

Kartoffel: Das Imperium *Pectobacterium* schlägt zurück

Patrice de Werra¹, Floriane Bussereau¹, Isabelle Kellenberger², Brice Dupuis², Santiago Schaerer² und Andreas Keiser¹

¹Hochschule für Agrar-, Forst- und Lebensmittelwissenschaften HAFL, 3052 Zollikofen, Schweiz

²Agroscope, Institut für Pflanzenwissenschaften IPV, 1260 Nyon, Schweiz

Auskünfte: Andreas Keiser, E-Mail: andreas.keiser@bfh.ch



Abb. 1 | Das Kartoffelfeld (Agria) ist scheinbar gesund.

Einleitung

Die pektionlytischen Bakterien, ursprünglich in der Gattung *Erwinia* sp. eingeteilt, verursachen bei Kartoffeln die Schwarzbeinigkeit, welche durch eine Fäulnis der Stängel charakterisiert wird, und die Knollennassfäule. Diese beiden Krankheiten treten in allen Ländern auf, in denen Kartoffeln angebaut werden und verursachen bedeutende wirtschaftliche Verluste (Toth *et al.* 2011; Czajkowski *et al.* 2011). Die Klassifizierung dieser Bakterien wurde zu Beginn des Jahres 2000 geändert. Seither gehören sie den beiden Gattungen *Pectobacterium* und *Dickeya* an. Bis 2012 wurden in der Schweiz die folgenden Arten am häufigsten von infiziertem Pflanzenmaterial isoliert: *Dickeya solani* und *Dickeya dianthicola*, sowie *Pectobacterium atrosepticum* und *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Dupuis *et al.* 2010). In der Schweiz ist die Schwarzbeinigkeit die wichtigste Ursache für Abweisungen von Pflanzgutposten bei der

Feldkontrolle (Tab. 1). Die finanziellen Verluste betragen rund 2,5 Millionen Franken pro Jahr (H. Gilliard, Agroscope, und M. Müller, swisssem, persönliche Mitteilung).

Die Bakterien blockieren den Wasserfluss

Nach der Infektion der Pflanze über die Wurzeln, die Stolonen oder die Lentizellen der Knollen (Pérombelon und Lowe 1975; Czajkowski *et al.* 2010) können die Bakterien das gesamte vaskuläre System der Pflanze besiedeln (Pérombelon *et al.* 1988). Als Folge der Behinderung des Wasserflusses im Xylem können bei geringer Bodenfeuchtigkeit Welkesymptome an den Blättern auftreten (Pérombelon *et al.* 1988; Laurila *et al.* 2010). Diese Welkesymptome (Abb. 2B) können jedoch nicht als einziges Kriterium zur Bestimmung der Krankheit verwendet werden, da andere Krankheiten (zum Beispiel *Colletotrichum* oder *Verticillium*) und auch gewisse abiotische Stressfaktoren die gleichen Symptome hervorrufen können. Bei hoher relativer Feuchtigkeit können sich die Bakterien im Parenchymgewebe massiv vermehren und pektinolytische Enzyme produzieren, hauptsächlich Pektat-Lyase und Polygalactorunasen (McMillan *et al.* 1993). Diese Enzyme führen in der Folge zu einer Depolymerisierung der Pektine der Zellwände und verursachen eine braune Fäulnis an der Stängelbasis (Abb. 2C und 3A), allgemein Schwarzbeinigkeit genannt (Laurila *et al.* 2010), sowie Nassfäule an den Knollen (Abb. 3B). Die Ausprägung der Symptome ist sehr variabel. Die Identifizierung der Bakterien alleine aufgrund der Symptome im Feld ist deshalb nicht möglich und erfordert eine Analyse im Labor.

Verschiedene Bakterien verursachen die gleiche Krankheit

Von total 718 untersuchten Stängelproben mit Schwarzbeinigkeit in der Schweiz in den Jahren 1986 bis 2010 waren im Mittel 66 % positiv für Bakterien der Gattung *Dickeya* und 34 % für die Gattung *Pectobacterium* (Cazelles und Schwaerzel 1992; Dupuis *et al.* 2010). Im Jahr 2013 wurde eine grosse Anzahl Pflanzenproben mit Schwarzbeinigkeit im ganzen Schweizer Mittelland gesammelt. Die Laboranalysen brachten zum Vorschein,

dass Bakterien der Gattung *Pectobacterium* für einen Grossteil der Fälle verantwortlich war. Die verwendeten Techniken zur serologischen und molekularen Bestimmung der Bakterien (ELISA oder PCR) belegten, dass die Bakterien zwar zur Gattung *Pectobacterium* gehörten, nicht aber zu den bisher in der Schweiz bekannten Arten *Pectobacterium atrosepticum* und *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Zu den Bakterienstämmen welche Schwarzbeinigkeit verursachen gehört die Art *Pectobacterium wasabiae*. Dieser Stamm wurde zum ersten Mal in den achtziger Jahren in Japan auf Meerrettich isoliert (Goto und Matsumoto 1987) und wurde 2001 in den USA zum ersten Mal an Kartoffeln nachgewiesen (Ma et al. 2007), danach 2008 in Neuseeland (Pitman et al. 2008). Mittlerweile findet man dieses Bakterium fast überall, wo Kartoffeln angebaut werden, auch in Europa. Die wissenschaftliche Gemeinschaft, welche diese Bakterien studiert, ist der Ansicht, dass sich *P. wasabiae* nicht von dort ausgebreitet hat, wo es erstmals entdeckt wurde. Es wird vielmehr vermutet, dass es viele Jahre lang mit *P. c.* subsp. *carotovorum* verwechselt wurde (mit den Oligonukleotiden, welche damals benutzt wurden, konnten diese Bakterien mittels PCR nicht differenziert werden). In einer polnischen Studie konnte mittels Sequenzierung und PCR-RFLP an einer kryokonservierten Bakterienkollektion nachgewiesen werden, dass es sich bei Bakterien, die 1997 als *P. c.* subsp. *carotovorum* identifiziert wurden, in Wirklichkeit um *P. wasabiae* handelt (Waleron et al. 2013). Nach Bartz und Kelman (1985) verursacht *P. c.* subsp. *carotovorum* keine oberirdischen Symptome an Kartoffeln. Man sprach deshalb >

Zusammenfassung

Die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln wird durch verschiedene Arten und Unterarten der pektinolytischen Bakterien verursacht. Bis 2012 wurden die meisten in der Schweiz beobachteten Krankheitssymptome durch Arten der Gattung *Dickeya* verursacht. 2013 wurden zwei neue Arten identifiziert, welche für verschiedene Fälle von Schwarzbeinigkeit verantwortlich waren. Dabei handelt es sich um *Pectobacterium wasabiae* und *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. Die erste Art trat bisher schon in Europa auf, weshalb ihre Entdeckung in der Schweiz keine Überraschung darstellt. Die Unterart *P. c.* subsp. *brasiliense* war bis 2013 in Europa noch nicht identifiziert, wurde aber in Isolaten aus den Jahren 1988 und 1999 in der Bakterienkollektion von Agroscope nachträglich nachgewiesen. Sie verursachte 2014 bedeutende Schäden im Feld. *P. c.* subsp. *brasiliense* wurde bei 80 % der im Labor untersuchten Proben als Ursache der Schwarzbeinigkeit bestimmt. Im Weiteren traten in der Saison 2014 atypische Symptome von Schwarzbeinigkeit auf, welche bei Feldkontrollen zu Verwechslungen führen können.

Tab. 1 | Ursachen für die Ablehnung von Kartoffelparzellen während der Feldbesichtigung und entsprechende Flächen (in ha). Daten aus der Schweiz von 2005 bis 2014. (H. Gilliland, Agroscope, persönliche Mitteilung)

	Blattroll- und Mosaik-symptome	Schwarzbeinigkeit	Falscher Mehltau (Krautfäule) des Blattwerkes	Isolationsabstand	Durchwuchs	Verschiedenes
2005	11	48	0	0	0	11
2006	8	39	0	0	0	56
2007	68	85	2	3	1	8
2008	10	31	3	0	0	13
2009	16	13	0	0	0	8
2010	0	72	0	0	0	4
2011	2	21	0	0	0	1
2012	2	39	0	0	0	3
2013	4	11	0	0	0	26
2014	0	16	0	0	0	8
Mittelwert	12,1	37,5	0,5	0,3	0,1	13,8



Abb. 2 | Schadsymptome: gesunde Kartoffelpflanze (A), Bakterielle Welke (B), Schwarzbeinigkeit am Stängel (C) und atypische Symptome (D). Im Kreis, Vergrößerung eines Stängellängsschnitts. Die interne Fäule ist von aussen nicht sichtbar. Man beachte, dass auf diesem Schema aus illustrativen Gründen, alle Blätter befallen sind. Oft werden auch nur ein Blatt (Welke) respektive nur ein Stängel (Schwarzbeinigkeit) befallen.

oft von Stämmen von *P. c. subsp. carotovorum* mit einer atypisch erhöhten Virulenz (O. Cazelles, Agroscope, persönliche Mitteilung).

Eine zweite Unterart, welche Schwarzbeinigkeit verursachen kann, ist *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliense*. Dieser Stamm wurde 2004 zum ersten Mal in Brasilien isoliert und beschrieben (Duarte *et al.* 2004). Seither wurde seine Präsenz in Südafrika (van der Merwe *et al.* 2010) und in Kanada (De Boer *et al.* 2012) nachgewiesen. In Europa wurde das Auftreten kürzlich in den Niederlanden bestätigt (Nunes Leite *et al.* 2014). Genetisch ist dieser Stamm sehr eng mit *P. c. subsp. carotovorum* verwandt, scheint aber viel aggressiver zu sein und befällt auch die Stängel. Bei Kartoffeln kann dieses Bakterium grosse Schäden verursachen (Duarte *et al.* 2004). Es existieren noch einige weitere Arten und Unterarten von *Pectobacterium* (*P. betavasculorum*, *P. cacticidum*, und *P. carotovorum subsp. odoriferum*), welche aber entweder nicht Pathogene der Kartoffel sind oder aber

nicht als problematisch eingestuft werden. Der folgende Artikel stellt die beiden neuen Stämme *P. wasabiae* und *P. c. subsp. brasiliense* vor und beschreibt deren Bedeutung im Jahr 2014.*

Material und Methoden

Die Pflanzen mit Symptomen von Schwarzbeinigkeit (Stängelfäule) wurden unterhalb der Stängelbasis abgeschnitten und ins Labor gebracht. Die Stängel wurden anschliessend mit Wasser gewaschen und mit einem sterilen Skalpell in Stängelrichtung aufgeschnitten. Ein Stängelstück von 4–5 mm in der Übergangszone von infiziert zu gesund wurde in ein steriles Röhrchen mit 1,5 ml Phosphat Buffer (PBS) gegeben. Nach zehninütigem Schütteln, wurde eine Probe gezogen mittels einer sterilen Pipette und in der Sterilbank in eine Petrischale gegossen, welche CVP-Medium enthielt (Crystal Violet Pectate) (Hélias *et al.* 2012). Die anschliessende Inkubation während zwei Tagen bei 28 °C ermöglichte es den Bakterien sich auf dem Milieu zu vermehren und sich vom darin enthaltenen Pektin zu ernähren, was zu typischen Löchern im Medium führt (Abb. 4). Die Kolonien in den Löchern wurden dann auf ein Standard Nährmedium übertragen (King's B oder Nutrient Agar). Die Bestimmung der Bakterienstämme erfolgte danach direkt mittels PCR unter Verwendung einer Portion der Bakterienkolonie und den entsprechenden spezifischen Primern für die oben genannten Bakterienarten (Abb. 5). Anschliessend wurde ein Teil der konstitutiven Gene *acnA*, *gapA*, *icdA*, *mdh*, *mtlD*, *pgi* und *proA* der Stämme



Abb. 3 | Schwarzbeinigkeit: Interne Fäule im Stängel (A) und Nassfäule an der Knolle (B).

*Die Autoren bedanken sich bei der swisssem, der swisspatat, der BIOREBA AG und der Kommission Technologie und Innovation (KTI), welche das Projekt finanziell unterstützt haben.

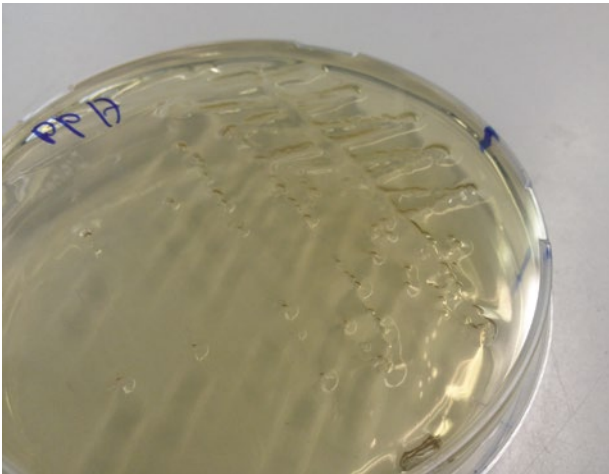


Abb. 4 | Kolonie von *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*, welche auf dem CVP-Medium Löcher verursacht.

sequenziert (GenBank Accession Nos. KM017537-KM017552, KP027692-KP027735, KP404135-KP404148). Diese Sequenzierung ermöglichte einen Vergleich der Profile der Stämme mit denen anderer bekannter und referenzierter Stämme in der Datenbank GenBank und die Etablierung eines phylogenetischen Baumes (Abb. 6) mit Hilfe des Programms MEGA5.

Zur Überprüfung der Pathogenität der beiden neuen Stämme wurde ein Versuch mit künstlicher Infektion in einer Klimakammer durchgeführt (Abb. 7A). Zehn Kartoffelpflänzchen der Sorte Markies in Töpfen wurden durch eine Injektion von 100 µl Bakteriensuspension (10^6 CFU/ml) an der Stängelbasis infiziert (Abb. 7B). Zum Vergleich wurde ein Teil der Pflanzen mit einem Isolat von *Dickeya solani* infiziert. Die Kontrollpflanzen wurden mit 100 µl Wasser inokuliert. Die Pflanzen wurden anschliessend in der Klimakammer bei 25°C und 80% relativer Luftfeuchtigkeit inkubiert und regelmässig bewässert. Nach 20 Tagen wurden die Pflanzen auf Symptome von Fäulnis kontrolliert. Mit dem rein illustrativen Ziel die Entwicklung der Nassfäule zu beobachten wurden Kartoffeltranchen mit den alten Stämmen *P. c. subsp. brasiliense* ACW88/157-2 und 99/39-31-1 inokuliert (Abb. 8).

Resultate und Diskussion

Identifizierung von neuen Bakterienarten

Die Ergebnisse der PCR-Analysen (Abb. 5) und der Sequenzierung (Abb. 6) bestätigen, dass die 2013 und 2014 neu in der Schweiz isolierten Stämme zu einem der oben beschriebenen Arten *Pectobacterium wasabiae* und *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* (de Werra et al. 2015) gehören. Das Auftreten von *P. c. subsp. brasiliense* in der Schweiz im Jahr 2013 war sehr überraschend,

da das Vorkommen dieser Art in Europa noch nicht bestätigt war. Mit der Sequenzierung von gewissen Genen von mehreren Arten verschiedener Herkunft konnte deren Verwandtschaft genauer untersucht und in einem phylogenetischen Baum dargestellt werden (Abb. 6). Daraus ist ersichtlich, dass die Stämme von *P. c. subsp. brasiliense* genetisch sehr nahe mit *P. c. subsp. carotovorum* verwandt sind. Die Schweizer Stämme von *P. c. subsp. brasiliense* sind genetisch näher bei den Stämmen aus den Niederlanden, als bei denjenigen aus Brasilien und Neuseeland. Bei einer systematischen Analyse der Sammlung von Isolaten an der Forschungsanstalt Agroscope Changins konnten Stämme von *P. c. subsp. brasiliense* gefunden werden, die bisher als *Pectobacterium* sp. identifiziert waren. Darunter waren zwei Stämme, die 1988 (Stamm 88/157-2) respektive 1999 (Stamm 99/39-31-1) bei der Sorte Erntestolz isoliert wurden. Gemäss ihrem phylogenetischen Profil sind diese beiden alten Stämme nahe bei den europäischen Stämmen einzuordnen. Nichts lässt hingegen darauf schliessen, dass die aktuell in der Schweiz auftretenden Stämme von diesen alten Stämmen abstammen. *P. wasabiae* scheint zu einem mit *P. atrosepticum* verwandten Ast zu gehören. Der in Japan isolierte Stamm *P. wasabiae* unterscheidet sich auch leicht vom den europäischen Stämmen (Abb. 6). In der Schweiz konnten verschiedene Stämme neu als *P. wasabiae* identifiziert werden, die ursprünglich als *P. c. subsp. carotovorum* (früher *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovorum*) klassiert wurden: Ein Stamm, der 1987 von der Sorte Ostara

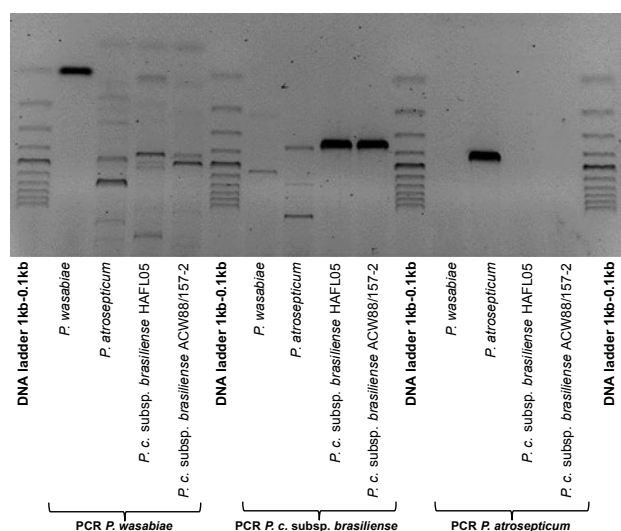


Abb. 5 | Elektrophorese Gel von drei spezifischen PCR für *P. wasabiae* (100 bp), *P. c. subsp. brasiliense* (377 bp) und *P. atrosepticum* (400 bp). Wenn die PCR primer für *P. wasabiae* und *P. c. subsp. brasiliense* keine entsprechende DNA für die Hybridisierung finden, hat es eine nicht spezifische Amplifikation von DNA-Banden von unterschiedlicher Länge.

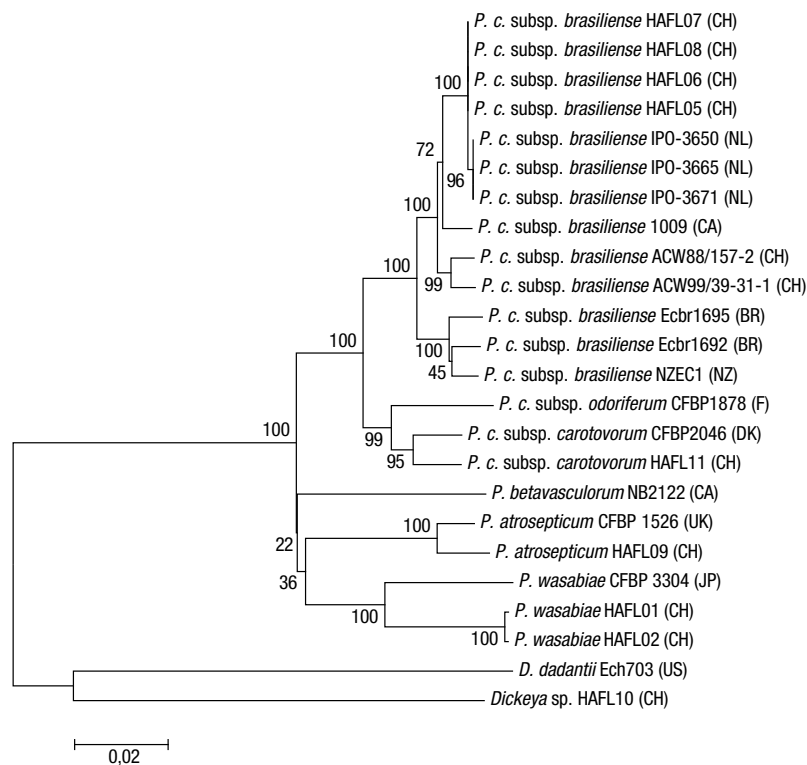


Abb. 6 | Phylogenetischer Baum mit maximaler Verwandtschaft erstellt mit der Methode «neighbor joining» von Teilen der Sequenz von 7 konstitutiven Genen von verschiedenen Stämmen von *Pectobacterium* sp. et *Dickeya* sp. Die Bakterien sind mit ihrem taxonomischen Namen und die Bezeichnung des Stammes bezeichnet. Das Herkunftsland ist in Klammer angegeben. Die Sequenzen der nicht einheimischen Stämme stammen von der Datenbank GenBank. Der optimale Baum mit der Summe der Länge der Äste (=0,5522) wird dargestellt. Der Prozentsatz des Wertes des bootstrap-Tests wird neben jedem Arm angegeben.

(Stamm 87/83) isoliert wurde und der Stamm Ecc99/3 von 1999. Dies bestätigt, dass diese Bakterienstämme schon seit Jahren in der Schweiz präsent sind.

Die Pathogenität dieser Bakterien wurde in der Klimakammer untersucht (Abb. 7A), um die vier Kochpostulate zu erfüllen. Die in der Klimakammer in Töpfen kultivierten Kartoffelpflanzen, welche künstlich mit den verschiedenen Bakterien infiziert wurden, zeigten nach 20 Tagen Fäulnissymptome ausgehend von den Inokulationsstellen (Abb. 7C). An den Kontrollpflanzen, welche mit Wasser inokuliert wurden, entwickelten sich keine Symptome. Die von den Läsionen mit Fäulnis isolierten Bakterien konnten mittels PCR identifiziert werden. Sie entsprachen den inokulierten Bakterienarten. Mit diesem Experiment konnte die Pathogenität der Stämme bestätigt werden. Es konnten keine Unterschiede bei der Aggressivität der verschiedenen Stämme beobachtet werden. Die Inokulation von Kartoffelscheiben mit den alten Stämmen von *P. c. subsp. brasiliense* (Abb. 8) hat gezeigt, dass die Bakterien auch nach vielen Jahren in Kryokonservierung noch immer fähig sind Nassfäule auszulösen.

2014: Ein besonderes Jahr für die Schwarzbeinigkeit

2014 haben die Agroscope und die HAFL in der Schweiz insgesamt 265 Proben von Pflanzen mit Verdacht auf Schwarzbeinigkeit aus Feldern mit Pflanzgutvermehrung untersucht. Bei 178 Proben konnten lebende pektinolytische Bakterien isoliert werden. Bei den übrigen Proben konnten keine lebenden Bakterien isoliert werden, da sie zu trocken, zu stark verfault oder durch pilzliche Pathogene befallen waren. Bei 80 % der 178 durch Schwarzbeinigkeit befallenen Pflanzen wurde *P. c. subsp. brasiliense* gefunden, hingegen traten *Dickeya* sp. und *P. atrosepticum*, normalerweise die dominierenden Stämme, nur bei 7 % der Proben mit Schwarzbeinigkeit in Erscheinung (Abb. 9). Diese Resultate unterscheiden sich massiv von denen der Jahre vor 2013, wo *Dickeya* sp. die häufigste Ursache für die Schwarzbeinigkeit in der Schweiz war (Abb. 9). Eine so abrupte Änderung ist schwierig zu erklären, allerdings wurde ein bedeutender Teil der 2013 erfassten Fälle von Schwarzbeinigkeit durch ein nicht genauer identifiziertes *Pectobacterium* verursacht (Abb. 9). Die im Jahr 2013 verwendete Analyse-methode erlaubte es in der Tat nicht den Stamm *P. c. subsp.*



Abb. 7 | Experiment in der Klimakammer (A), künstliche Infektion der Kartoffelpflänzchen (B) und Fäulnis am Stängel (C).

brasiliense nachzuweisen. Es ist daher möglich, dass die nicht identifizierbaren Stämme zu dieser Unterart gehören. Dieser Stamm wurde auch in den Niederlanden gefunden, war aber 2013 nur für rund 10 % der Fälle von Schwarzbeinigkeits verantwortlich (Nunes Leite *et al.* 2014). Genetisch nahe verwandt mit *P. c. subsp. carotovorum*, ist *P. c. subsp. brasiliense* möglicherweise besser dazu in der Lage in einem breiteren Spektrum von Boden- und Klimabedingungen zu überleben, oder auch auf gewissen Unkräutern oder anderen Kulturen. Eine bessere Vermehrung während der Lagerung, eine raschere Verbreitung im Feld oder auch eine fehlende Konkurrenzierung durch andere Bakterienstämme oder Mikroorganismen könnten möglicherweise die 2014 im Feld beobachteten Schäden erklären. Eine andere Hypothese könnte auch sein, dass *P. c. subsp. brasiliense* durch die sehr feuchten Bedingungen, wie sie 2013 und 2014 auftraten, gefördert worden sein könnten.

Beobachtung von atypischen Symptomen

Im Vergleich zu den Vorjahren waren die in der Saison 2014 beobachteten Symptome (Welkesymptome und Schwarzbeinigkeits) in den meisten Fällen sehr atypisch (Abb. 2D) und unterschieden sich wesentlich von denjenigen der Vorjahre (Abb. 2A-C). Diese atypischen Symptome waren durch abgeschwächte Welkesymptome mit einem nur schwachen Einrollen der Fiederblättchen charakterisiert, während die zusammengesetzten Blätter in der Horizontalen blieben oder sich nur schwach nach

unten neigten. Im Gegensatz dazu hängen die Blätter mit den klassischen Welkesymptomen vollständig schlaff nach unten. Zudem wiesen die Stängel selten eine ausser sichtbare Fäulnis auf, während das Stängelinnere durch die Bakterien ausgehöhlt und verbräunt war. Die interne Stängelfäule erstreckte sich ausserdem nie mehr als einige wenige Zentimeter über die Stängelbasis an der Bodenoberfläche (Vergrößerung Abb. 2D). Die Symptome waren systematisch begleitet durch eine nassfaule Mutterknolle, von der pektinolytische Bakterien isoliert werden konnten. Diese atypischen Symptome ähneln etwas denjenigen, welche *Rhizoctonia solani* verursacht. Eine genauere Beobachtung der Symptome kann jedoch eine Verwechslung ausschliessen, da die typischen braunen, trockenen Nekrosen von *Rhizoctonia solani* fehlen, ebenso wie missförmige Knollen oder Luftknollen. Die beobachteten atypischen Symptome des Jahres 2014 können jedoch nicht mit Sicherheit systematisch *P. c. subsp. brasiliense* zugeordnet werden. Möglicherweise sind diese Symptome auch ein Ergebnis der besonderen Boden- und Witterungsbedingungen. Es ist festzuhalten, dass *P. c. subsp. brasiliense* auch von Pflanzen mit typischen Symptomen, wie sie normalerweise bei *Dickeya sp.* beobachtet werden, isoliert wurde.

Bakterienshift auch in anderen europäischen Ländern

Auf internationalem Niveau wurden ähnliche Beobachtungen in den Niederlanden gemacht, wo *P. c. subsp. brasiliense* für beinahe 60 % der Fälle von Schwarzbeinigkeits im Jahr 2014 verantwortlich war (M. Kooman, NAK (NL), persönliche Mitteilung). Auch in Frankreich trat diese neue Unterart auf, obwohl hier *P. atrosepti-*

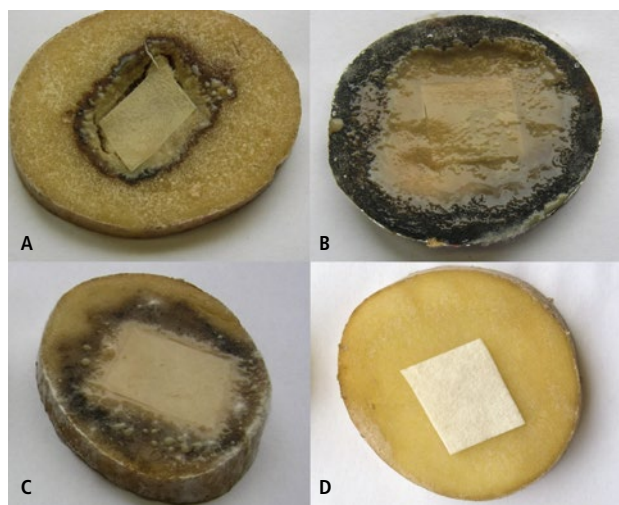


Abb. 8 | Künstliche Infektion auf Kartoffelscheiben mit den folgenden Bakterienstämmen: *P. c. subsp. brasiliense* ACW88/157-2 (A), und 99/39-31-1 (B und C), und Kontrolle mit Wasser (D).

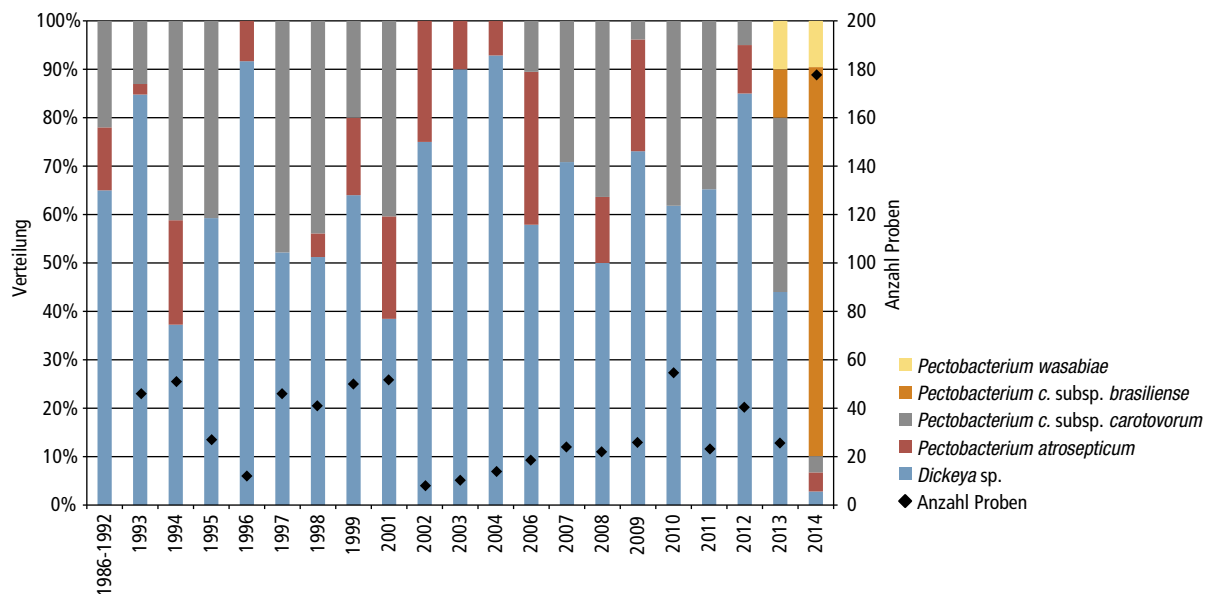


Abb. 9 | Verteilung der Fälle von Schwarzbeinigkeit auf die verschiedenen Stämme von *Pectobacterium* sp. und *Dickeya* sp. von 1993 bis 2014 (die gesammelten Daten zwischen 1986 und 2012 stammen aus Cazelles und Schwaerzel 1992 und Dupuis et al. 2010).

cum immer noch das bedeutendste Bakterium ist, welches Schwarzbeinigkeit verursacht (V. Hélias, INRA (F), persönliche Mitteilung). Unverändert ist die Situation in Schottland, wo *Dickeya* nicht auftritt und *P. atrosepticum* noch immer für 95% der Fälle von Schwarzbeinigkeit verantwortlich ist (G. Saddler, SASA (UK), persönliche Mitteilung).

Trotz diesem überraschenden starken «Shift» der Bakterienpopulation in der Schweiz bleibt der Anteil der Pflanzgutparzellen, welcher aufgrund von Schwarzbeinigkeit abgewiesen wurde, für die Jahre 2013 und 2014 auf einem relativ tiefen Niveau (Tab. 1). In der für das Erscheinen der Schwarzbeinigkeit entscheidenden Phase zu Beginn der Saison waren die klimatischen Bedingungen für die Vermehrung der Bakterien ungünstig (relativ trocken). Dies hat vermutlich die Entwicklung von Symptomen und die Verbreitung der Bakterien im Feld verhindert. Es ist daher zu früh, um die Aggressivität der neuen Bakterienstämme im Feld zu beurteilen. *Dickeya solani* scheint im Vergleich zu *P. wasabiae* die Pflanzen besser kolonisieren zu können. Hingegen überlebt *P. wasabiae* besser auf den Pflanzenresten und wird von diesen nach der Krautvernichtung leichter auf den Boden und von da auf die Knollen übertragen. *P. wasabiae* wäre demnach ein besserer Konkurrent, um eine Umwelt zu besiedeln, verfügt aber gegenüber *Dickeya solani* über eine geringere Aggressivität (Boomsma et al. 2012). Folglich muss der Einfluss all dieser Bakterienstämme auf die Kartoffel in Zukunft genau verfolgt werden.

Schlussfolgerungen

2013 zum ersten Mal in der Schweiz identifiziert, sind *P. wasabiae* und *P. c. subsp. brasiliense* bereits jetzt ein fester Bestandteil der pektinolytischen Bakterien in der Schweiz. Die starke Ausbreitung *P. c. subsp. brasiliense* 2014 ist bezüglich der Epidemiologie bemerkenswert. Mit dem aktuellen Kenntnisstand sind die deutlichen Änderungen der Bakterienpopulationen schwierig zu interpretieren, zu zahlreich sind die Faktoren, welche ihre Vermehrung beeinflussen. Eine Erklärung für diese Veränderungen betrifft die natürlichen Selektionsmechanismen. Seit mehreren Jahren werden in einigen Exportländern die Stämme von *Dickeya* im Pflanzgut ausselektiert. Es ist daher möglich, dass in der Schweiz auf diese Weise das Auftreten von *Dickeya* in den Kartoffeln reduziert wurde und so Platz für andere Bakterien frei wurde (z.B.: *P. c. subsp. brasiliense*), welche durch die aktuell angewandten Analysemethoden noch nicht erfasst werden.

Bestimmung des latenten Befalls als neue Hoffnung

Mangels direkter Bekämpfungsmöglichkeiten ist es wichtig, dass die pektinolytischen Bakterien im Rahmen eines integrierten Bekämpfungskonzeptes identifiziert werden können. Der Nachweis der verschiedenen Stämme als latente Infektion im Importpflanzgut und im einheimischen Vermehrungspflanzgut ermöglicht die Identifikation problematischer Pflanzgutposten vor ihrem Auspflanzen. ■

Riassunto

Patata: l'Impero *Pectobacterium* colpisce ancora

La malattia della gamba nera nelle patate è provocata da differenti specie e sottospecie di batteri pectinolitici. Fino all'anno 2012, le specie appartenenti al genere *Dickeya* erano all'origine dei maggiori sintomi osservati in Svizzera. Due nuove specie sono state identificate come responsabili di numerosi casi di gamba nera in Svizzera durante il 2013. Si tratta del *Pectobacterium wasabiae* e *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. La prima specie era già presente in Europa, la sua scoperta in Svizzera non è dunque una sorpresa. La seconda non era ancora stata identificata in Europa prima del 2013, ma è stata rilevata successivamente in colture isolate degli anni 1988 e 1999 della collezione di batteri di Agroscope. Questa sottospecie *P. c.* subsp. *brasiliense* ha già provocato vari danni sul terreno nel 2014. Quest'ultima è stata identificata nell'80% dei campioni analizzati in laboratorio. Inoltre nella stagione 2014 sono stati osservati dei sintomi atipici della malattia, che potrebbero far aumentare il rischio di confusione nel corso di controlli della coltura.

Literatur

- Bartz J. & Kelman A., 1985. Infiltration of lenticels of potato-tubers by *Erwinia carotovora* pv *carotovora* under hydrostatic pressure in relation to bacterial soft rot. *Plant Disease* **69**, 69–74.
- Boomsma D., Velvis H., Kristelijn K., van Tent Becking T., Kastelein P., van der Zouwen P., Krijger M., Förch M., van der Wolf J., Czajkowski R., Wegierek A., Jafra S., van den Bovenkamp G., de Haan E. & Nunes Leite L., 2012. Eindrapport 2009–2012 *Erwinia Deltaplan C - Pootaardappelen*, 103 pp.
- Cazelles O. & Schwaerzel R., 1992. Enquête sur les bactérioses causées par *Erwinia* dans les cultures de plants de pomme de terre en Suisse. *Revue suisse agriculture* **24** (4), 215–218.
- Czajkowski R., de Boer W. J., Velvis H. & van der Wolf J. M., 2010. Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3. *Phytopathology* **100** (2), 134–142.
- Czajkowski R., Pérombelon M. C. M., van Veen J. A. & van der Wolf J. M., 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathology* **60** (6), 999–1013.
- De Boer S. H., Li X. & Ward L. J., 2012. *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. *Phytopathology* **102** (10), 937–947.
- de Werra P., Bussereau F., Ziegler D. & Keiser A., 2015. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Switzerland. *Plant Disease* **99** (4), 551.
- Duarte V., De Boer S. H., Ward L. & Oliveira A., 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* **96** (3), 535–545.
- Dupuis B., Schaerer S., Gilliland H. & Cazelles O., 2010. The *Dickeya* and *Pectobacterium* situation in Switzerland. *Dickeya* Workshop, Emmeloord, The Netherlands.
- Goto M. & Matsumoto K., 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim.). *International journal of systematic bacteriology* **37** (2), 130–135.
- Hélias V., Hamon P., Huchet E., van der Wolf J. M. & Andrivon D., 2012. Two new effective semiselective crystal violet pectate media for isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Plant Pathology* **61** (2), 339–345.

Summary

Potato: the *Pectobacterium* Empire strikes back

Blackleg disease on potato is caused by several pectinolytic bacterial species and subspecies. Until 2012, most of the blackleg-diseased plants observed in Switzerland were infected with species belonging to the genus *Dickeya*. During 2013, two other species were found to be responsible for several blackleg infections: *Pectobacterium wasabiae* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. The former is well distributed in Europe wherefore its presence in Switzerland was not a surprise. The latter had not been identified in Europe before 2013, but isolates from 1988 and 1999 were found subsequently in the bacterial collection of Agroscope. The strain *P. c.* subsp. *brasiliense* already caused damages in 2014 and was alone responsible for 80% of the blackleg-diseased plants sampled and analysed in the laboratory. Moreover, atypical blackleg symptoms were observed during the growing season 2014, which could lead to disease misidentification during the field controls for certification.

Key words: *Dickeya*, blackleg, soft rot, disease outbreak.

- Laurila J., Hannukkala A., Nykyri J., Pasanen M., Hélias V., Garland L. & Pirhonen M., 2010. Symptoms and yield reduction caused by *Dickeya* spp. strains isolated from potato and river water in Finland. *European Journal of Plant Pathology* **126** (2), 249–262.
- Ma B., Hibbing M. E., Kim H.-S., Reedy R. M., Yedidia I., Breuer J., Breuer J., Glasner J. D., Perna N. T., Kelman A. & Charkowski A. O., 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology* **97** (9), 1150–1163.
- McMillan G., Hedley D., Fyffe L. & Pérombelon M., 1993. Potato resistance to soft-rot *erwinias* is related to cell wall pectin esterification. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **42** (4), 279–289.
- Nunes Leite L., de Haan E., Krijger M., Kastelein P., van der Zouwen P., van den Bovenkamp G., Tebaldi N. & van der Wolf J. M., 2014. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. *New Disease Reports* **29**, 24.
- Pérombelon M. C. M., Lopez M. M., Carbonell J. & Hyman L. J., 1988. Effects of contamination by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* of potato seed tubers and of cultivar resistance on blanking or nonemergence and blackleg development in Valencia, Spain. *Potato Research* **31** (4), 591–599.
- Pérombelon M. C. M. & Lowe R., 1975. Studies on the initiation of bacterial soft rot in potato tubers. *Potato Research* **18** (1), 64–82.
- Pitman A. R., Wright P. J., Galbraith M. D. & Harrow S. A., 2008. Biochemical and genetic diversity of pectolytic enterobacteria causing soft rot disease of potatoes in New Zealand. *Australasian Plant Pathology* **37** (6), 559.
- Toth I. K., van der Wolf J. M., Sadder G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsror Lahkim L. & Elphinstone J. G., 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* **60** (3), 385–399.
- van der Merwe J. J., Coutinho T. A., Korsten L. & van der Waals J. E., 2010. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* **126** (2), 175–185.
- Waleron M., Waleron K. & Lojkowska E., 2013. Occurrence of *Pectobacterium wasabiae* in potato field samples. *European Journal of Plant Pathology* **137** (1), 149–158.