

Stjälkbakterios – kartläggning av nya skadegörare i Sverige

Paula Persson, SLU, Uppsala och Åsa Rölin, Hushållningssällskapet, Skaraborg

Inledning

Stjälkbakterios i svenska potatisodlingar orsakar regnrika år stor förödelse. Sjukdomen har under senare år fått en helt ny skadegörarbild ute i Europa. Bakterier ur släktet *Dickeya* (syn. *Erwinia chrysantemi*) dominerar bilden idag (Palacio-Bielsa et al. 2006, Slawiak et al 2009, Czajkowski et al. 2009, Tsrör (Lahkim) et al. 2009, Toth et al. 2011). I vårt grannland Finland har undersökningar under senare år påvisat *Dickeya* sp. både i potatis och i vattendrag (Laurila et al. 2008). Inventeringar i Sverige för 25 år sedan visade att stjälkbakterios orsakades av *Pectobacterium atrosepticum* (syn. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) (Persson 1988). Senare års knölanalyser av potatis skördad 2007 och framåt visar att *Dickeya* sp. även förekommer i det svenska odlingsmaterialet. I projektet har kartläggning av orsakande arter som genomförts, vilken är nödvändig för utvecklingen ett adekvat kontrollprogram som minskar konsekvenserna av sjukdomen och dess spridning. Projektet har samfinansierats av SLF och Svensk Potatisforskning Alnarp och är ett samarbete mellan SLU och Hushållningssällskapet. Genom deltagande i ett europeiskt samarbetsprojekt Euphresco har erfarenheter om sjukdomen, kunnat utbytas.

Bakgrund

Stjälkbakterios i potatis anses, under europeiska odlingsförhållanden, främst vara en utsädesburen sjukdom. Smittan finns i skalet, i de naturliga öppningar s.k. lenticeller, där den överlever hela lagringssäsongen. Vi talar då om latent infektion dvs. inga symptom syns men knölen bär på de sjukdomsframkallande bakterierna. Det är möjligt att analysera eventuell knölsmitta men det är givetvis helt nödvändigt att veta vilken eller vilka sjukdomsalstrare man skall analysera.

Sjukdomsalstrarna. Stjälkbakterios orsakas av bakteriearter ur två släkten som nyligen fått nya namn: *Pectobacterium atrosepticum* (syn. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), *P. wasabie*, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (syn. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) och arter ur släktet *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*). Det som förenar arterna är att bakterierna bildar pektolytiska enzym som gör att potatisens växtvävnad löses upp. Det som skiljer dem åt är deras temperaturpreferenser där *Dickeya* sp. trivs i varmt klimat medan *Pectobacterium atrosepticum* föredrar svalare nordeuropeiskt klimat. Samtliga ovanstående arter kan orsaka stjälkbakterios på plantor dvs. mörkfärgade stjälkar där mörkfärgningen startar från stjälkbasen eller högre upp i plantan. Stjälkarna blir mjuka, böjs lätt och går lätt att dra upp.

Erwinia chrysanthemi heter nu *Dickeya* sp. Den bakterie som tidigare benämndes *Erwinia chrysanthemi* har diskuterats som skadegörare i potatis under många år men den har inte ansetts vara ett stjälkbakteriosproblem i Europa p.g.a. att den gynnas av höga temperaturer. Arten angriper en mängd värdväxter, förutom potatis också många prydnadsväxter. Molekylära undersökningar under senare år har visat stor variation inom *E. chrysanthemi* och 2005 överfördes den till ett helt nytt släkte: *Dickeya*, som delades upp i sex nya arter (Samson et al. 2005). *Dickeya* sp. är spridd i Europa och har också rapporterats på potatis från Israel, Nordamerika, Asien och Australien. I Europa kom den första rapporten om *E. chrysanthemi* dvs *Dickeya* spp. i potatis från Nederländerna redan på tidigt 1970-tal och denna följdes av rapporter från t.ex. Danmark, Finland, England och Frankrike. Engelska studier har visat att bevarade isolat från Danmark, Nederländerna, England och Frankrike är *D. dianthichola*. Bilden kompliceras av att man helt nyligen redan identifierat en ny *Dickeya* typ i potatis odlad i Nederländerna, Finland och Israel (Laurila et al. 2010, Tsrör (Lahkim) et al. 2009) alla från potatisgrödor med ursprung från Nederländerna. Denna nya bakterie benämndes *D. 'solani'* och är nu officiellt en egen art *Dickeya solani* sp. nov. (van der Wolf et al. 2014).

Dickeya dominerar i Nederländerna. I Nederländerna skedde ett skifte i artbilden för stjälkbakterios under 2000-talet, då *Dickeya solani* blev helt dominerande. Växtsånger med stora nederbördsmängder sprider och uppförökar bakterierna. I Nederländerna har de sett ett tydligt samband mellan fuktiga väderförhållanden under säsongen och vid skörd, med nedklassning av utsädespartier kommande år. Forskare har visat att *Dickeya* spp. sprids via fritt vatten från en planta till en annan. Genom märkning har

de också kunnat följa bakterierna, sett att de också kan kolonisera potatisrötter och spridas systemiskt till nyanlagda dotterknölar via rotsystemet. Smittan kan alltså både fångas upp via knölarnas ytskikt och förorsaka latent skalsmitta men dessutom kan bakterierna via rötter och stoloner föras genom ledningssystemet ut till nyanlagda knölar (Czajkowski 2010). Utmärkande för *Dickeya* är att den anses utveckla stjälbakterios bäst i värme $> +25^{\circ}\text{C}$, den överlever bara några få månader i bar, obevuxen jord dvs. risken för övervintring är liten. Låga mängder av bakterier på utsädesknölen kan ändå orsaka omfattade infektioner och *Dickeya* synes också vara en mer aggressiv sjukdomsalstrare än *P. atrosepticum*.

Erwinia carotovora heter nu *Pectobacterium*. Isoleringar från stjälbakteriossymptom i Sverige under 1980 talet resulterade enbart i *E. carotovora* subsp. *atroseptica* som idag heter *Pectobacterium atrosepticum*. *E. carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) isolerades under samma tid från blötrötade knölar, lokala potatisstjälkrötter och från ytvatten av sjöar och åar (Persson 1991). Både i Sverige och internationellt har Ecc hittats i rötat material från många olika växtslag. Molekylära undersökningar har visat att Ecc är mycket heterogen vilket medfört att denna art överförts till släktet *Pectobacterium* och delats upp i flera arter (Gardan et al. 2003). Två av dessa har visat sig utveckla stjälbakterios i potatis *P. wasabie* som är vanlig i Europa (Nabhan et al 2012, Pasanen et al. 2013, Moleleki et al. 2013) och *P. carotovorum brasiliensis* som helt nyligen rapporterats förkomma i Europisk potatis och enligt litteraturuppgifter i Afrika och Nordamerika (De Boer et al. 2012, Ngadze et al 2012). En tredje art *P. carotovorum subsp. carotovorum* är vanlig i potatis och orsakar blötröta men inte stjälbakterios (Pasanen et al. 2013).

Stjälbakterios i Sverige vad vet vi? Inventeringar av plantor med stjälbakteriossymptom utfördes i Sverige under 1980-talet och visade att *Pectobacterium atrosepticum* dominerade bilden helt. *Dickeya* sp. (*Erwinia chrysanthemi*) isolerades vid samma tid från ytvatten ämnat till bevattning, men återfanns inte i svenskodlad potatis. Fällexperiment visade dock att *Dickeya* från bevattningsvatten, vid konstgjord infektion av knölar, kunde överföras till dotterknölar och orsaka mörka kärtringar. Vid detta projekts start 2012 hade knölanalyser med DNA-baserad metodik, PCR, påvisat *Dickeya* sp. i svenskodlad potatis. Artbestämning utfördes också på några matpotatissorter med resultatet att arterna *Dickeya 'solani'* och *D. dianthicola* identifierades.

Ingen systematisk inventering av vilka bakteriearter som förorsakar stjälbakterios i svenskodlad potatis har gjorts sedan 1980 talet. Utsädeshandeln har förändrats mycket de senaste decennierna, Sverige har blivit medlem i EU och andelen importerat utsäde har ökat betydligt.

Material och metoder

Internationellt samarbetsprojekt – Euphresco. Projektansvariga från SLU och HS har under projektperioden deltagit i ett europeiskt nätverksprojekt: Euphresco I ”Risks of new *Dickeya* species in agriculture and their potential management” samt Euphresco II project on “Assessment of *Dickeya* and *Pectobacterium* spp. on potatoes and ornamentals” Projektet koordineras av Dr Maria Bergsma Vlami och Dr Jan van der Wolf med deltagare från 13 länder. Svenska resultat har presenterats vid tre Euphresco möten.

Provinsamling

Knölar: Under tre år har knölprover från framförallt utsädespartier samlats in och analyserats på förekomst av latent smitta med PCR teknik. De knölprover som bekostades av projektet togs främst ut på våren av Hushållningssällskapets rådgivare, hos lantbrukare som köpt in utsäde till sin odling. Sammanlagt 200 knölar per prov samlades in, fördelat på flera utsädesäckar/storlådor. Proverna skickades via Jordbruksverket till NAK i Nederländerna. Sammanlagt 256 prover ingår i undersökningen.

Stjälkar: För att ta reda på vilka bakteriearter som orsakar stjälsymptom samlades sammanlagt 103 stjälkar in under sommaren 2012 och 2013. Stjälkarna kom från fält spridda över hela landet från Västerbotten i norr till Skåne i söder och Gotland i öster (Tabell 4). Stjälkprover har samlats in under juli och augusti i samband med rådgivningsbesök hos matpotatisodlare av Hushållningssällskapet Skaraborgs potatisrådgivare. Insamling av stjälkar är insamlade av projektansvariga. Inför odlingsäsongen 2012 och

2013 skickades provtagningsinstruktioner, formulär och bilder till Jordbruksverkets utsädeskontrollanter.. Stjälkproverna frystes genast efter provtagningen och transporterades i fryst tillstånd till SLU Uppsala.

Analyslaboratorier – knölprover

NAK (Nederlandse Algemene Keuringsdienst), Nederländerna. NAK gör PCR analyser med primerpar för *Pectobacterium atrosepticum*, *Dickeya* sp., *D. solani*, *D. dianthicola* (Elphinstone 2010). NAK gör också analyser som redovisas som *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Det primerpar som används analyserar en form av 'virulent' *P.c. carotovorum* som orsakar stjälkbakterios (de Haan et al. 2008). I samtal med NAK och Jan van der Wolf (muntl) framgår att detta motsvarar arten *P. wasabie* och är samma primerpar som vi använt i våra egna stjälkanalyser. PCR-analys genomförs på 200 knölar som delades in i 10 grupper om 20 knölar per grupp. I denna rapport redovisas provsvar som antal positiva grupper. Ju fler grupper med positiv reaktion desto större variation, se tabell 1.

Tabell 1. NAK beräkningsmodell GB system, från 2013 Lims system(finns på ISTA seed calc hemsida)

200 knölar analyserade i grupper om 20 knölar				
Positiva reaktioner	GB-System, NAK calculation system		LIMS-System, Seed calc, ISTA	
Antal grupper	% sjuka	Variation %	% sjuka	Variation %
0	0	0	0,0	0-1,8
1	0,5	0,5-1	0,5	0,01-2,9
2	1	1-2	1,1	0,1-4
3	1,5	1,5-3	1,8	0,3-5,2
4	2	2-4	2,5	0,7-6,5
5	3	2,5-5,5	3,4	1,0-8,0
6	4	3-7,5	4,5	1,5-10
7	5,5	3,5-10	5,8	2,1-12,7
8	7,5	4,5-13,5	7,7	2,9-16,8
9	10,5	5,5-22	10,9	4-25,8
10	81,5	7,5-100	100,0	5,7-100

MTT, Agrifood Research Finland, gör PCR analyser och artbestämmer *P. atrosepticum* och *Dickeya* spp. så samma sätt som NAK. MTT gör analyser av *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Detta motsvarar dock inte den virulenta formen *P. wasabie*. Den detekterar inte *P. wasabie* alls. MTTs analys omfattar den i naturen mycket vanligt förekommande *P. c* subsp. *carotovorum* som orsakar blötröta i potatis men inte stjälkbakterios. Företagsproverna till MTT bestod av 100 knölar som analyserades i 20 grupper om 5 knölar per grupp. Provsvar gavs i antal procent positiva grupper. Eftersom antalet knölar per grupp är färre blir den sannolika variationen mindre. Däremot blir ett knölprov mindre representativt för partiet ju färre knölar som ingår.

Tabell 2. Beskrivning av de 256 knölprover som ingår i studien. Årtal anger det år potatispartiet odlats

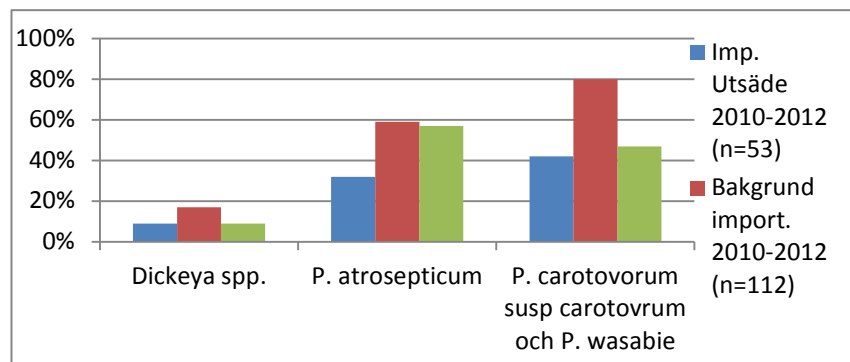
Knölanalyser på potatis odlat år	2010	2011	2012
Analyser gjorda av NAK inom projektet	25	27	39
Analyser gjorda av NAK företagsprover	39	88	0
Analyser gjorda MTT företagsprover	29	9	0
Totalt	93	124	39
Beskrivning av proverna			
Certifierat utsäde	76%	87%	88%
Eget utsäde	8%	9%	10%
Matpotatis	16%	5%	2%
% Matpotatissorter (resterande stärkelse och chips)	72%	77%	74%
Antal sorter matpotatis	31	33	16
Antal sorter stärkelse och chipspotatis	13	13	6
Antal prover per sort	1-9	1-18	1-4

PCR analyser av stjälkmaterial – egna undersökningar. Prov från stjälkmaterial togs ut i gränzonen mellan frisk och sjuk vävnad c:a 1 cm³ som placerades i flytande kväve, sönderdelades och placerades i extraktionsbuffert. DNA extraherades enligt metod från Lloop et al. (1999). Extraherat DNA analyserades i realtids PCR med fyra primerpar specifika för *Pectobacterium atrosepticum*, *P. wasabie*, *Dickeya solani* och *D. dianthicola* (Elphinstone 2010, van der Wolf personlig kontakt).

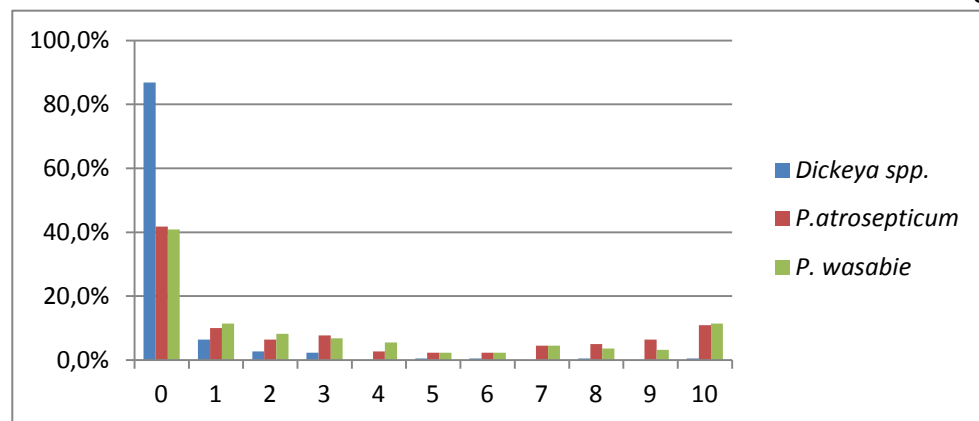
Isolering av bakterier från stjälgar. Prov från stjälgar togs ut på samma sätt som för PCR analysen. Provet placerades i ett par ml steril buffert och skakades regelbundet under 15 minuter. 100 µl vätska spreds på ett semiselektivt tvåskiktssubstrat med ett pektatlager överst (Helias et al. 2012). Stjälbakteriosbakterier löser upp pektatet och bildar gropar i mediet efter två dagar. Kolonier från gropar fördes därefter över till nytt substrat och misstänkta kolonierna renodlades. Isolerade bakterier karakteriserades i PCR analys med specifika primerpar samt analyserades på sin förmåga att röta frisk potatisstjälvävnad. För denna senare analys stacks renkultur av bakterier in i ledningssträngarna i potatisstjälgar (två sorter Arrow och Herta) och rötad vävnad registrerades efter 4 dagar.

Resultat

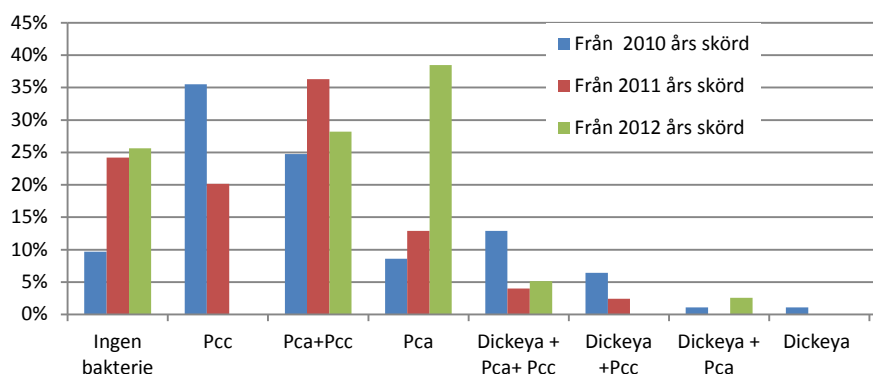
Knölar: Latent smitta av *Dickeya* spp., *D. solani*, *D. dianthicola*, *Pectobacterium atrosepticum*, *P. wasabie* och *P. carotovorum subsp. carotovorum* detekterades i såväl direktimporterade potatispartier som i svenskodlade partier med både svenskt och utländskt ursprung. Merparten av de testade partierna är utsäde (se Tabell 2). Analyssvaren från NAK och MTT visar på förekomst av flera bakteriearter som kan orsaka stjälbakterios. I figur 1 är provsvaren indelade efter ursprung - importerat, bakgrund import och helsvenskt. Proverna kommer från knölar odlade under åren 2010-2012. I figur 2 framgår att flera av knölproverna hade kraftig latent smitta. I dessa fall var *P. atrosepticum* och *P. wasabie*, vanligare jämfört med *Dickeya* spp.



Figur 1. Procentuellt antal knölprover med förekomst av olika bakteriearter. Analyserade av NAK och MTT, totalt 256 prover. Bakgrund import = partiet är odlat i Sverige, men har i en tidigare generation importerats. Helsvenskt = odling på friland av samtliga generationer i Sverige. Vissa prov kan innehålla flera bakteriearter samtidigt och ingår då i flera staplar,



Figur 2. Antal grupper med positiv reaktion från 0-10. Ju högre värde desto fler knölar med latent smitta i provet. Figuren visar resultat från 209 prover (200 knölar per prov, 10 grupper) analyserade av NAK 2010-2012. Se tabell 1 för förklaring procentuell smitta.



Figur 3. Andel provsvar med förekomst av ingen, en eller flera bakterier i samma knölprov. Pca = *Pectobacterium atrosepticum*, Pcc = *P. carotovorum subsp. carotovorum* och *P. wasabie*. Sammanställning av 218 provsvar analyserade av NAK 2010-2012 och 38 prover analyserade av MTT från 2010-2011 års skörd.

De knölprover som analyserades av NAK och som innehöll *Dickeya* spp. analyserades vidare till art - *D. solani* eller *D. dianthicola*. Resultaten från sammanlagt 25 prover redovisas i Tabell 3

Tabell 3. Antal prover med förekomst av antingen *Dickeya solani* eller *D. dianthicola* i knölprover analyserade av NAK 2010-2012, sammanlagt 25 av totalt 218 prover. Provsvar fördelade efter ursprung. Andel av prover tagna i certifierade utsädespartier angivet i procent.

	Direktimport	Importbakgrund	Helsvensk	Summa
<i>D. solani</i> 2010	2	9	2	13
<i>D. solani</i> 2011	1	3	1	5
<i>D. solani</i> 2012		1		1
Summa	3	13	3	19
Andel certifierat utsäde	100%	46%	100%	63%
<i>D. dianthicola</i> 2010		2		2
<i>D. dianthicola</i> 2011	1		1	2
<i>D. dianthicola</i> 2012			2	2
Summa	1	2	3	6
Andel certifierat utsäde	100%	50%	100%	83%

Stjälkar

Tabell 4. Beskrivning av urval och detekterade bakteriearter från stjälkar med misstänkta angrepp av stjälkbakterios. Prover uttagna i fält 2012 och 2013

	2012		2013	
Antal fält	35		31	
Matpotatis antal prover	49		25	
Stärkelse och chips pot, antal prover	9		20	
Matpotatissorter antal	19		14	
Stärkelse och chips pot antal sorter	8		8	
	Antal	%	Antal	%
<i>D. solani</i> (som enda art)	16	27	0	0
<i>D. dianthicola</i> (som enda art)	0	0	0	0
<i>P. atrosepticum</i> (som enda art)	8	14	25	55
<i>P. wasabie</i> (som enda art)	1	2	0	0
<i>D. solani</i> + <i>P. atrosepticum</i>	9	15	4	9
<i>D. solani</i> + <i>P. wasabie</i>	1	2	0	0
<i>D. dianthicola</i> + <i>D. atrosepticum</i>	1	2	0	0
<i>P. atrosepticum</i> + <i>P. wasabie</i>	5	10	5	11
<i>D. solani</i> + <i>P. atrosepticum</i> + <i>P. wasabie</i>	2	2	0	0
<i>D. dianthicola</i> + <i>D. atrosepticum</i> + <i>P. wasabie</i>	0	0	2	5
inga bakterier detekterade	15	26	9	20
Summa	58	100	45	100

D = *Dickeya* P = *Pectobacterium*

På 19 provplatser under 2012 och 2013 hade analys på 200 knölar gjorts på utsäde hos NAK. Sammanlagt 26 stjälkbakteriosstjälkar samlades in från dessa provplatser och analyserades på SLU. Sexton av stjälkarna kom från matpotatissorter och 10 från stärkelsesorter. I de stjälkar där bakterier detekterades återfanns *D. solani* på alla de provplatser där *D. solani* funnits i utsädet. Dessutom fann vi *D. solani* i ytterligare 3 stjälkprover där inte denna bakterie hade detekterats i knölanalysen. *D. dianthicola* återfanns i stjälkar på två av de tre provplatser där det funnits i utsädesprovet. Inga fler stjälkprover innehöll *D. dianthicola*. *P. atrosepticum* fanns i stjälkar i 17 av de 18 fall där bakterien detekterats i utsädet. *P. atrosepticum* fanns bara i ytterligare ett stjälkprov där inte knölanalys gett positiv reaktion. *P. wasabie*

hade detekterades i nästan varje utsädesparti - 24 av 26 partier. *P. wasabie* återfanns endast i 5 stjätkar i de 24 fall där den konstaterats i knölanalysen. *P. wasabie* fanns även i ytterligare ett stjätkprov, där bakterien inte konstaterats i utsädet.

Isolerade bakterier från stjätkar med symptom. *Dickeya solani* och *Pectobacterium wasabie* kunde båda isoleras från stjätkar med symptom. Renisolaten reagerade positivt i PCR analys med respektive artspecifika primerpar. Patogenitetstester på potatisstjätkar av potatissorterna Arrow och Herta gav för båda arterna kraftig rötutveckling i potatisvävnaden. *D. solani* och *P. wasabie* har i detta projekt för första gången i Sverige isolerats från potatisplantor med stjätkbakteriossymptom.



Bild 2 Angrepp i Uppland 24 juli 2012. Stjätkprov visade på enbart *Pectobacterium wasabie*

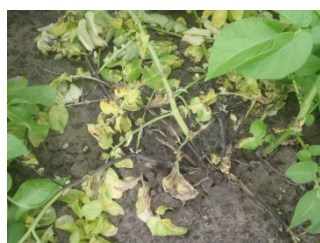


Bild 1 Angrepp i fält i Skåne i en omfattning och skadebild av stjätkbakterios som odlaren och rådgivarna aldrig tidigare sett, ca 40 % av plantorna var angripna redan den 25 juli. Analys av stjätkar från fältet 2 augusti visade på *Dickeya solani*.



Bild 3 Fält i Närke 2011 där det odlades potatis med konstaterad förekomst av *Dickeya solani* 2010. Överliggare, både stjätkar och knölar till MTT för analys. *D. solani* konstaterades.

Diskussion

Latent smitta av stjätkbakteriosbakterierna *Dickeya solani*, *D. dianthicola* och *Pectobacterium atrosepticum* och *P. wasabie* finns i både importerat och svenskt utsäde visar denna treåriga inventering. Dessa fyra arter orsakar både stjätkangrepp och rötter på potatis. Tre av dem, *D. solani*, *D. dianthicola* och *P. wasabie* är nya arter sedan studier från 1980-talet då endast *P. atrosepticum* isolerades från undersökta stjätkar med symptom (Persson 1988). Det har under de senaste åren framkommit att ytterligare en bakterieart kan orsaka stjätkbakterios, *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis*. Inom nätverket EUPRHRESO har det framkommit att bakterien förekommer i Europiskt utsäde. Undersökningar avseende *P. c. brasiliensis* har inte omfattats av detta projekt men ytterligare undersökningar om också denna bakterie är nödvändiga.

Dickeya solani anses vara aggressivare än andra *Dickeya* arter och *P. atrosepticum*. Utländska erfarenheter har visat att den kan ge motsvarande angrepp vid lägre förekomst av latent smitta än de andra bakteriearterna (van der Wolf muntl). *D. solani* kan vara aggressivare särskilt vid högre temperaturer och studier i Finland har visat att bakterien spelade en viktig roll vid allvarliga utbrott av stjätkbakterios under varma somrar (Degefu et al. 2013). I ett fält där vi 2012 blev ombedda att ta stjätkprover upplevde både odlaren och rådgivare att sjukdomsangreppet utvecklades snabbare, kraftfullare och med något annorlunda symptom än vad de var vana vid. Från dessa stjätkar isolerades *D. solani*. (bild 1) Observationer från denna studie visar att då analys av knölprover konstaterat att partiet innehåller både *Dickeya solani* och *Pectobacterium wasabiae* har förekomst av stjätkangrepp ökat. Detta överensstämmer med holländska försök där man noterat att *D. solani* tillsammans med *P. wasabiae* ökade sjukdomsutvecklingen. Erfarenheten från Nederländerna är att i partier med endast *P. wasabiae* utvecklas symptom senare jämfört med endast *D. solani* då symptomen utvecklas tidigare.

Under de tre provtagningsåren har 54 prover tagits på importerade utsäden. Flest partier, 31 stycken kom från Nederländerna, från Danmark, Tyskland, Skottland, Finland, Frankrike och Polen. I direkt-importerade partier hittade vi i vår studie *Dickeya solani* endast i partier från Nederländerna. Men det är känt att *D. solani* förekommer i de andra länderna också med undantag för Skottland. Förekomst av *D. solani* i helsvenska partier antas främst bero på överföring av smitta från smittade partier med importursprung.

Svenska och europeiska erfarenheter. Det är anmärkningsvärt att *P. atrosepticum* är så mycket vanligare i de svenskodlade partierna än de direktimporterade. Det kan ha flera förklaringar, som t.ex ett kyligare klimat. *P. atrosepticum* fanns i partier med hög förekomst från Skottland, Tyskland, Danmark och Polen, medan de flesta holländska partierna endast hade noll eller liten förekomst av denna art. Skottland införde nolltolerans för alla *Dickeya* arter år 2010. Inga fynd av *Dickeya* har gjorts i Skottland sedan 2011 (Elphinstone, 2013). Trots åtgärder mot *Dickeya* är stjälbakterios av *P. atrosepticum* fortfarande stort problem i Skottland, som orsakar underkända utsädesodlingar (Saddler muntl). Skottland har liksom Sverige ett svalt klimat.

Israel importerar varje år hälften av allt utsäde som används. Med importen följer de patogener som är vanliga i Europa. Prover tas på varje importparti och resultaten visar att *D. solani* återfanns första gången 2005. Israelisk import av utsäden har sedan dess i genomsnitt haft latent smitta av *D. solani* i 31 % av partier från Nederländerna, 18 % från Tyskland, 2 % från Frankrike (endast 2009) och inget parti från Skottland (Tsrör muntl).

Allt fler länder analyserar knölar med PCR teknik för latent smitta av bakterier som orsakar stjälbakterios. Forskare i flera länder visar på att det finns en bra korrelation mellan latent smitta och förekomst i fält. Det som dock bekymrar är de fåtal prov där analysen visar noll (frånvaro av bakterier) och det ändå utvecklas stjälbakterios i fält. Orsaken är att analysen har en nedre detektionsgräns dvs förekomst av mycket få bakterieceller kan inte detekteras. I Israel har provmängden ökat från 200 till 300 knölar för att öka säkerheten att finna låga infektioner (Tsrör muntl). I Nederländerna pågår undersökningar som visar att förekomsten av stjälbakterios är ojämnt (spatial) fördelat över fältet och att knölar med latent smitta ligger i kluster i lådor. För att klara att finna en infektion på 0,05 % behövs troligtvis mer än 200 knölar per prov (van der Wolf 2013). I Nederländerna blev det 2013 obligatoriskt att testa S-material för stjälbakterios. 200 knölar analyseras med PCR i 4 grupper med 50 knölar i varje grupp. Rekommendationen är noll procent av *Dickeya* spp. och *P. atrosepticum* men det ger inga påföljder för odlaren ännu (van der Wolf muntl.).

Vi kan konstatera att *Dickeya solani* orsakar stjälsymptom i Sverige och arten kan bli ett problem även under en blöt men sval sommar som 2012. Under den torra och varma sommaren 2013 har vi knappt funnit några stjälskar angripna av *D. solani* utan främst funnit *P. atrosepticum*. Utländska erfarenheter är att *Dickeya* gynnas av värme. Vårt urval av stjälskar är inte tillräckligt omfattande för att dra några slutsatser om hur klimatet påverkar *D. solani* men vi kan konstatera att *P. atrosepticum* fortfarande är en vanlig orsak till stjälbakterios i vårt klimat. Flera av stjälkproverna togs på fält där vi före odlings säsongen analyserat latent smitta i utsädet. I de flesta fallen återfann vi *D. solani*, *D. dianthicola* och *P. atrosepticum* i stjälkprov där det funnits i utsädet. *P. wasabie* hade konstaterats i nästan varje utsädesparti men återfanns bara i 20 procent av stjälkproverna. *P. wasabie* kan ge stjälbakterios men verkar inte vara lika aggressiv som de andra arterna. I flera av stjälkproverna hittades inga bakterier. Det beror troligen på diffusa symptom där liknande fläckar och rötangreppen var orsakade av andra patogener.

Tack vare detta projekt har Sverige kunnat delta i forskarnätverket Euphresco. Inom nätverket startar en ringtest hösten 2014. Sexton laboratorier kommer att få exakt samma prover med *Dickeya solani*, *D. dianthicola* och *Pectobacterium atrosepticum* och *P. wasabie* samt samma protokoll. Analyslaboratoriet ScanBi Diagnostics, Alnarp kommer att för Sveriges räkning delta i ringtesten. ScanBi Diagnostics utför redan idag PCR analyser av stjälbakterios åt flera företag i Sverige. Genom ringtesten får Scan Bi

värdefulla kontakter, den nyaste kunskapen och validering av metoder. Flera föreläsare efterfrågar ett svenskt laboratorium.

Åtgärder. Användning av friskt utsäde är den effektivaste metoden att undvika stjälbakterios. En test av latent smitta är frivillig och ingår inte i de svenska kraven för certifiering av utsäde. Desto fler odlare som ställer krav på analys eller själva tar ut prover desto större möjligheter finns till förändring. Även om *Dickeya sp* redan förekommer i svensk uppförökning finns den inte hos alla utsädesodlare. Vi har i denna studie sett att *D. solani* kan ge förvärrade problem med tidig nedvissning och rötter. Utsädesföretag bör inte sätta partier smittade med *D. solani* eftersom den kan sprida sig till andra partier.

Certifikatutsäde av klass A eller B kan vid svensk uppförökning vara upp till sjunde fältgeneration. I Nederländerna är rekommendation från det stora projektet Deltaplan Erwinia (2012) att begränsa utsädesodling till maximalt 4 fältgenerationer samt att de första generationerna sker avgränsat från övrig odling på specialiserade företag, allt för att minska spridningen av sjukdomar.

Fältbesiktning är en viktig åtgärd för att gallra bort sjuka partier. Sommaren 2013 provade Jordbruksverket med två besiktningar. Anders Christenson, Utsädesenheten, tror att Sverige kommer besluta sig för att införa två besiktningar per år, vilket är mycket positivt. I förslag på nya EU utsädesregler föreslås minst två fältinspektioner per år.

Flera forskare har rapporterat om studier som visat på att det finns skillnader i känslighet mellan sorter. Men då det är problem med en specifik sort kan det även bero på att det förekommer latent smitta i många partier av just den sorten och inte att sorten är mer känslig än andra. Ur vårt material kan vi inte dra någon slutsats vad gäller olika sorters mottaglighet för stjälbakterios. Vad vi däremot tydligt sett är skillnaden i angreppsgrad vid olika mängd utsädesmitta. Det var stora problem med stjälbakterios, rötter och lägre skörd, i en sort under några år. Vid analys av utsädeknölar från den aktuella sorten 2011 återfanns *Dickeya solani*, *P. atrosepticum* och *P. wasabie*. I dessa partier kunde vi sedan finna stjälsymptom på flertalet plantor i fält. Samma sort odlades 2012 och 2013 på flera gårdar med utsäde från en annan leverantör och prov tagna inom projektet visade frånvaro av rötbakterier. Den aktuella sorten växte då utmärkt utan angrepp av stjälbakterios eller rötter och skördenivån har steg till den normala. Här var det helt tydligt att det inte var sorten som var känslig utan orsaken var hög halt av latent utsädesmitta.

För god tillgång till kväve förlänger säsongen med större risk för spridning i fält samt sämre upptagningsförhållanden. Frödiga bestånd gör dessutom att stjälbakteriosplantor inte syns lika bra vid fältinspektion. Forskare på det holländska utsädesföretaget, HZPC har observerat att brist på bor och mangan kan vara negativt. Även magnesium och kalcium diskuteras (Dupois, 2013).

Avseende spridning av stjälbakterios går åsikterna isär om kemisk eller mekanisk blastdödning skall användas. I Nederländerna förordas kemisk blastdödning eller att först använda kemisk blastdödning och sedan efter 5 dagar blastkrossa. Då smitta hittas redan vid skörd av första generation är det främst från fält som blastkrossats. I Skottland har antalet partier som har dömts ut eller nedklassats p.g.a. stjälbakterios orsakad av *P. atrosepticum* ökat sedan 2007. Under denna period har svavelsyra slutat användas vid blastdödning samtidigt som det har varit flera blöta säsonger (Toth, 2013). Svavelsyra dödar *P. atrosepticum* vilket t.ex. inte Diquat gör. Enligt de studier som gjorts i Skottland var det inte är någon skillnad mellan kemisk och mekanisk blastdödning. Men det är viktigt att blastkrossa i torrt väder så bakterierna inte sprids med aerosoler (Wale et al, 2013).

Noggrann hygien i alla moment är avgörande. Stjälbakterios sprids med smet från ruttna knölar vid sortering, sätning, skörd. Vid maskinell skörd sker uppförökning och spridning genom utsmetning. Helst skulle ett helt nytt skördesystem behöva uppfinnas där utsmetning av smitta reduceras kraftigt. En stor del av smittan kan undvikas om knölarorna torkar omedelbart. Tvåstegsupptagning med torkning på fält kan minska den latent smittan. Men de bakterier som redan kommit in i knölens lenticeller går inte att få bort genom torkning. Skörden ska helst läggas direkt i lådor. (Deltaplan Erwinia, 2012).

Marksmitta anses av flera inom Euphrescos nätverk inte vara något större problem. Överlevnad i rhizosfär av ogräs undersöks i några forskningsprojekt framförallt i Finland och England men flera frågor kvarstår. *Dickeya solani* kan kolonisera solanaceae ogräsrötter (Toth & Humphries 2012 och Degefu 2013) Vi har konstaterat i detta projekt att överliggare kan bära smitta av *Dickeya solani*. Överliggare, som också kan bära andra potatispatogener, bör alltid bekämpas.

Forskning i Nederländerna visar att biologisk bekämpning ses som en möjlighet i framtiden. *Serratia plymuthica* en endofytisk bakterie isolerad från rötade potatisar har förmåga att hämma *Dickeya* inne i potatisplantan. *S. plymuthica* är patenterad forskning är idag företagshemlighet (van der Wolf et al, 2012)

Slutsatser. Stjälkbakteriosbakterien *Dickeya solani* är ett talande exempel på hur utsädeburna patogener snabbt sprider sig och hur viktigt det är att ha kontroll på vilka bakterier som förekommer. I hela Europa visar de forskare som ingår i nätverket EUPHRESCO på en allt mer utbredd förekomst utom i Skottland där kraftiga åtgärder vidtagits. Importen av utsäde till Sverige är stor och i ökande, hur stor finns ingen officiell statistik på. Genom vårt deltagande i EUPHRESCO har vi fått ta del av att myndigheter, forskare och företag ser stjälkbakterios som ett allvarligt problem, arbetar för att finna ny kunskap samt inför olika åtgärder för att begränsa omfattning. Resultaten från detta projekt tyder på att det finns all anledning att även i Sverige lägga stor vikt vid denna sjukdom. För att den svenska utsädesodlingen ska kunna leverera friskt utsäde är det av yttersta vikt att myndigheter, utsädesföretag och odlare tar del av ny kunskap, gör fler knölanalyser, analyserar rätt bakteriearter och arbetar aktivt för att minska förekomsten av latent smitta av stjälkbakterios i utsäde och uppförkning i odling.

Att döma av sjukdomsläget i Sverige och övriga Europa kommer *Dickeya* sp. bli allt vanligare vilket är allvarligt för svensk produktion. Prognoserna för klimatförändringar med regnrika vårar och höstar och en ökande medeltemperatur talar för denna risk. Både *D. solani* och *Pectobacterium wasabie* är nyintroducerade vanligt förekommande patogener som måste uppmärksammas. Resultaten visar att både knölar och stjälkar ofta innehåller flerartsblandningar. Mer studier behöver göras för att undersöka vad detta innebär för produktionen av potatis. Analys av utsädessmitta är ett viktigt redskap för kontroll av stjälkbakterios, så att smittade partier kan kasseras som utsäde. Kontinuerliga kartläggningar bör göras så att analysen av latent smitta riktas mot de bakterier som förekommer. Sverige bör ha ett nära samarbete med länder i Europa, främst de länder varifrån vi importerar utsäde.

Referenser

- Czajkowski, R., Grabe, GJ. & van der Wolf, J.. 2009. Distribution of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in naturally infected seed potatoes Eur J Plant Path 125, 263-275
- Czajkowski, R., deBoer, W., van Veen & van der Wolf, J. 2010. Downward Vascular Transl. of a Green Fluorescent Protein-Tagged Strain of *Dickeya* sp. (Biovar 3) from Stem and Leaf Inoculation Sites on Potato. Phytopath 100, 1128-1137
- De Boer, S & Ward, L. 1995. PCR detection of *E. car* subsp. *atroseptica* assoc. with Potato Tissue. Phytopath 85, 854-858
- DeBoer. S., Li, X. & Ward, J. 2012. Pectobacterium Associated wuth Bacterial Stem Rot Syndrome of Potato in Canada. Phytopathology 102, 937-947
- Degefu, Y. 2013. Characterization of potato blackleg outbreaks in North Finland. EAPR nov. 2013
- Degefu, Y., Potrykus, M., Golanowska, M., Virtanen, E. & Lojkowska, E. 2013. A new clade of *Dickeya* spp. plays a major role in potato blackleg outbreaks in North Finland. Annals of Applied Biology 162, 231-241.
- DeHaan, E. et al. 2008. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause blackleg in temperate climates. Eur J Plant Path 122, 561-569
- de Werra, P., Presentation vid Euphresco möte i Gent, Belgien 2012 och Jerusalem 2013. Muntl.
- Deltaplan Erwinia. 2012. Deel C-Pootaardappelen. Eindrapport van het onderzoek 2009-2012
- Diallo, S., Latour, X., Groboillot, A., Smadja, B., Copin, P., Orange, N., Feuillot, MGJ, & S. Chevalier. 2009. Simultaneous and selective detection of two major soft rot pathogens of potato: *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) and *Dickeya* spp. (*Erwinia chrysanthemi*). Eur J Plant Path 125, 349-354
- Dupois, B. Presentation vid Euphresco- möte Jerusalem nov.2013 Muntl.
- Elphinstone 2010. Detection and Identification of *Dickeya* Species Using Real Time PCR. Poster EAPR konferens
- Elphinstone, J. 2013. Biology and control of *Dickeya* spp affecting potatoes in the UK. EAPR nov. 2013
- Gardan, L. et al. 2003. Elevation of three sunsp. of *P. carotovorum* to species level. IJSEM 53, 381-391
- Helias, V. et al. 2012. Two new effective semiselective crystal ciolet pectate media for the isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya*. Plant Pathology 61, 339-345

- Laurila, J., Ahola, V., Lehtinen, A., Joutsjoki, T., Hannukkala, A., Rahkonen, A. & Minna Pirhonen. 2008. Characterization of *Dickeya* strains isolated from potato and river water samples in Finland. *Eur J Plant Pathol* 122, 213-225
- Laurila, J., Hannukkala, A., Mykyri, J., Pasanen, M., Helias, V., Garland, L. & Minna Pirhonen. 2010. Symptoms and yield reduction caused by *Dickeya* spp. strains isolated from potato and river water in Finland. *Eur J Plant Pathol* 126, 249-262
- Moleleki, L.N., Onkendi, E.M., Mongae, A. & Kubheka, G.C. 2013. Characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing blackleg and soft rot diseases in South Africa. *Eur J Plant Pathol* 135, 279-288
- Nabhan, S. et al. 2012. The use of two complementary DNA assays... *Plant Pathology* 61, 498
- Ngadze, E., Brady, C.L., Coutinho, T.A., van der Waals, J.E. 2012. Pectinolytic bacteria associated with potato soft rot and blackleg in South Africa. *Eur J Plant Pathol* 134, 533-549
- Palacio-Bielsa, A., Cambra M.A. & Lopez, M.M. Characterisation of potato isolates of *Dickeya chrysanthemi* in Spain by microtiter system for biovar determination. 2006. *Annals of Applied Biology* 148, 157-164
- Pasanen, M., Laurila, J., Brader, G., Palva, E.T., Ahola, V., van der Wolf, J., Hannukkala, A., Pirhonen, M. 2013. Characterisation of *P. c.* subsp. *carotovorum* isolates from diseased potato plants in Finland. *Ann Appl Biol* 163, 403-419
- Persson, P. 1988. Blackleg and stem rot of potatoes in Sweden. *Acta Agriculturae Scandinavica* 38, 177-182.
- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Achouak, W & L Gardan. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* ... *IJSEM* 55, 1415-1427
- Slawiak, M. et al. 2009. Biochemical and genetical analysis ... *Eur J Plant Pathol* 125, 245-261
- Toth, I., van der Wolf, J.M., Saddler, G., Lojkowska, E., Helias, V., Pirhonen, M., Tsrör, L., & J.G. Elphinstone. 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* 60, 385-399
- Toth, I. 2013. 114R475 Routes of *Pectobacterium* Contamination of High Grade Potato Seed. Pågående projekt April 2013 - March 2016 - www.potato.org.
- Tsrör (Lahkim), L. Erlich, O. Leubusch, Hazanovsky, M., Zig, U., Slawiak, M., Grabe, G., Van der Wolf, J., van der Haar. 2009. Assess of recent outbreaks of *Dickeya* sp. slow wilt in potato crops in Israel. *Eur J Plant Pathol* 123, 311-320
- Van der Wolf, J International Plant Research i Wageningen. Muntl.
- Van der Wolf, J.M. et al. 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolate from potato (*Solanum tuberosum*). *IJSEM* 62, 768-774

Resultatförmedling till näringen av Rölin, Å. Persson, P. och Nilsson, A

- Läget i Stjälkbakterios. Inventering av förekomst av *Dickeya solani* i Sverige. Presentation för odlare vid GRO marknadsmöte 20 oktober 2011. Arrangör GRO Potatis.
- Stjälkbakterios (*Dickeya solani*) förekomst och nya rön. Presentation vid potatisdag, 14 december 2011. Arrangör Jordbruksverket och Hushållningssällskapet Skaraborg.
- Ny typ av stjälkbakterios i potatis. Presentation vid Regional växtodlings- och växtskyddskonferens i Uddevalla 13 januari. Arrangör SLU.
- Stjälkbakterios Diskussionsöppnare. Presentation vid PREKT rådgivarträff Hässleholm den 16-17 januari 2012. Arrangör Joakim Ekelöf, SLU/Lyckeby starch
- Stjälkbakterios – vad innebär den ”nya” rasen *Dickeya* för odlingen och hur kan vi hantera den? Presentation vid potatiskurs för odlare 2 februari 2012 Arrangör Lovanggruppen
- Stjälkbakterios-nya bakterier i Sverige. Poster-presentation vid Elmia odla, Jönköping, 17-18 oktober 2012. Arrangör Gro-Potatis och Elmia.
- Nyaste rönen kring *Dickeya* samt praktiska åtgärder för att minska problem stjälkbakterios. Presentation vid kursdag om potatissjukdomar för potatisodlare, 22 januari 2013 Roma, Gotland. Arrangör Hushållningssällskapet Gotland.
- Stjälkbakterios. Presentation vid kursdag om potatis för odlare. 6 februari 2013 Borlänge. Arrangör Länsstyrelsen Dalarna.
- Stjälkbakterios. Presentation vid Potatisdag – Hur ökar vi kvaliteten i vår potatisodling? Kalmar, 5 mars 2014. Arrangör Hushållningssällskapet Utvecklingscentrum. Torslanda, Färjestaden

Publikationer och presentationer vid nationella konferenser och möten

- Rölin, Å. Nilsson, A. 2011 *Dickeya* spp – occurrence in Swedish grown potato tubers. Presentation vid The 3rd Euphresco *Dickeya* meeting in Scotland 7-8 november 2011.
- Rölin, Å. Nilsson A. 2011 “*Dickeya solani*” A new form of blackleg in potato-occurrence and importance in Sweden Nordic Baltic Potato Tuber-Disease Workshop Bioforsk, Hamar, Norge Abstract, Hermansson A, Dees M.
- Rölin, Å. Persson, P, Nilsson, A. 2012. Continued surveys in Sweden. Presentation vid The 3rd Euphresco *Dickeya* meeting i Gent, Belgien, 5-6 november 2012.
- Persson, P, Rölin, Å. 2013. Blackleg situation in Sweden. Presentation vid EAPR Pathology section meeting Jerusalem, Israel. Abstract s 24.
- Persson, P, Rölin, Å. 2013. Bacteria causing blackleg symptoms in Sweden. Presentation vid 1st Euphresco-II *Pectobacterium* meeting 2013. Jerusalem, Israel.

Populärvetenskaplig publikationer

- Rölin, Å. Ekelöf, J. 2011. Stjälkbakterios ett ökande problem i svensk potatisodling. Lyckeby concept-odling, nr 2, p 6-7
- Rölin, Å. 2011. *Dickeya solani* i svensk potatisodling. *Arvensis*, nr 7, p 8
- Rölin, Å. 2014. Stjälkbakterios alltför vanligt i utsäde. *Viola potatis*, nr 1, p 10-13
- Rölin, Å. 2014. Minska problemen med rötter. *Viola potatis*, nr 1, p 14-15