

Bioforsk Rapport

Bioforsk Report

Vol. Nr. 9(59) 2014

Kartlegging av *Xanthomonas fragariae* i jordbær 2013

Arild Sletten, Juliana I.S. Perminow, Inger-Lise W. Akselsen og May Bente Brurberg
Bioforsk Plantehelse

www.bioforsk.no



<i>Tittel/Title:</i> Kartlegging av <i>Xanthomonas fragariae</i> i jordbær 2013
<i>Forfatter(e)/Author(s):</i> Arild Sletten, Juliana I.S. Perminow, Inger-Lise W. Akselsen og May Bente Brurberg

<i>Dato/Date:</i> 2014-04-01	<i>Tilgjengelighet/Availability:</i> Åpen	<i>Prosjekt nr./Project No.:</i> 8493	<i>Saksnr./Archive No.:</i>
<i>Rapport nr./Report No.:</i> Nr/år	<i>ISBN-13 nr./ISBN-13 no:</i> 978-82-17-01257-3	<i>Antall sider/Number of pages:</i> 12	<i>Antall vedlegg/Number of appendices:</i> ingen/none

<i>Oppdragsgiver/Employer:</i> Mattilsynet	<i>Kontaktperson/Contact person:</i> Kari Romstad
---	--

<i>Stikkord/Keywords:</i> <i>Xanthomonas fragariae</i> , jordbær, kartlegging <i>Xanthomonas fragariae</i> , strawberry, survey	<i>Fagområde/Field of work:</i> Plantesjukdommer, bakterier på planter Plant disease, plant bacteriology
---	--

Sammendrag:

Bakterien *Xanthomonas fragariae* kan gjøre stor skade på jordbærplanter. Den ødelegger bladene, og kan i tillegg gi stygge, skjemmende flekker på begerbladene slik at kvaliteten på bærene blir dårlig. Sjukdommen har hittil ikke blitt påvist i Norge. I mange land med stor jordbærproduksjon har sjukdommen mange ganger ført til store tap. For å dokumentere status for *Xanthomonas fragariae* i Norge ble det på oppdrag av Mattilsynet gjennomført en landsomfattende kartleggingsundersøkelse. Det ble tatt ut 182 prøver fra til sammen 51 dyrkere i 45 kommuner i 17 fylker. Fokus for uttak av prøver ble satt på fylker/områder som hadde klimatiske forhold som er gunstig for utvikling av sjukdommen, og områder som var viktige for norsk jordbærproduksjon. Det ble tatt prøver både fra bær- og planteprodusenter, og fra tunnel- og veksthusdyrking. Alle prøver ble undersøkt med de internasjonalt anbefalte og anerkjente analysemetodene isolering, immunofluorescens, og real-time pcr. *Xanthomonas fragariae* ble ikke påvist i noen av prøvene. Det er derfor grunn til å anta at denne skadegjøreren ikke finnes i Norge.

Summary:

Angular leaf spot of strawberry is a disease caused by the bacterium *Xanthomonas fragariae*. It may seriously damage leaves, but also the husk, thus reducing the market value of the berries. The disease has never been detected in Norway. In 2013 a comprehensive survey was carried out. Samples were taken around the country in all important strawberry-producing areas, from producers of plants and berries for consumption, including production in tunnels and greenhouses. A total of 182 samples were taken. They were from 51 growers in 17 counties and 45 municipalities. All samples were screened using internationally recommended testing methods, i.e. isolation, immunofluorescence and real-time pcr. None of the samples tested positive for *Xanthomonas fragariae*, suggesting that the bacterium is not present in Norway.

Godkjent / Approved

Prosjektleder / Project leader

Arne Hermansen

Hanne Skomedal *for*
Juliana I.S. Perminow

1. Forord

En samfunnsøkonomisk analyse av forvaltningstiltak mot rød marg i jordbær som ble utført av Mattilsynet i 2012 viste at en opphevelse av forbudet mot innførsel av jordbærplanter trolig ville være samfunnsøkonomisk lønnsomt. Mattilsynet pekte samtidig på noen negative konsekvenser som ikke var blitt tilstrekkelig utredet i analysen, deriblant økt risiko for innførsel av *Xanthomonas fragariae* og andre planteskadegjørere på jordbær som hittil ikke har vært påvist i Norge. Mattilsynet anbefalte derfor at det burde gjennomføres en bredere vurdering før importforbudet eventuelt ble opphevet. Dette syn ga Landbruks- og Matdepartementet sin støtte til.

Hovedformålet med foreliggende kartleggingsundersøkelse har vært å dokumentere status for *Xanthomonas fragariae* i Norge. Resultatene vil inngå som et viktig grunnlag i vurderingen av om importforbudet skal opprettholdes eller ikke, og dersom det åpnes for import vil de bli retningsgivende ved fastleggelse av innførselskrav for skadegjøreren.

Planleggingen av en landsomfattende kartleggingsundersøkelse, med fokus på fylker/områder som har klima som er gunstig for bakterien, og områder som er viktige for norsk jordbærproduksjon ble gjort våren 2013. Mattilsynet fikk råd om hvordan undersøkelsen best kunne gjennomføres av Juliana I. S. Perminow og Arild Sletten fra Bioforsk.

Juliana I. S. Perminow har vært prosjektleder for arbeidet ved Bioforsk. Inger-Lise W. Akselsen har hatt hovedansvaret for arbeidet med analyse av prøvene, og May Bente Brurberg har vært faglig ansvarlig for DNA-analysene.

Kari Romstad har vært prosjektleder hos Mattilsynet.

Arild Sletten og Juliana I. S. Perminow har skrevet rapporten.

2. Kort om sjukdommen

Bakterien *Xanthomonas fragariae* er årsak til sjukdommen, som vi på norsk har kalt bakterieflekk på jordbær (engelsk: angular leaf spot of strawberry). Den viser seg først ved at bladene får 1-4 mm store kantete flekker. De er lettest synlig fra undersiden av bladet. Flekkene er først vasstrukne. Holder man bladet opp mot lyset, ser man at de er gjennomskinnelige. Flest flekker finner man langs bladnervene. Etter hvert flyter de små flekkene sammen til store flekker, de blir rødbrune, og er lett synlige fra oversiden av bladet. Ved kraftige angrep ødelegges bladet så mye at det lett kan gå i stykker og bli fillete. Flekker kan man også finne på begerbladene, men ikke på bærene. (Se bilder neste side). Ved høy luftfuktighet kan man se et glinsende, hvitaktig eller kremfarget bakterieslim i flekkene. Svake angrep av bakterieflekk blir lett oversett. Bakterien kan være tilstede i alle deler av planten, også utløpere, uten at det er synlige symptomer. Dette kalles latent smitte, og den kan bare påvises med analyse i laboratoriet.

Klimatiske forhold har stor betydning for sjukdommens utvikling og omfanget av skaden. Temperaturer rundt 20^o C regnes for å være optimalt, ved lavere eller høyere temperatur kan sjukdommen stanse, men fortsette igjen senere hvis det blir bedre forhold for bakterievekst. Høy fuktighet er viktig for infeksjon. I tørt vær kan sjukdomsutviklingen stoppe opp.

Den viktigste spredningen av bakterieflekk skjer med småplanter som er smittet latent. Slik har sjukdommen spredt seg fra USA i begynnelsen av 1960-årene til mange land over hele verden. Spredning over korte avstander kan skje med utløpere, ved vanning/vannsprut, arbeid i kulturen, maskiner og redskap. Avhengig av fuktighet og temperatur kan bakterien overleve i lang tid i døde og inntørkede blad og andre planterester som blir liggende på åkeren eller i jorden, men den er ikke kjent for å kunne overleve fritt i jord uten at det finnes rester av planter der.

Bakterien angriper først og fremst dyrkede arter og sorter av jordbær, også to ville arter (*Fragaria* spp.). Det er noe forskjell i sortenes mottakelighet for sjukdommen, men resistente sorter er ikke kjent. Det er vist at bakterien kan smitte mure (*Potentilla fruticosa* og *P.glandulosa*), men trolig er dette ikke av praktisk betydning.

Sjukdommen finnes i mange land over hele verden hvor det dyrkes jordbær, og er kjent for å kunne gjøre betydelig skade. Skadeomfanget varierer mye. Det kan være stort i områder med mye fuktig vær, men det er vanligvis lavt i tørre dyrkingsområder. *Xanthomonas fragariae* er hittil ikke påvist i Norge, Danmark eller Sverige. Derimot er den i løpet av de siste 25 år påvist i Finland, og i store jordbær-produserende land som Spania, Tyskland, Frankrike, Nederland, Italia og Belgia. Den har også vært påvist i England og Skottland, men er blitt utryddet derfra.

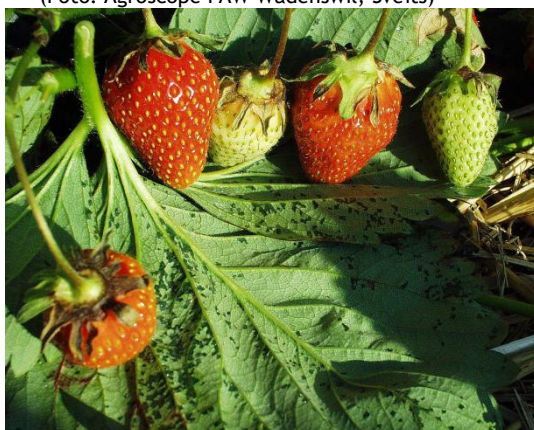
Xanthomonas fragariae er en karanteneskadegjører som omfattes av Matlovens Forskrift om planter og tiltak mot planteskadegjørere. Ved sjukdomsutbrudd kan Mattilsynet sette i verk strenge tiltak for bekjempelse. Som forebyggende tiltak anbefales at man bruker sertifiserte planter, unngår vanning med spreder, og har gode rutiner for rengjøring og desinfeksjon ved bruk av felles redskap og maskiner. Dyrking av jordbær i tunnel eller veksthus med stabile klimaforhold kan være en fordel, men hvis plantene overvannes kan sjukdommen gjøre stor skade.



Kraftig angrep av *Xanthomonas fragariae*
(Foto: W.Turecek, Cornell University, Geneva, USA)



Gjennomskinnlige bladflekker.
(Foto: Agroscope FAW Wädenswil, Sveits)



Angrep på blad og begerblad.
(Foto: Agroscope FAW Wädenswil, Sveits)



Angrep på begerblad.
(Foto: Agroscope FAW Wädenswil, Sveits)

3. Materiale og metoder som er brukt i kartleggingen

System for prøvetaking.

Kartleggingen har vært landsomfattende. Det ble fokusert på fylker/områder som hadde klimatiske forhold som er gunstig for utvikling av *Xanthomonas fragariae*, og områder som er viktige for norsk jordbærproduksjon. Prøvetettheten var ca. 10-15 % av det totale produksjonsarealet/antall virksomheter. Det ble tatt ut og analysert totalt 182 prøver.

Prioritering av fylker hvor det ble tatt prøver fra ble gjort ut fra en vurdering av risiko og betydning av jordbær dyrking i fylket. Prøvetettheten hos den enkelte virksomhet ble foretatt ut fra risiko og størrelsen av jordbærareal.

1. Fylker som ble gitt høy prioritet var Buskerud, Vestfold, Vest-Agder, Aust-Agder, Rogaland og Møre og Romsdal.
2. Fylker som ble gitt middels prioritet var Oslo, Akershus, Østfold, Sogn og Fjordane, Hordaland, Sør-Trøndelag, Hedmark, Oppland og Telemark.
3. Fylker som ble gitt lav prioritet var Nord-Trøndelag, Nordland, Troms og Finnmark.

Ved utvelgelsen av virksomheter, som det ble tatt prøver fra innen de ulike risikoområdene (høy, middels og lav), ble dette gjort i følgende prioriterte rekkefølge:

1. Alle virksomheter som hadde produksjon og omsetning av jordbærplanter ble undersøkt. Hos virksomheter som hadde både plante- og bærfelt (4B-producenter) ble både plante- og bærfelt prøvetatt.
2. Virksomheter med tunnel- eller veksthusproduksjon.
3. Virksomheter med stort jordbærareal.
4. Virksomheter i soner med spesielt gunstig klima (høy luftfuktighet/mye nedbør og relativt høye temperaturer).
5. Virksomheter som hadde drevet bærproduksjon i mange år.

Det ble gjort en prioritering av felt for prøvetaking etter:

1. Alder på felt. Dersom virksomheten hadde 2 år gamle felt ble disse prioritert.
2. Planter som sto, eller har stått i veksthus eller tunnel ble prioritert.
3. Virksomheter som hadde sorter med opprinnelse i utlandet og som hadde kommet inn i Norge via karantenedyrking ble prioritert.

Prøvetaking og forsendelse.

Mattilsynet hadde ansvar for uttak av prøver. Prøveuttaket ble gjennomført fra august til oktober.

En prøve besto av 10 blader med stilk og hele bladsliren, fra til sammen 10 planter. Bladet ble tatt fra midten av kronen. De eldste og yngste bladene var ikke med i prøven. Prøvene ble tatt ut spredt og tilfeldig fra felt/veksthus. Prøver fra forskjellige sorter ble holdt adskilt slik at prøveresultatene kunne føres tilbake til sort. Prøvene ble sammen med noen små biter fuktig trekkpapir lagt i en plastpose, som ble merket og lukket forsvarlig før forsendelse samme dag med post (Bedriftspakke over natten), adressert til Planteklinikken, Bioforsk Plantehelse. Ved mottak ble prøvene registrert i dataprogrammet Wilab, og laboratorieanalyse ble igangsatt umiddelbart.

Laboratorieanalyse

Bioforsk Plantehelse er ikke akkreditert for diagnose av *Xanthomonas fragariae*, men har et omfattende internkontrollsystem for alle analyser. Analysene av innsendte prøver ble i hovedsak utført etter retningslinjene i EPPO Diagnostic Protocol for *Xanthomonas fragariae*, (PM 7/65), med noen modifikasjoner i bruk av dyrkingsmedium for bakterien, og DNA-metodene. Dette ble gjort etter anbefaling fra Jan van der Wolf, Plant Research International, Wageningen, Nederland. De er publisert i tidsskriftet Plant Pathology (2014), 63,255-263.

Xanthomonas fragariae er vanskelig å diagnostisere, særlig fordi den kan opptre latent uten å vise synlige symptomer. Det er derfor nødvendig å bruke flere forskjellige internasjonalt anerkjente metoder for å være sikker på om en prøve er positiv eller negativ

Hver prøve, som besto av 10 bladstilker, ble etter mottak vasket i vann, kuttet opp i mindre biter, og rystet i 250 ml bufferløsning ved 4 °C over natten. Løsningen ble så sentrifugert, og bunnfallet resuspendert (løst opp) i en liten mengde buffer. Dette ekstraktet ble delt opp i mindre porsjoner i små rør for videre analyse. Alle prøver ble først undersøkt med immunofluorescens-metoden (IFAS), med antistoffer fra Agden Phytodiagnosics. Deretter ble de undersøkt med real-time PCR. Gjenværende prøveekstrakt ble reservert til isolering på næringsagar og patogenitets-undersøkelse på småplanter. Som positiv kontroll i alle analyser ble det brukt referanseisolater av *Xanthomonas fragariae*, nr. 2473 fra NCPPB, England, og nr. 704 fra LMG, Belgia, to store bakterieisolatsamlinger i Europa.

Noen få prøver hadde bladflekker som kunne minne om det som er beskrevet for angrep av *Xanthomonas fragariae*. Slike flekker ble skåret ut for isolering på Wilbrink -N næringsmedium som er spesialutviklet for *Xanthomonas fragariae*.



For ekstrahering av en prøve klippes 10 bladstilker opp i små biter og rystes i fosfatbuffer på maskin ved 4 °C over natten.

4. Resultat av analysene.

Det ble analysert tilsammen 182 innsendte prøver. De var fra alle landets fylker, unntatt Finnmark og Oslo.

Sorter som ble analysert :

Korona 70 prøver, Sonata 23 prøver, Polka 22 prøver, Florence 13 prøver, Frida 6 prøver, Bounty 5 prøver, Senga Sengana 4 prøver, Honey Eye 3 prøver, Rondo 2 prøver, Blink 1 prøve, Zefyr 1 prøve, Rikki 1 prøve og Inga 1 prøve. For 30 prøver var sort ikke oppgitt.

Noen få av prøvene hadde symptomer som kunne minne om angrep av *Xanthomonas fragariae*. Isolering fra disse på næringsagar ga negativt resultat for *Xanthomonas fragariae*.

Laboratorieanalysene påviste ikke *Xanthomonas fragariae* i noen av prøvene. Fordi alle prøvene var negative på funn er det for enkelhets skyld ikke satt inn i tabellen nedenfor. Den viser alle prøvestedene gruppert etter den prioritering av fylker for prøvetaking som ble gjort, jfr. s.4.

Fylker som hadde høy prioritet:					
Fylke	Prøvested	Kommune	Postnr.	Dato	Antall
BUSKERUD	WESTERN-TROND	HOLE	3530	04.09.2013	4
BUSKERUD	SKOGEN-GÅRD	ØVRE EIKER	3322	09.09.2013	4
BUSKERUD	EGGE-GÅRD	LIER	3400	09.09.2013	4
BUSKERUD	STOKKE-TORE	LIER	3425	09.09.2013	4
BUSKERUD	NORSKE-JORDBÆR	SYLLING	3410	16.09.2013	4
VESTFOLD	MOSKVIL-KORN-FRØ	SANDE (V.)	3070	03.09.2013	4
VESTFOLD	CHRISTENSEN-TOM	HORTEN	3179	03.09.2013	6
VESTFOLD	AUSTEIN-AA	LARVIK	3267	11.09.2013	3
VESTFOLD	GRAN-GUDMUND	SANDE (V.)	3070	16.09.2013	4
VESTFOLD	AARSLAND-ARNE	NØTTERØY	3140	17.09.2013	5
VEST-AGDER	KRISTENSEN-KARL-YNGV	KRISTIANSAND	4658	26.08.2013	5
VEST-AGDER	LEHNE-KÅRE-LEE	LINDESNES	4521	27.08.2013	5
VEST-AGDER	TOFTELAND-GÅRD	SØGNE	4640	28.08.2013	5
AUST-AGDER	BIRKELAND-TRYGVE	BIRKENES	4760	20.08.2013	5
AUST-AGDER	REIERSØL-PLANTESKOLE	FROLAND	4820	27.08.2013	5
ROGALAND	MÆLE-J	SOLA	4050	19.08.2013	4
ROGALAND	JOA-GEIR	SOLA	4050	20.08.2013	3
ROGALAND	SOLA-KJ	SOLA	4050	21.08.2013	3
ROGALAND	HETLAND-ANTON	FISTER	4139	27.08.2013	5
MØRE OG ROMSDAL	SKÅLA-BÆR-AS	MOLDE	6456	12.08.2013	8
MØRE OG ROMSDAL	KROHN-ENDRE	MOLDE	6421	12.08.2013	8
MØRE OG ROMSDAL	FUGLEM-JAN-OLE	VALLDAL	6210	13.08.2013	6
MØRE OG ROMSDAL	MYKLEBUST-HÅKON	VALLDAL	6210	13.08.2013	8
Sum:	6	23	21		112

Fylker som hadde middels prioritet:					
AKERSHUS	SAXEBØL-PER-FR.	FROGN	1440	30.09.2013	3
AKERSHUS	ISINGRUD-PER	ULLENSAKER	2040	01.10.2013	5
ØSTFOLD	MYSEN-DAGFIN	EIDSBERG	1880	23.09.2013	3
ØSTFOLD	FORSETL-OJ	FREDRIKSTAD	1621	23.09.2013	3
ØSTFOLD	POLLEST-ARNST-SK	DILLING	1570	23.09.2013	3
SOGN OG FJORDANE	KALHAGEN-H-HERMAN	LUSTER	6868	06.08.2013	4
SOGN OG FJORDANE	VEREIDE JON ELLING	GLOPPEN	6823	13.08.2013	3
SOGN OG FJORDANE	MYRVOLD-IVAR	EID	6777	13.08.2013	3
SOGN OG FJORDANE	TØNJUM-Anders	LÆRDAL	6887	12.08.2013	2
HORDALAND	MÆLAND-ÅGE	ULLENSVANG	5780	06.08.2013	3
SØR-TRØNDELAG	BERG-SVERRE	RISSA	7100	05.08.2013	2
SØR-TRØNDELAG	LANDRØ-LARS-ARNE	AGDENES	7316	06.08.2013	2
SØR-TRØNDELAG	BÆKKEDAL-KONRAD	AGDENES	7316	06.08.2013	2
HEDMARK	TORP-PETER	STANGE	2344	09.09.2013	3
HEDMARK	GRAMINOR-AS	STANGE	2344	09.09.2013	3
HEDMARK	NYSTUEN-TROND	RINGSAKER	2350	17.09.2013	4
OPPLAND	ETNESTAD-O	GJØVIK	2836	16.09.2013	4
OPPLAND	TOTEN-GARTNERI AS	ØSTRE TOTEN	2848	16.09.2013	3
OPPLAND	KAURSTAD	RINGEBU	2630	23.09.2013	3
TELEMARK	ERIKSEN-SVEIN-TORE	NOTODDEN	3677	03.09.2013	3
Sum: 8	20	18			61
Fylker som hadde lav prioritet:					
NORD-TRØNDELAG	VOLD-TERJE	FROSTA	7633	06.08.2013	1
NORD-TRØNDELAG	JØREM-GÅRD	STEINKJER	7710	06.08.2013	1
NORD-TRØNDELAG	ROSTAD STEIN GUNNAR	BEITSTAD	7730	06.08.2013	2
NORDLAND	EINARSEN-ARNE	BØ (N.)	8475	05.08.2013	1
NORDLAND	STENHAUGBÆRGARTNERI	RANA	8725	13.08.2013	1
TROMS	JOHANSEN-ANDRE-HUGO	KVÆFJORD	9475	05.08.2013	1
TROMS	VIK-FRODE	KVÆFJORD	9475	05.08.2013	1
TROMS	ERIKSEN-FRUKT-GRØNT	KVÆFJORD	9475	05.08.2013	1
Sum: 3	8	6			9
Total: 17	51	45			182

5. Konklusjon.

På grunnlag av denne rapporten fra en landsomfattende undersøkelse for forekomst av planteskadegjøreren *Xanthomonas fragariae* er det grunn til å anta at den ikke finnes i Norge.

Det ble analysert et stort antall prøver med metoder som er internasjonalt anerkjent.

Det ble tatt prøver fra små og store virksomheter. Bærprodusenter i alle viktige jordbærdriftsområder, og alle sorter som er vanligst dyrket ble undersøkt. I tillegg ble det tatt prøver fra alle landets planteprodusenter. I hver virksomhet er prøvene tatt ut etter et tilfeldig mønster.

Frihet for skadegjøreren skyldes trolig at det i mange år ikke har vært tillatt å importere jordbærplanter til Norge. Det har bare kunnet skje dersom plantene først er blitt dyrket i karantene under kontroll av Mattilsynets. *Xanthomonas fragariae* har særlig i de siste ti år spredt seg omfattende i flere land i Europa, og har vist seg ofte å kunne gjøre stor skade.

Import av jordbærplanter fra land som er kjent for å ha sjukdommen vil utgjøre en risiko for introduksjon av *Xanthomonas fragariae* til Norge. Dersom man skal tillate import bør det eventuelt være sertifisert plantemateriale som har gjennomgått anerkjent testing og er funnet fri for skadegjøreren.