

Friederike Chilla^{1,*}, Hana Tlapák^{1,*}, Anna Pucher¹, Kerstin Flath¹, Matthias Becker², Hendrik Hanekamp³

Diagnose Kartoffelkrebs – Dauersporangien von *Synchytrium endobioticum* sicher erkennen und beurteilen

Diagnosing potato wart disease – reliable identification and assessment of resting spores of *Synchytrium endobioticum*

Affiliationen

*haben zu gleichen Teilen beigetragen

¹Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Kleinmachnow.

²Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit, Braunschweig.

³Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Hannover.

Kontaktanschrift

Dr. Friederike Chilla, Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow, E-Mail: friederike.chilla@julius-kuehn.de

Zusammenfassung

Die Dauersporangien des Kartoffelkrebserregers, *Synchytrium endobioticum*, stellen aufgrund ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischer Behandlungen eine besondere Gefährdung in Form von Langzeitkontamination von Resterden und Ackerflächen dar. Sie weisen ein breites Spektrum an Erscheinungsformen mit spezifischen Charakteristika auf und sind deshalb eine besondere Herausforderung bei der sicheren Diagnose von Kartoffelkrebs. Neben der Bewertung als *Synchytrium endobioticum* stellt die Beurteilung der Vitalität des einzelnen Sporangiums auf Basis mikroskopischer Untersuchungen eine Herausforderung dar. Die Referenzbildsammlung soll eine Entscheidungshilfe und Schulungsmaterial für die Diagnoselabore bieten. Exemplarisch werden Sporangienbilder verschiedener Kategorien bewertet und Besonderheiten hervorgehoben. Die Referenzbildsammlung ist auf der Homepage des Nationalen Referenzlaboratoriums des Julius Kühn-Instituts für registrierte Nutzer abrufbar.

Stichwörter

Kartoffelkrebs, *Synchytrium endobioticum*, Dauersporangien, Referenzbildsammlung

Abstract

Due to their resistance to chemical treatments, the resting spores of *Synchytrium endobioticum* the causal agent of potato wart disease pose a particular threat in the form of long-term contamination of residual soil and arable land. They show a wide spectrum of characteristic morphological phenotypes and are therefore a particular challenge in the reliable diagnosis of potato wart. In addition to addressing them as *Synchytrium endobioticum*, assessing the viability of the resting spore based on microscopic examination is challenging. The reference image collection is intended to provide decision support and training material for diagnostic laboratories. Exemplary images of resting spores/sporangium of different categories are evaluated and special characteristics are

highlighted. The reference image collection is available on the homepage of the National Reference Laboratory of the Julius Kühn Institute for registered users.

Keywords

Potato wart disease, *Synchytrium endobioticum*, resting spores, reference image collection

Einleitung

Eine der bedeutendsten Erkrankungen im Kartoffelanbau ist der Kartoffelkrebs, welcher durch den obligat biotrophen, bodenbürtigen Pilz *Synchytrium endobioticum* verursacht wird. Eine Infektion mit *S. endobioticum* führt zu vermehrten Zellteilungen in Sprossapikalmeristemen, aus denen tumorartige Strukturen resultieren. Eine chemische Bekämpfung dieser Erkrankung ist nicht möglich (Ballvora et al., 2011), weshalb größte Vorsicht beim Umgang mit kontaminierten Pflanzen und Böden geboten ist. Weil der Pilz erhebliche Schäden verursachen kann und in Europa nicht endemisch ist, wird *S. endobioticum* als Quarantäneschadorganismus eingestuft. Damit einhergehend sind das Auftreten und die damit verbundenen rechtlichen Auswirkungen durch die europäische „Durchführungsverordnung mit Maßnahmen zur Tilgung und zur Verhinderung der Ausbreitung von *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival“ geregelt (European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety, 2022). Weil der Pilz robuste Dauerstadien produziert, stellt ein Befall mit Kartoffelkrebs eine Langzeitkontamination von Flächen dar (Ballvora et al., 2011). Um Anbauflächen für den Kartoffelanbau erhalten zu können, ist eine sichere Diagnose des Kartoffelkrebserregers essentiell.

Eine Besonderheit dieses Schaderregers ist die Ausbildung sehr widerstandsfähiger Dauersporangien, welche unter geeigneten Bedingungen Jahrzehnte im Boden überdauern und Infektionen hervorrufen können (Sharma & Cammack, 1976; Przetakiewicz, 2015). Die sichere Identifikation von Dauersporangien von *S. endobioticum* ist daher ein wichtiger Aspekt in der Feststellung von Kartoffelkrebs. Einige definierte

Kriterien, die eine Identifikation von Dauersporangien erlauben, sind die Größe von 25 µm bis 75 µm, die rundlich-ovale Form, die gold-braune Farbe, eine unregelmäßig verdickte Zellwand und Grate/Furchen an der Außenseite der Sporangien (European and Mediterranean Plant Protection Organisation, 2017). Das Erscheinungsbild von Dauersporangien kann allerdings sehr divers sein, was eine eindeutige Diagnose erschweren kann. Die Referenzbildsammlung soll die Diagnoselabore darin unterstützen nach einheitlichen Kriterien auf Basis des aktuellen Standes der Wissenschaft Untersuchungen durchzuführen. Die Referenzbildsammlung wurde im Rahmen des Projekts „Entwicklung innovativer Nachweisverfahren für den Kartoffelkrebs als Grundlage für die nachhaltige Sicherung der Kartoffelproduktion in Deutschland“ (INNOKA) erstellt. Die Förderung des Vorhabens erfolgt (bzw. erfolgte) aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt (bzw. erfolgte) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung. Die Referenzbildsammlung wird allen Diagnoselaboren der Pflanzenschutzdienste zur Verfügung gestellt und soll als Schulungsmaterial und Entscheidungshilfe bei der Beurteilung von Dauersporangien dienen. Sie ist gemeinsam mit einem zusammenfassenden Poster auf der Internetseite des Nationalen Referenzlabors des Julius Kühn-Instituts für registrierte Nutzer abrufbar (Chilla et al., 2022).

Aufbau und Inhalt der Referenzbildsammlung

Die Referenzbildsammlung ist in die Abschnitte Einleitung, lichtmikroskopische Aufnahmen und Auswertung von Analyseproben gegliedert.

In der Einleitung werden zunächst die morphologischen Merkmale der Dauersporangien beschrieben und Kriterien für deren Bewertung dargestellt. Einige Kriterien wie Größe, Farbe und Struktur der Sporangienhülle müssen für eine positive Bewertung zwingend erfüllt sein, während bei anderen Kriterien aufgrund der Diversität der Sporangien Abweichungen möglich sind. Die beschriebenen Merkmale werden mit Hilfe von lichtmikroskopischen Aufnahmen und Bildern der konfokalen Laser Scanning-Mikroskopie (CLSM) dargestellt (Abb. 1).

Die Beurteilung der Vitalität von Dauersporangien ist besonders anspruchsvoll, gleichzeitig aber essentieller Bestandteil der Diagnose. Aus diesem Grund werden die Eigenschaften, nach denen unbehandelte Dauersporangien als vital bewertet werden, sorgfältig dargestellt. Es wird auch auf gekeimte Dauersporangien eingegangen, die ein besonders vitales Stadium darstellen.

Der Hauptteil der Referenzbildsammlung besteht aus einer Vielzahl lichtmikroskopischer Aufnahmen diverser Dauersporangien, die in verschiedene Kategorien (typische (vi-

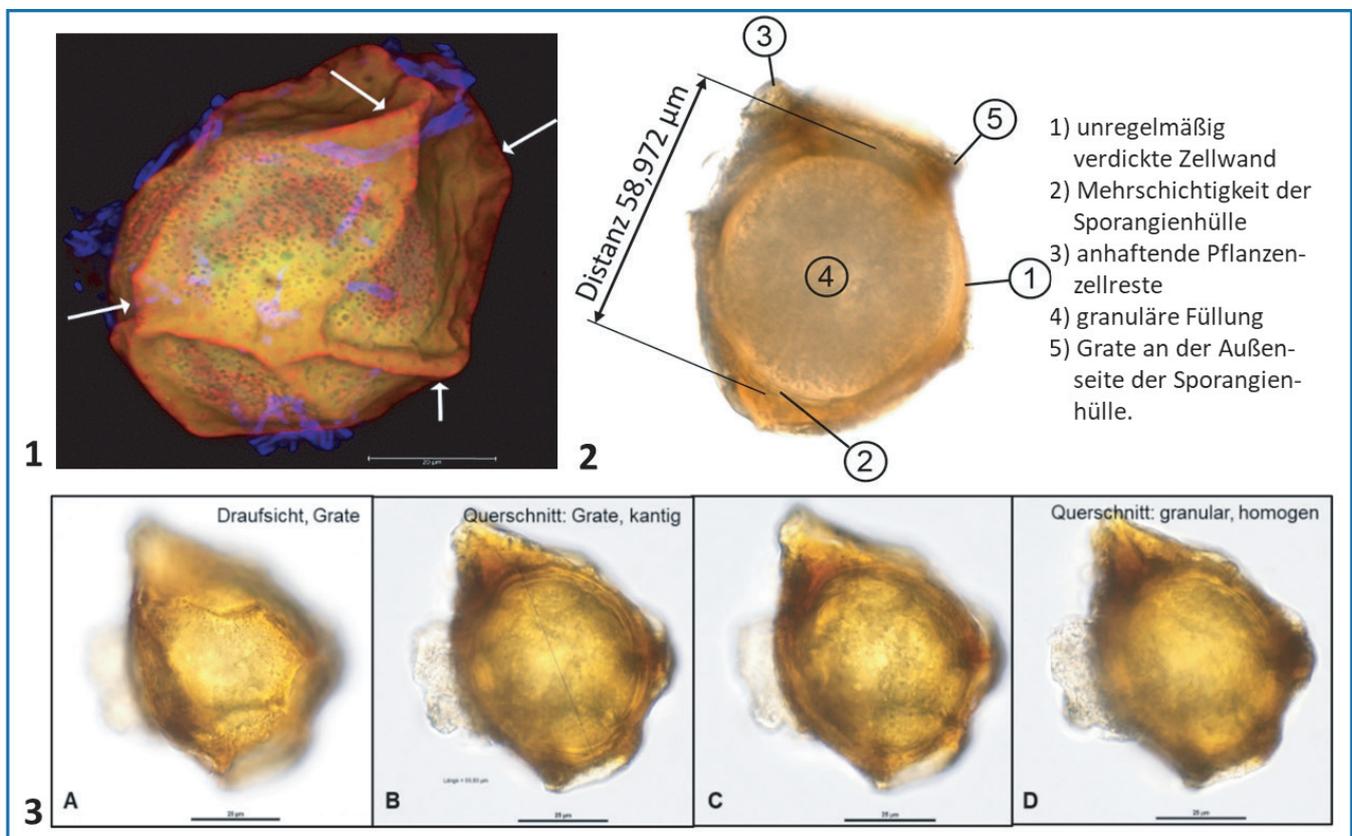


Abb. 1. Mikroskopie von Dauersporangien. (1) Aufnahme eines Dauersporangiums im CLSM zur Veranschaulichung von Graten (Pfeile) an der Sporangienaußenseite. (2) Die wichtigsten morphologischen Kriterien zur Identifikation von *S. endobioticum*. (3) Dauersporangium in verschiedenen Fokusebenen. A. Aufsicht mit Darstellung der Grate. B/C. Querschnitt mit Graten (als Kanten sichtbar). D. Querschnitt mit Sicht auf granulär, homogene Füllung des Sporangiums.

tale), leere, teilentleerte, untypische und keimende Dauersporangien sowie Sporangien im Verbund) unterteilt wurden (Abb. 2).

Neben jedem Bild sind die in der Einleitung beschriebenen Merkmale zur Bestimmung von *S. endobioticum* aufgeführt und jene abgehakt, die auf das gezeigte Bild zutreffen. Zudem sind die Herkunft des Dauersporangiums (Kompost oder Felderde) und Besonderheiten aufgeführt, sowie eine abschließende Beurteilung, ob es sich um *S. endobioticum* handelt. Die Einstufung der Lebensfähigkeit ist entweder übergreifend

für die gesamte Kategorie oder für das einzelne Sporangium angegeben.

An die umfassende Bildsammlung schließt sich der Abschnitt zur Auswertung von Analyseproben an, in dem ein Muster eines Formblatts für die Bewertung von Proben oder einzelnen Sporangien enthalten ist. In diesem Formblatt sind alle morphologischen Merkmale, die für die Beurteilung notwendig sind, aufgeführt und Zutreffendes kann angekreuzt werden. Das Musterformblatt kann von den Diagnoselaboren an die individuellen Bedürfnisse angepasst werden.

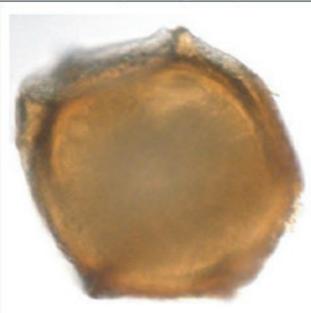
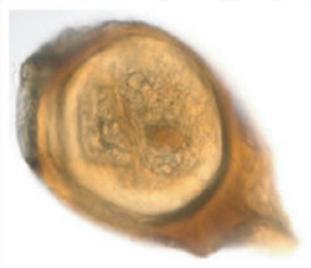
Nr.	Sporangienbild	Sporangienbeschaffenheit	Besonderheiten	S. e.
Typische Dauersporangien (lebensfähig)				
1		<input checked="" type="checkbox"/> Größenbereich: 61,23 µm <input checked="" type="checkbox"/> goldbraune Färbung <input checked="" type="checkbox"/> rundlich/ oval <input checked="" type="checkbox"/> ungleichmäßig verdickte Zellwand <input checked="" type="checkbox"/> Mehrschichtigkeit der Sporangienhülle <input checked="" type="checkbox"/> Grate/ Furchen <input checked="" type="checkbox"/> gräuliche Füllung ≥ 2/3 <input checked="" type="checkbox"/> homogene granuläre Füllung → Sporangium aus Kompost	- Grate an Außenseite des Sporangiums gut sichtbar	ja
Dauersporangien im Verbund				
12		<input checked="" type="checkbox"/> Größenbereich: 57,57 µm <input checked="" type="checkbox"/> goldbraune Färbung <input checked="" type="checkbox"/> rundlich, oval <input checked="" type="checkbox"/> ungleichmäßige verdickte Zellwand <input checked="" type="checkbox"/> Mehrschichtigkeit der Sporangienhülle <input checked="" type="checkbox"/> Grate/ Furchen <input checked="" type="checkbox"/> gräuliche Füllung ≥ 2/3 <input type="checkbox"/> homogene granuläre Füllung → Sporangium aus Felderde	→ lebensfähig	ja
Teilentleerte Dauersporangien (fragliche Lebensfähigkeit)				
27		<input checked="" type="checkbox"/> Größenbereich: 53,90 µm <input checked="" type="checkbox"/> goldbraune Färbung <input checked="" type="checkbox"/> rundlich, oval <input checked="" type="checkbox"/> ungleichmäßige verdickte Zellwand <input checked="" type="checkbox"/> Mehrschichtigkeit der Sporangienhülle <input checked="" type="checkbox"/> Grate/ Furchen <input type="checkbox"/> gräuliche Füllung ≥ 2/3 <input type="checkbox"/> homogene granuläre Füllung → Sporangium aus Kompost	→ nicht lebensfähig	ja

Abb. 2. Exemplarischer Auszug verschiedener Kategorien aus der Referenzbildsammlung. Dargestellt werden die zutreffenden morphologischen Merkmale und Besonderheiten mit Einschätzung der Vitalität.

Ausblick

Das Julius Kühn-Institut ist in Kooperation mit verschiedenen Hochschulen und Züchtern im Rahmen mehrerer Forschungsprojekte in hohem Maß an der Aufklärung des Keimungsprozesses und den unterschiedlichen Entwicklungsstadien von Sporangien, besonders mit Hinblick auf die Änderungen der Sporangienfüllung interessiert. Diese aktuellen Forschungsergebnisse werden fortlaufend in die Referenzbildsammlung integriert, um ein möglichst umfassendes Bild von der Beschaffenheit von Dauersporangien nach neustem Stand der Forschung zeichnen zu können.

Danksagung

Besonderer Dank gilt Yvonne Ratzlaff, Sascha Henke, Heike Rudolph, Jessica Schunke, Kelly Coutinho Szinovatz (alle Julius Kühn-Institut), Meike Legeit, Marion Mumber, Antje Löhmann (alle Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt) und Dr. Peter Büttner (Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft) für die Bereitstellung von Sporangienbildern sowie die kritische Durchsicht der Referenzbildsammlung.

Erklärung zu Interessenskonflikten

Die Autoren/die Autorinnen erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur

Ballvora, A., K. Flath, J. Luebeck, J. Strahwald, E. Tacke, H.R. Hofferbert, C. Gebhardt, 2011: Multiple alleles for resistance and susceptibility modulate the defense response in the interaction of tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) with *Synchytrium endobioticum* pathotypes 1, 2, 6 and 18. *Theoretical and Applied Genetics*; TAG **123** (8), 1281–1292.

Chilla, F., H. Tlapák, A. Pucher, K. Flath, M. Becker, H. Hanekamp, 2022: Beurteilung von Dauersporangien des Kartoffelkrebserregers *Synchytrium endobioticum*. Poster, OpenAgrar-Repository, DOI: 10.5073/20221110-131659.

European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO), 2017: PM 7/28 (2) *Synchytrium endobioticum*. EPPO Bulletin **47** (3), 420–440, DOI: 10.1111/epp.12441.

European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety, 2022: Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1195 of July 2022 establishing measures to eradicate and prevent the spread of *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival.

Przetakiewicz, J., 2015: The Viability of Winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. from Poland. *American Journal of Potato Research* **92** (6), 704–708, DOI: 10.1007/s12230-015-9480-6.

Sharma, R., R. Cammack, 1976: Spore germination and taxonomy of *Synchytrium endobioticum* and *S. succisae*. *Transactions of the British Mycological Society* **66** (1), 137–147.