

rostochiensis in small plots and resulting sampling errors. *Nematologica*, im Druck.

STELTER, H. und A. RAEUBER, 1962: Untersuchungen über Methoden der Bodenprobeentnahme zur Feststellung der Verseuchung mit dem Kartoffelnematoden *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.* **69**, 577–586.

STEUDEL, W., R. THIELEMANN und W. HAUFE, 1978: Der Einfluß von

Aldicarb auf die Vermehrung des Rübenzystenälchens (*Heterodera schachtii* Schmidt) und den Ertrag von Zuckerrüben in der Köln-Aachener Bucht. *Nematologica* **24**, 361–375.

STEUDEL, W., R. THIELEMANN und W. HAUFE, 1981: Untersuchungen zur Populationsdynamik des Rübenzystenälchens (*Heterodera schachtii* Schmidt) in der Köln-Aachener Bucht. *Mitteil. Biol. Bundesanstalt*, Heft 199.

Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., **35** (10), S. 155–156, 1983, ISSN 0027-7479.
© Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Außenstelle Kitzberg

Zur Problematik der bakteriellen Ringfäule der Kartoffel (*Corynebacterium sepedonicum* Spieck. et Kotth. Skapt et Burkh.), unter besonderer Berücksichtigung der Diagnose des Erregers

Bacterial ring rot of potato (*Corynebacterium sepedonicum* Spieck. et Kotth. Skapt. et Burkh.), with special reference to the diagnosis of the pathogen

Von W. Zeller

Zusammenfassung

Die bakterielle Ringfäule der Kartoffel (*Corynebacterium sepedonicum*) ist in letzter Zeit vermehrt in der EG festgestellt worden. Um einer Einschleppung der Quarantänekrankheit in die Bundesrepublik Deutschland zu begegnen ist eine gesicherte Diagnose besonders wichtig. Die derzeit in einem Arbeitskreis von Bakteriologen innerhalb der EG erarbeitete Methode zum Nachweis des Erregers wird vorgestellt und bewertet.

Abstract

The bacterial ring rot of potato (*Corynebacterium sepedonicum*) has been more frequently recorded within the EEC in recent years. In order to be able to encounter an import of the quarantine disease into the Federal Republic of Germany, a proved diagnosis is especially important. The method currently being tested by bacteriologists within the EEC to establish the presence of the pathogen is described and evaluated.

Die über 50 Jahre in Deutschland nicht in Erscheinung getretene Ringfäule der Kartoffel (STAPP 1956), die von dem grampositiven Bakterium *Corynebacterium sepedonicum* hervorgerufen wird, hat als Quarantänekrankheit in letzter Zeit wiederum stark an Aktualität gewonnen (ZELLER 1982). Dies liegt insbesondere an folgenden Ursachen:

1. 1979 wurde von italienischen Kollegen der Universität Bologna (MAZZUCCHI et al. 1981) der Erreger an kanadischen Importkartoffeln der Sorte 'Kennebec' nachgewiesen. Als

Folge davon wurde von der EG-Kommission eine Richtlinie zur Bekämpfung der bakteriellen Ringfäule erlassen, die zum 6. Juli 1981 vom BML als Kartoffelringfäule-Verordnung in nationales Recht übernommen wurde (KURTZ 1981).

2. Im Frühjahr 1982 wurden vom Pflanzenschutzamt des Landes Schleswig-Holstein vereinzelt Sendungen von Importkartoffeln aus Dänemark zurückgewiesen, da an diesen Kartoffeln von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Ringfäuleverdacht bestätigt werden konnte. Seit Oktober 1982 wurde daraufhin vom BML eine sechsmoatige Importsperr für sämtliche dänische Kartoffelausfuhren erlassen, die z. Zt. noch in Kraft ist.

Aufgrund der EG-Richtlinie wird den Mitgliedsländern zur Auflage gemacht, systematische Erhebungen von Kartoffelknollen, die in ihrem Gebiet geerntet, gelagert oder in Verkehr gebracht werden, durchzuführen. Da der Nachweis des Erregers erhebliche Schwierigkeiten bereitet – u. a. wird er auf den herkömmlichen Nährmedien wegen seines langsamen Wachstums zumeist von konkurrierenden saprophytischen Bakterien überwachsen – hat sich innerhalb der EG ein Arbeitskreis von Bakteriologen etabliert, der sich auf ein einheitliches Diagnoseverfahren geeinigt hat. Nach einem von diesen Vertretern abgesprochenen Testprogramm wird z. Zt. in jedem Mitgliedsland ein definiertes Stichprobenmaterial untersucht, das nach folgender kurz zusammengefaßter Methodik erfolgt¹⁾:

¹⁾ Die Methode wird demnächst von der EG-Arbeitsgruppe publiziert und daher vorerst nicht im Detail wiedergegeben.

A. Bei typischen Ringfäule-Symptomen

1. Isolation/Identifikation auf Nutrient-Agar mit anschließendem Agglutinationstest mit Antiserum vom Stamm NCPBB 2140 (hergestellt an der Station de Pathologie Végétale et Phytobacteriologie in Angers, Frankreich).

2. Gram-Färbung

B. Bei nicht typischen Symptomen (Latenz)

1. Indirekter Immunofluoreszenztest (IF-Test)

Das Verfahren besteht aus der Antigen-Antikörper-Reaktion mit gleichzeitiger Anlagerung des spezifischen Fluoreszinfarbstoffs (FITC-Konjugat). Der Nachweis erfolgt anschließend im Fluoreszenzmikroskop.

2. Pathogenitätstest

Die Inokulation wird mit dem Pellet von zuvor mazerierten und zentrifugierten Nabelenden der zu prüfenden Kartoffelknollen durch Injektion in Auberginenpflanzen im Zweiblattstadium durchgeführt (Egg-Plant-Test nach LELLIOTT and SELLAR 1976). Die Auswertung erstreckt sich über einen Zeitraum von bis zu 40 Tagen.

Das Nachweisverfahren in seiner vollen Ausführlichkeit wurde im Dezember 1982 den Vertretern der einzelnen Pflanzenschutzdienste am Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland in Kitzberg in einem Kurs vorgestellt.

Bewertung des IF-Tests im Vergleich zum ELISA-Verfahren

Wie bereits zuvor angedeutet, ist vielfach bei der Isolation des Erregers eine klare Trennung des Pathogens von anderen saprophytisch in der Kartoffel vorkommenden Bakterien nicht möglich, da bisher ein spezifisches selektives Nährmedium noch nicht vorhanden ist (DE BOER and COPEMAN 1974). Zur Zeit werden daher zwei serologische Verfahren, der zuvor erwähnte Immunofluoreszenz-Test (IF-Test) und das in der Virologie mit Erfolg eingesetzte ELISA-Verfahren, als geeignete Methoden zum Nachweis des Erregers an aufgearbeitetem Knollenmaterial angesehen (CALZOLARI et al. 1982, DANIEL and JANICKI 1978, DE BOER and COPEMAN 1974).

Der IF-Test zeigt eine besonders hohe Empfindlichkeit. So sind noch bis zu 10^3 fluoreszierende Zellen/ml mit diesem Verfahren nachweisbar. Von Vorteil ist weiterhin, daß pro Versuchsanstellung eine große Anzahl Knollen (200–500 Stück) aufgearbeitet werden können und das Ergebnis in der relativ kurzen Zeit von ca. 2 Tagen vorliegt. Allerdings weist die Methode auch einen Nachteil auf. Dieser beruht darauf, daß die bisher eingesetzten Antiseren gegen *Corynebacterium sepedonicum* nicht spezifisch genug sind, um Reaktionen auch mit anderen in der Knolle vorkommenden Bakterien auszuschließen. Solche Kreuzreaktionen können u. a. mit Stämmen von *Erwinia carotovora*, dem Erreger der bakteriellen Naßfäule der Kartoffel, vor allem aber mit saprophytischen und

nicht pflanzenpathogenen Corynebakterien, Mycobakterien und *Arthrobacter*-Arten erfolgen (CALZOLARI et al. 1982, DANIEL and JANICKI 1978, DE BOER and COPEMAN 1979, SAMSON and POUTIER 1979). Meistens treten diese unspezifischen Reaktionen nur bei sehr niedrigen Konzentrationen des Erregers auf, d. h. nahezu ausschließlich bei latentem Befall. In diesen Fällen wird der zuvor beschriebene Pathogenitätstest an zwei Wochen alten Auberginen-Pflanzen nachgeschaltet.

Das andere serologische Verfahren, der ELISA-Test, das seit einiger Zeit auch kommerziell angeboten wird (ANONYM 1982), ist in der Handhabung einfach und innerhalb eines Tages auswertbar. Die Nachweisgrenze liegt allerdings bei relativ hohen Bakterienkonzentrationen von $> 10^5$ Zellen/ml (ZELLER 1983) und ist damit für den Nachweis von latentem Befall nicht empfindlich genug. Hinzu kommt, daß auch hier saprophytische Bakterien zu Fehlinterpretationen führen können.

Insgesamt gesehen hat sich der IF-Test als das geeignetere Diagnose-Verfahren herausgestellt, so daß sich auch die Expertengruppe innerhalb der EG dafür entschieden hat. Eine Verbesserung des Antiserums zu einer erhöhten Spezifität hin sollte jedoch das Ziel weiterer Untersuchungen sein, um die erwähnten Nachteile noch zu korrigieren.

Literatur

- ANONYM, 1982: Potascreen – A convenient, rapid and reliable method for detecting potato viruses and bacteria (Sutula, C. L. Agdia). *Amer. Pot. Journ.* **59**, 488.
- CALZOLARI, A., C. BAZZI, and U. MAZZUCCHI, 1982: Cross-reactions between *Corynebacterium sepedonicum* and *Arthrobacter polychromogenes* in immunofluorescence staining. *Potato Res.* **25**, 239–246.
- DANIEL, T. M., and B. W. JANICKI, 1978: Mycobacterial antigens: a review of their isolation, chemistry and immunological properties. *Microbiol. Rev.* **42**, 84–113.
- DE BOER, S. H., and R. J. COPEMAN, 1974: Endophytic bacterial flora in *Solanum tuberosum* and its significance in bacterial ring rot diagnosis. *Can. J. Plant Sci.* **54**, 115–122.
- DE BOER, S. H., and R. J. COPEMAN, 1979: Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigens. *Phytopathology* **69**, 316–319.
- KURTZ, L., 1981: „Zwei neue Verordnungen im Kartoffelbau“. *AID Information* **30**, 21.
- LELIOTT, R. A., and P. W. SELLAR, 1976: The detection of latent ring rot (*Corynebacterium sepedonicum* Speck. et Koth. Skapt. et Beurkh.) in potato stocks. *Bull. Eur. Plant Protection Orgn.* **6**, 101–106.
- MAZZUCCHI, U., C. BAZZI, and P. MAINOLFI, 1981: Infezioni latenti di *Corynebacterium sepedonicum* in patate da semina importate dal Canada nel periodo 1978–79. *Informatore Fitopatol.* **5**, 3–9.
- SAMSON, R., and F. POUTIER, 1979: Comparaison de trois méthodes d'identification de *Corynebacterium sepedonicum* dans les tubercules de pomme de terre. *Potato Res.* **22**, 133–147.
- STAPP, C., 1956: Bakterielle Krankheiten, Bakteriosen einschließlich Streptomykosen. *Handbuch Pflanzenkrankh.* Bd. 2, 391–406.
- ZELLER, W., 1982: Die bakterielle Ringfäule, eine gefährliche Quarantänekrankheit der Kartoffel. *Der Kartoffelbau* **33**, 372–373.
- ZELLER, W., 1983: (unveröffentlicht).