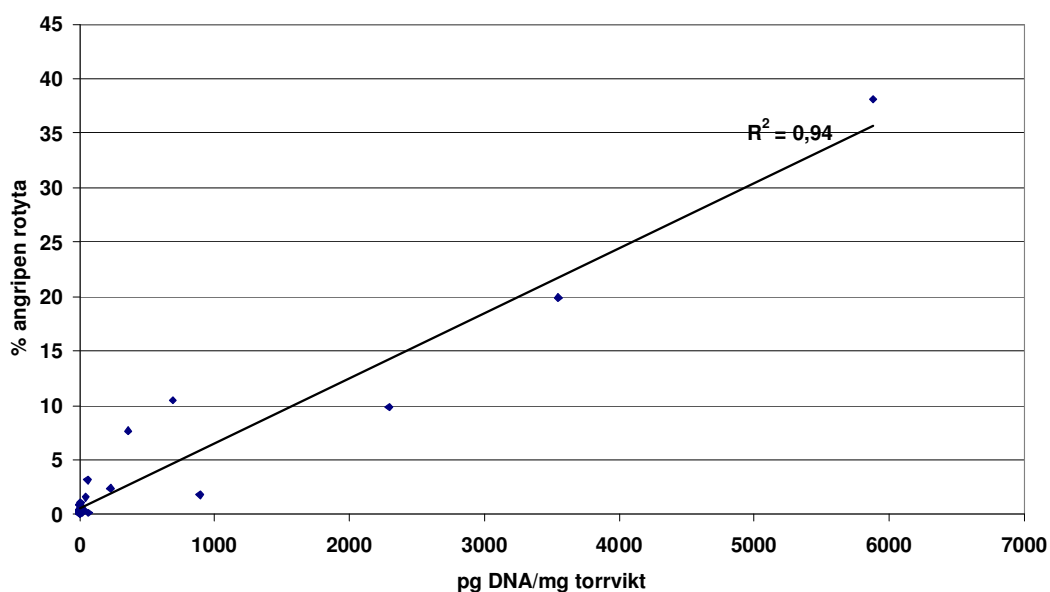


Fig. 6. Samband mellan mängden DNA i analyserade morotsprov och angreppsgraden av *Acrothecium*-röta efter lagring.

Resultat av statistiska analyser

Den multivariata variansanalysen som utfördes vid PRI i Holland visade att de viktigaste faktorerna för angrepp av *Acrothecium* är mekaniska skador på morötterna vid skörd och antal växt dagar, dvs antal dagar från sådd till skörd (Tabell 1; Fig. 7). Genom att kombinera dessa båda faktorer, dvs skonsam upptagning och hantering av morötterna efter förhållandevis kort odlingstid (mindre än 150 dagar) minskar angreppen med mer än 50% i jämförelse med morötter som tas upp sent och som har kraftiga mekaniska skador (Fig. 7).

Tabell 1. Faktorer som signifikant påverkar *Acrothecium*

	Procent morötter med <i>Acrothecium</i>	LogDNA blastprov	LogDNA vid skörd	LogDNA efter lagring
Jordart		0,004	0,033	0,001
Flockblomstriga värdväxter	0,009			0,038
Morötter på angränsande fält året innan			0,075	
Antal växt dagar	0,042			0,017
Mekaniska skador	< 0,001		0,084	
Tidigare problem med svarta fläckar i fältet				0,100
Temperatur vid skörd			0,013	

Siffrorna visar p-värdet för varje enskild faktor i olika regressionsmodeller.

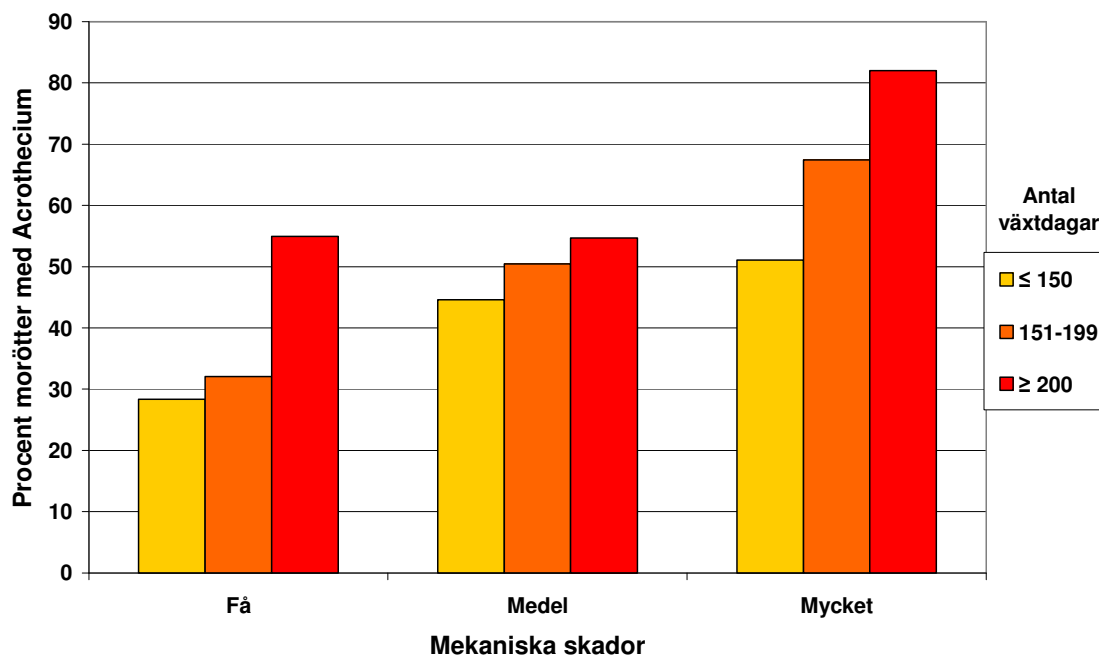


Fig. 7. Mekaniska skador vid skörd och antal växt dagar från sådd till skörd är två av de viktigaste faktorerna för *Acrothecium*-angreppets storlek efter lagring.

En annan viktig faktor för angrepp av *Acrothecium*-röta är förekomst av flockblomstriga värdväxter i eller intill morotsfälten. Det fanns i medeltal 23 % högre angrepp av *Acrothecium* om värdväxterna vildmorot, vildpersilja eller hundkex fanns i omgivningen.

Det fanns även signifikanta skillnader mellan olika jordarter. Angreppen på morötter odlade på blekejordar var lägre än på sand- och mulljordar. För att utesluta att skillnaden berodde på klimatet gjordes en särskild analys på gotländska jordar, vilken visade samma skillnad (Fig. 8).

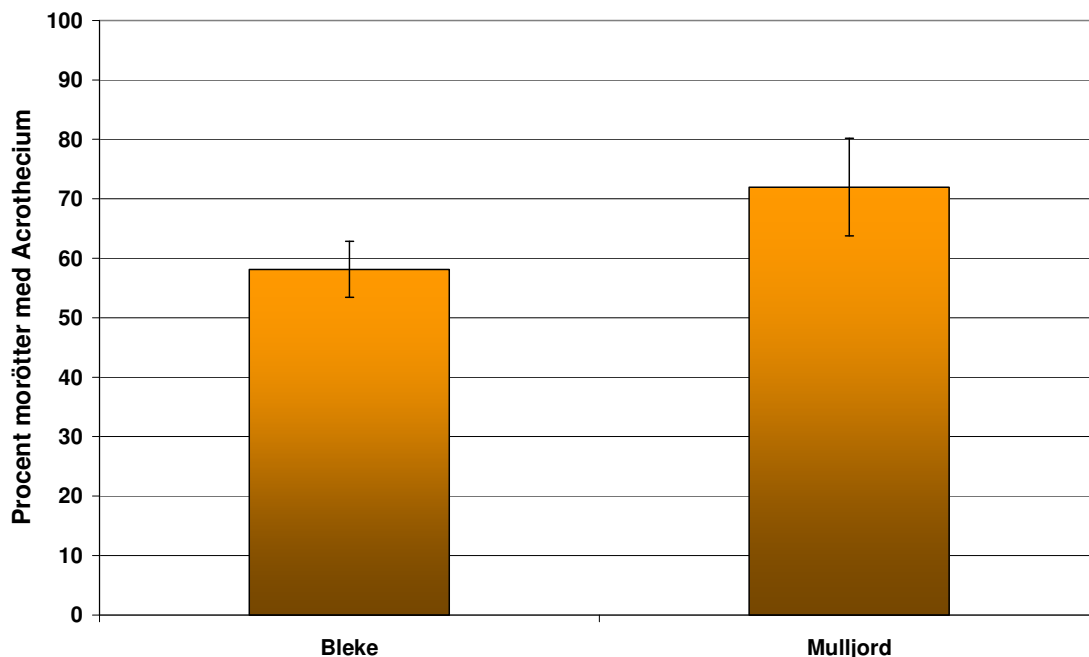


Fig. 8. Medelvärden av Acrothecium-angrepp på alla undersökta morötter odlade på olika jordtyper på Gotland.

Diskussion

Acrothecium-röta i morötter har ökat dramatiskt under de senaste åren. Sjukdomen är den i särklass vanligaste och allvarligaste i lagrade morötter. Under de tre år sjukdomen har studerats har angreppen ökat varje år till en nivå på över 80 % av alla undersökta morötter och från alla studerade morotsfält 2008. Även andra lagringsrötter har studerats vid sidan av projektet och det finns ingen som är jämförbar i omfattning med Acrothecium-rötan. Vad denna drastiska ökning i angrepp beror på är inte klart. Frågan om frösmitta föreligger är inte helt utrett än. Undersökningar i Holland har visat att man kan hitta låga halter av Acrothecium-DNA på morotsfrön. Däremot har man inte konstaterat angrepp på plantor från dessa frön. Det kan bero på att det tar lång tid för svampen att utvecklas och att man inte har följt morötterna tillräckligt länge och fullföljt undersökningen av dessa morötter från frön med spår av DNA ända tills efter lagring. Mer forskning krävs för att klargöra hur svampen sprids.

Analysmetoden som har utvecklats i Holland är mycket känslig och man kan detektera mycket låga halter av *A. carotae*. Det är ett mycket starkt samband mellan DNA-halten i morötterna efter lagring och angreppet. Däremot är det inte alltid säkert att en hög mängd DNA i blasten resulterar i starka angrepp senare. Även provtagningarna vid skörd är inte alltid överensstämmande med senare angrepp. Anledningen till detta är sannolikt att det är så många andra faktorer som styr hur kraftigt angreppet kommer att bli. Stora mekaniska skador vid skörd ökar angreppen dramatiskt. Angreppen ökar också om man låter morötterna stå kvar

länge i marken. Användning av fungicider har även en inverkan på angreppen. Vid sidan om dessa SLF-projekt har fyra GEP-försök lagts ut för att klargöra olika fungiciders effekt på *Acrothecium*-angreppen. Resultaten är inte helt klara, men pekar på att olika fungicider påverkar angreppen både i positiv och negativ mening. När analyserna av GEP-försöken är klara får vi förmodligen en bättre riskbedömningsmetod. Men så långt resultaten har visat hittills bör man göra följande för att minimera riskerna att få problem med *Acrothecium*-röta: Bekämpa andra flockblomstriga värdväxter i fältet. Odlar inte morötter i fältet intill där morötter har odlats året tidigare. Lagra inte in morötterna om man tidigare har haft problem med *Acrothecium*-röta från samma fält. Det allra viktigaste verkar dock vara att man inte väntar med att skörda långlagringsmorötterna för länge samt att man skördar dem på ett skonsamt sätt och undviker alltför kraftiga mekaniska skador. Genom att odlaren minimerar dessa båda faktorer kan angreppen halveras.

Publikationer

Köhl, J., Kastelein, P., Zijlstra, C., Stilma, E., Groenenboom-de Haas, B.H., Elderson, J., van Tongeren, C., de Weerd, M., Jönsson, B., and Wikström, M. 2007. What do we know about *Rhexocercosporidium carotae* causing black spots in cold stored carrots? Presentation at the 32nd International Carrot Conference, Bordeaux, France, September 5-7, 2007.

Säll. C. 2008. Svarta fläckar på morötter. Viola, Nr 11. s.5.

Wikström, M., Ragnarsson, S., Jönsson, B., Köhl, J., Arvidsson, A.-K., Burgers, S.L.G.E., Groenenboom-de Haas, B.H., Haraldsson, T., and Persson, L. 2007. Black spots caused by *Rhexocercosporidium carotae* (syn. *Acrothecium carotae*) on cold stored carrots in Sweden. Poster at the 32nd International Carrot Conference, Bordeaux, France, September 5-7, 2007.

Wikström, M., Ragnarsson, S., Jönsson, B., Köhl, J., Arvidsson, A.-K., Burgers, S.L.G.E., Groenenboom-de Haas, B.H., and Lombaers-van der Plas, C.H. 2009. Black spots caused by *Rhexocercosporidium carotae* (syn. *Acrothecium carotae*) – a new threat against cold stored carrots. Poster PM-06 at the 33rd International Carrot Conference, Anaheim, California, January 18-21, 2009.

Wikström, M., Ragnarsson, S., Köhl, J., Burgers, S., Zijlstra, C., De Weerd, M., Groenenboom-de Haas, B.H., and Jönsson, B. 2009. Effect of cropping, harvesting and storage conditions on black spots caused by *Rhexocercosporidium carotae* in cold-stored carrots. Phytopathology, Manuscript.

Övrig resultatförmedling till näringen

Projektet och resultaten har presenterats vid ett antal möten och två internationella konferenser.

2007 Jan.: Presentation för Findus jordbruksavdelning.

2007 Febr.: Föredrag med presentation av resultat från inledande projekt vid Potatis- och Grönsaksmässan i Örebro.

- 2007 Mars: Presentation för Plant Research International i Wageningen, Holland.
2007 Aug.: Presentation för morotsodlare, rådgivare och representanter för fröfirmor på GRO's morotsdag på Gotland.
2007 Sept.: Föredrag och poster på en internationell morotskonferens i Frankrike (Köhl *et al.*, 2007; Wikström *et al.*, 2007).
2007 Nov.: Presentation för morotsodlare, rådgivare och representanter för fröfirmor i Bjuv, Skåne.
2008 Juni: Presentation på Morotsdag i samband med Borgeby fältdagar.
2008 Dec.: Presentation för morotsodlare på Gotland.
2009 Jan.: Poster på en internationell morotskonferens i USA (Wikström *et al.*, 2009)
2009 Mars: Presentation för morotsodlare på Gotland.
2009 Juli: Presentation på Morotsdag i Löderup, Skåne.

Andra referenser

- Ewaldz T. 1992. Lagringssjukdomar i morötter. SLU Info rapporter. Inst. f. växtskyddsvetenskap, Alnarp. Trädgård nr 374.
- Ewaldz, T. 1997. Fungicide treatments against storage rots of carrots. Results from field trials in southern Sweden 1991-1993. Växtskyddsnotiser 61: 8-13.
- Hobolth, L. A. 1983. Ny sygdom i gulerødder – gulerodsortplet. Gartner Tidende 99: 205.
- Hoog de & Oorschot van. 1985. Studies in Mycology. 26: 103.
- Jönsson, B. 2004. Har vi fått in nya skadegörare? Potatis och Grönsaker 4: 6-8.
- Kastelein P., Elderson J. and Köhl J. 2003. Identificatie van preventieve maatregelen ter voorkoming van zwarte vlekken in de biologische peen. Plant Research International. Nota 247.
- Pettersson M. L. 1992. Plant protection year 1991 - horticulture. Växtskyddsnotiser 56: 2-6.
- Shoemaker RA., Hambleton S., Lacroix M., Tesolin M., and Coulombe J. 2002. Fungi Canadenses No. 344. Canadian Journal of Plant Pathology 24: 359-362.
- Årsvoll, K. 1965. *Acrothecium carotae* n. sp., a new pathogen on *Daucus carota* L., Acta Agriculturae Scandinavica 15:101-114.
- Årsvoll, K. 1969. Pathogens on carrots in Norway. Norg. Landbr. Högsk. Meld. 48 (2). 52 pp.
- Årsvoll, K. 1971. *Acrothecium carotae*. Sporulation, spore germination, and pathogenesis. Acta Agriculturae Scandinavica 21:3-10.