

## Synchytrium endobioticum – utvärdering av metoden för bestämning av olika raser av potatiskräfta

### Bakgrund och frågeställning

*Synchytrium endobioticum* är en jordburen svamp som orsakar potatiskräfta. *S. endobioticum* är obligat biotrof vilket betyder att den endast kan extrahera näring från levande celler. Svampen överlever vintern som vilosporer, s.k. vintersporangier. Dessa sporer har tjocka cellväggar, är väldigt tåliga och kan överleva över 40 år i jorden under gynnsamma förhållanden (Przetakiewicz, 2015). Svampen kommer ursprungligen från Anderna i Sydamerika och upptäcktes i Europa i slutet av 1800-talet (Baayen et al., 2006). Fram till 1940-talet var endast en ras känd (ras 1(D1)) men sedan dess har olika raser upptäckts och numera finns ca 40 olika raser beskrivna i Europa (van de Vossen et al., 2017).

Det finns inga kemiska bekämpningsmedel som är effektiva mot *S. endobioticum* utan enda möjligheten att hantera sjukdomen är att odla potatissorter som är resistenta (Obidiegwu et al. 2014). Olika potatissorter uppvisar olika grader av resistens eller mottaglighet för de olika raserna av potatiskräfta.

Med anledning av de nya fynd av potatiskräfta som nyligen konstaterats i Sverige så har enheten för riskvärdering av växtskadegörare vid SLU fått i uppdrag av Jordbruksverket att, som ett första steg, beskriva metodiken som används för rasbestämning av potatiskräfta som observerats i fält och eventuella aspekter som kan påverka tolkningen av resultaten.

### Metod för rasbestämning

Det finns i dagsläget inga molekylära metoder som kan särskilja alla de olika fysiologiska raserna som finns beskrivna (Busse et al. 2017). Det är endast möjligt att skilja ras 1(D1) från raserna 2(G1), 6(O1) och 18(T1) med hjälp av en DNA baserad metod (Bonants et al. 2015; EPPO, 2017).

Övriga raser kan skiljas åt endast genom att kartlägga deras virulens mot olika potatissorter i s.k. biotest. Den metod som framförallt används för att diagnosticera potatiskräftans olika raser i Europa är den s.k. Glynne - Lemmerzähl metoden (Glynne, 1925; Lemmerzähl, 1930; Noble & Glynne, 1970; EPPO, 2017). Metoden

är snabb, då den baseras på bildningen av svulster vilket sker inom några veckor, men den kräver tillgång till inokulum från svulster som innehåller sommarsporangier.

Standardförfarandet för metoden beskriven enligt EPPO (2017) kan sammanfattas enligt följande:

- Nyproducerade svulster med s.k. sommarsporangier måste användas som inokulum för testet. Om endast gamla svulster och vintersporangier finns eller om provet är litet måste svampen först uppförökas vilket t.ex. kan göras med hjälp av ”Potocek’s tube test” metoden vilken beskrivs i EPPO standarden (PM 7/28 2).
- Tre oberoende test omgångar rekommenderas där resultatet för rasbestämningen är otvetydig.
- För varje test inokuleras minst 10 knoppar / ögon per potatissort antingen som hela eller delar av potatisar.
- De inokulerade knopparna inkuberas under fuktiga förhållanden vid en temperatur på 16-18 °C i 25-30 dagar.
- De resulterande symptomen klassificeras i fem kategorier enligt definierade kriterier (Langerfeld och Stachewicz, 1994; EPPO, 2004; Flath et al., 2014). Beroende på symptomen beskrivs reaktionen från potatissorten i en skala från extremt resistent till extremt mottaglig.
- I EPPO-standardens finns en lista med olika potatissorter med olika grad av mottaglighet för olika raser av *S. endobioticum* (i.e. raserna 1(D1), 2(G1), 6(O1) och 18(T1); EPPO, 2017). Olika raser uppvisar olika infektionsmönster då de inokuleras på dessa potatissorter. För att kunna särskilja fler raser än de som nämns ovan så kan metoden utökas med fler potatissorter.
- Testet anses som godkänt om minst 50% av symptomen uppvisas på mottagliga potatissorter.

Metoden anses vara både effektiv och ha hög tillförlitlighet (Obidiegwu et al. 2014). Men det kan vara svårt att skilja en del av raserna åt (EPPO, 2017). Det gäller exempelvis ras 8(F1) och ras 18(T1) och endast specialiserade laboratorier rekommenderas av EPPO 2017, t ex National Reference Centre i Nederländerna, Julius Kuhn-Institute (JKI) i Tyskland och Laboratory of Quarantine Organisms (IHAR-PIB) i Polen).

Det finns dock en rad faktorer som påverkar tolkningen av resultaten. Olika laboratorier har exempelvis traditionellt använt olika potatissorter för rasbestämningen av potatiskräfta (Baayen et al. 2006). Sedan 2006 finns dock en standardiserad nomenklatur för de olika raserna (Baayen et al. 2006) och sedan 2017 finns en standard för vilka potatissorter som ska användas vid rasbestämningen (EPPO, 2017). EPPO standarden är dock begränsad till identifiering av de vanligaste raserna (1(D1), 2(G1), 6(O1) och 18(T1)). För att

kunna identifiera ytterligare raser så kan testet kompletteras med andra potatissorter.

Något olika protokoll för metoden har också använts i olika laboratorier (Obidiegwu et al. 2014). Förutom skillnader i utförandet av testet, t. ex. användning av hela eller delar av potatisar och skillnader i inkubationstemperatur och inkubationstid, så har även olika typer av symptom använts vid bestämningen av resistens/mottaglighetsklassningen vid laboratoriet i Tyskland (JKI) och Polen (IHAR-PIB)(Flath et al. 2014). Jämförande studier har också visat att klassificeringen av resistensen hos olika potatissorter skilde sig åt mellan dessa laboratorier (Flath et al. 2014). Dock pågår arbete med att harmonisera metoderna för rasbestämning av *S. endobioticum* och 2017 reviderades standarden för diagnostik av de olika raserna.

Bestämningen av vilken fysiologisk ras av *S. endobioticum* som observerats enligt denna typ av biotest har betydelse framförallt för valet av potatissort då odling av resistent sorter är den enda möjligheten att hantera sjukdomen. Det går däremot inte att på basis av detta test bestämma svampens ursprung då rasbestämningen baseras på de fysiologiska egenskaperna, i.e. en viss resistensprofil, och inte direkt ger information om ursprunget till egenskaperna.

## **Innehållet har utarbetats av Enheten för riskvärdering av växtskadegörare Sveriges Lantbruksuniversitet**

Johanna Boberg, Inst. för skoglig mykologi och växtpatologi, SLU. Box 7026, 750 07 Uppsala. Besöksadress: Almas allé 5, E-post: johanna.boberg@slu.se

Niklas Björklund, Inst. för ekologi, SLU. Box 7044, 750 07 Uppsala. Besöksadress, E-post: Niklas.Bjorklund@slu.se

## Referenser

- Baayen RP, Cochius G, Hendriks H, Meffert JP, Bakker J, Bekker M et al. (2006) History of potato wart disease in Europe- a proposal for harmonisation in defining pathotypes. *European Journal of Plant Pathology* 116, 21 –31.
- Bonants PJM, van Gent-Pelzer MPE, van Leeuwen GCM & van der Lee TAJ (2015) A real-time TaqMan PCR assay to discriminate between pathotype 1(D1) and non-pathotype 1(D1) isolates of *Synchytrium endobioticum*. *European Journal of Plant Pathology* 143, 495–506.
- Busse, F., Bartkiewicz, A., Terefe-Ayana, D., Niepold, F., Schleusner, Y., Flath, K., ... & Hofferbert, H. R. (2017). Genomic and transcriptomic resources for marker development in *Synchytrium endobioticum*, an elusive but severe potato pathogen. *Phytopathology*, 107(3), 322-328.
- EPPO (2004). Diagnostic protocols for regulated pests, *Synchytrium endobioticum*. PM 7/28(1). EPPO Bulletin, 34:213-218.
- EPPO (2017). EPPO diagnostics PM 7/28(2) *Synchytrium endobioticum*. EPPO Bulletin, 47, 420-440.
- Flath, K., Przetakiewicz, J., Rijswick, P. C. J., Ristau, V., & Leeuwen, G. C. M. (2014). Interlaboratory tests for resistance to *Synchytrium endobioticum* in potato by the Glynne - Lemmerzhl method. *EPPO Bulletin*, 44(3), 510-517.
- Glynne MD (1925) Infection experiments with wart disease of potato *Synchytrium endobioticum*. *Ann Appl Biol* 12:34–60
- Langerfeld E, Stachewicz H (1994) Assessment of varietal reaction to potato wart (*Synchytrium endobioticum*) in Germany. *EPPO Bulletin* 24:793–798
- Lemmerzhl J (1930) A new simplified method of inoculation of potato cultivars to test for wart resistance. *Züchter* 2:288–297
- Noble M, Glynne MD (1970) wart disease of potatoes. *FAO Plant Prot Bull* 18:125–135
- Obidiegwu, J. E., Flath, K., & Gebhardt, C. (2014). Managing potato wart: a review of present research status and future perspective. *Theoretical and applied genetics*, 127(4), 763-780.
- Przetakiewicz J (2015) The viability of winter sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.from Poland. *American Journal of Potato Research* 92, 704–708.
- van de Vossenberg, B., Westenberg, M., Adams, I., Afanasenko, O., Besheva, A., Boerma, M., ... & Heungens, K. (2018). Eupresco Sendo: An international laboratory comparison study of molecular tests for *Synchytrium endobioticum* detection and identification. *European Journal of Plant Pathology*, 1-10.