Infektionsforsøg med isolater af kartoffelskurv

Streptomyces scabies (THAXTER) WAKSMAN & HENRICI

Af H. MYGIND

I	Indledning	684
II	Isolation og rendyrkning	685
III	Nogle særegenskaber hos de rendyrkede isolater	687
IV	Infektionsforsøg i drivhus	689
	A. Fremgangsmåde	690
	B. Påvisning af forskelle i virulens	693
	C. Forsøg med 3 udvalgte, særlig virulente stammer	696
V	Ompodning og opbevaring af renkulturerne	700
VI	Sammendrag	700
VII	Summary	701
VIII	Litteratur	701

I. Indledning

Med den udprægede evne til at danne varianter eller racer tilpasset ydre kår – noget der kendetegner mange organismer med stor opformeringsevne – er kartoffelskurven som actinomycet og jordboende plantepatogen en kartoffelsygdom, der byder på vanskeligheder i flere henseender.

Ved resistensforædling af nye sorter, som er en af udvejene, søger man at opnå modstandsdygtighed overfor kartoffelskurv *(Streptomyces scabies)*. Til dette formål er det nødvendigt at råde over ikke alene isolater af *S. scabies,* men det er også af betydning, at der arbejdes med et udvalg, som kan repræsentere et udsnit af virulente smitteracer for derved så vidt muligt at undgå ubehagelige overraskelser. Der er imidlertid grund til at formode, at hvis en sort er relativ resistent over for smitteracer, der f.eks. angriber Bintje meget stærkt, da vil denne egenskab af relativ uimodtagelighed sandsynligvis gælde over for andre smitteracer, i hvert fald inden for mindre landområder med kartoffeldyrkning (21).

I efteråret 1957 blev der med konsulenters og forsøgsstationers hjælp foretaget en indsamling af knoldprøver fra et halvt hundrede forskellige lokaliteter, hvor man jævnligt avlede skurvede kartofler med det formål at fremstille en del isolater af *S. scabies,* og foretage nogle undersøgelser og infektionsforsøg med disse, samt opnå en samling af stamkulturer til forsyning af kortoffelforædlingsstationer med smittemateriale.

II. Isolation og rendyrkning

Slægten *Streptomyces* danner både et vegetativt mycelium og et luftmycelium, men kun sidstnævnte producerer konidier i kæder; konidiesporernes størrelse bliver maksimalt ca. $1 \times 1{,}5 \mu$.

Da hyfernes diameter er af størrelsesorden som bakteriers, giver de sig oftest ikke umiddelbart til kende i skurvsår. Rendyrkning af organismen fra skurvsår på kartoffelknolde har hidtil været noget besværlig; men LAWRENCE (1957) har anvist en særdeles effektiv metode (19), som blev foretrukket til nærværende isolationsarbejde og skal derfor i korthed beskrives i en kende modificeret form.

Knolde fra en prøve skurvede kartofler vaskes tre gange med sæbe, derefter skylning; der afskæres 2,5 g sårmateriale, som dels skæres i småstykker, dels knuses i en morter under tilsætning af 50 ml dest. vand; materialet sis gennem et lille stykke gaze, og en dråbe af opslemningen overføres til 10 ml af en fenolopløsning med fortyndingsgraden 1:140; påvirkning i 10 min., hvorefter 1-2 dråber overføres til ca. 12 ml smeltet Czapek's agar (43-45°) i rørglas, som rystes let, og agaren hældes i ikke for kolde petriskåle. Sidstnævnte dråber kan også overføres direkte til petriskål, agar hældes på, og der blandes grundigt op med sporeopslemningen på sædvanlig vis; inkubation ved 25-27° i 6-7 dage.

Der opnås en selektiv udvælgelse af actinomyceter, i dette tilfælde næsten udelukkende *S. scabies,* med en effektiv eliminering af forureninger.

Kolonier af *S. scabies* vokser relativt langsomt, men når de er en uges tid gamle, har de nået en diameter på 3–4 mm, og de er lette at skelne fra andre actinomyceter eller bakteriekolonier.

Ved at betragte isolaterne, var der meget, der tydede på, at de enkelte kolonier udviklede sig på noget forskellig vis, som ikke kunne skyldes udviklingsstadier alene, da forløbet var forskelligt. Der kunne konstateres 4–5 voksemåder eller vækstlyper, som til stadighed forekom under den første vegetative udvikling, hvor der kunne dannes agarmycelium.

Agarmyceliets måde at udvikle sig på hos de enkelte kolonier kunne opdeles i følgende vækstlyper (se i øvrigt tabel 1):

Type I: overflade åbner sig med klapper
Type II: kruset overflade
Type III: glat, svagt hvælvet overflade
Type IV: hvælvet overflade med tunget rand
Type V: hvælvet overflade med et ×

Fig. 1. Kolonier af *Streptomyces scabies* opnået efter spredning af en mycel-sporeopslemning. (Foto F.H.)

Gentagne undersøgelser måtte bekræfte formodningen om, at der var tale om vækstlyper, som kan have relation til stammer eller racer inden for *S. scabies*. Disse forskelle kunne kun observeres på enkeltkolonier, inden der under den videre udvikling fremkom luftmycelium.

Dannelse af luftmycelium og den efterfølgende sporulering sker i løbet af 8-14 dage, efter at kolonierne har nået en vis modenhed, der kan indtræffe på et betydelig tidligere tidspunkt. Er kolonierne talrige og koncentrerede, hæmmer de hinandens vækst, hvorved den vegetative udvikling standses på et stadium, der synes afhængig af kolonitætheden. Er der kun ganske få kolonier i en petriskål, kan der gå betydelig længere tid, før der dannes luftmycelium og sporer.

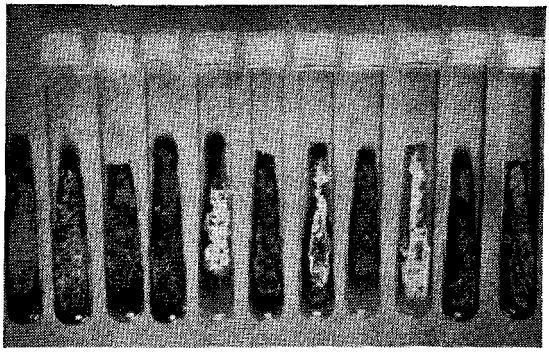

Fig. 2. Forskellig evne til at danne luftmycelium hos isolater af *S. scabies* podet på tyrosin-holdigt substrat. (Foto F.H.)

III. Nogle særegenskaber hos de rendyrkede isolater

En podning of isolaterne fra de fremstillede renkulturer over på et substrat tilsat tyrosin vil bevirke, at de plantepatogene arter producerer farvestoffet melanin, den såkaldte tyrosinasereaktion; kun ganske få saprofytiske actinomyceter besidder denne evne. En lignende farvestofreaktion i substratet fremkommer i øvrigt ved tilstedeværelsen af andre aminosyrer samt peptoner, proteiner, kartoffelsaft eller kartoffelafkog.

Vokser *S. scabies* på ren Czapek agar, der altså ikke indeholder ovennævnte organiske stoffer, farves agaren oftest slet ikke. Der viste sig dog fem undtagelsestilfælde, hvoraf to isolater (35c og 41c) farvede agaren mørk-rødbrun, tre andre (41a, 41b og 44c) gav en lysere rødbrun farve, åbenbart en særegenskab hos disse to stammer.

Skurvisolaterne havde alle en positiv tyrosinasereaktion varierende noget i intensitet, hvilket kunne tyde på forskelle mellem racer.

Evnen til at danne luftmycelium og sporer var tydelig forskellig. Podes der på Czapek eller modificeret Czapek agar (sidstnævnte + kartoffelafkog og gærekstrakt), kunne man efter 8-14 dages forløb iagttage forskellige grader: fra intet luftmycelium til kraftig belægning; isolaterne farvede agaren mørk med undtagelse af numrene 39a og 39b, hos hvilke agaren forblev ufarvet.

Tabel 1. Bedømmelse af vækstegenskaber hos 19 isolater af *Streptomyces scabies* samt deres oprindelse

Knold-prøve	Avlsted	Jordtype	Rt	Skurvtype og kartoffel-sort	Isolat nr.	Vækst-type på Czapek agar	Kar. 0–5 for konstant mycel- og spore-dannelse
4	Farslev Sj.	sandmuld	5.9	alm. og dyb, Bintje	4a	Type I	5
9	Lyngerup Sj.	sandmuld	6.0	alm. og pukkelskurv, Bintje	9a	Type I	4.5
10	Studsgård	let sandmuld	6.0	alm., stærk, Up to date	10a	Type I	4.5
11	Studsgård	let sandmuld	6.0	pukkelskurv, Dianella	11a	Type I	2
14	Dalby Sj.	sort muldjord	7.2	alm., lidt, Bintje	14b	Type II	4
22	Allingåbro	sandmuld	6.5	alm. og dyb, Bintje	22a	Type IV	4
29	Bistrup, Sj. (Saunte)	let lermuld	6.8	alm. og ret dyb, Bintje	29b	Type II	5
33	Sdr. Omne	let sandmuld	5.7	alm., men ret dyb, Bintje	33b	Type IV	5
35	Arvad, Jyll.	let sandmuld	6.5	alm., Bintje	35b	Type IV	5
36	Lindknud, Jyll.	sortsandet	5.5	alm. og dyb, Bintje	36a	Type I	5
37	Sdr. Omne	let sandmuld	5.7	alm., Bintje	37b	Type II	4
38	Stanghede	sandmuld	6.2	alm., Bintje	38b	Type V	udgik i 1959
39	Sdr. Kirkeby (Falster)	let sandmuld	7.9	pukkelskurv, og dyb	39b	Type II	4
40	Vandel	lerbl. sandmuld	6.2	alm., Bintje	40b	Type III	3
41	Filskov	sandmuld	6.3	alm., Alma	41c	Type II	5
42	Hovborg	sandmuld	6.6	alm. og dyb, Bintje	42b	Type III	5
43	Hejnsvig	mosejord	5.8	alm. og dyb, Bintje	43a	Type IV	4.5
44	Nollund (Grindsted)	sandmuld	6.2	alm., Bintje	44a	Type II	4
45	Grindsted	sandmuld	6.5	alm., stærk, Katahdin	45c	Type II	4

Luftmyceliet er til at begynde med hvidt; under sporedannelsen bliver det gråt, varierende noget i nuance fra lysegråt til mørkere gråt.

Den varierende evne til at danne luftmycelium og sporer synes at være konstant for flertallet af isolaternes vedkommende. En bedømmelse af den producerede mængde luftmycelium og sporer er foretaget på grundlag af 4 gentagne ompodninger på Czapek agar med gærekstrakt og kartoffelafkog. Der blev givet karakter 0–5 for konstante egenskaber med hensyn til mycel- og sporedannelse:

konstante	kar. 5
ret konstante	kar. 4
noget uens	kar. 3
uens	kar. 2
meget uens	kar. 1

Af 36 undersøgte isolater var 84,4 pct. »konstante« + »ret konstante«, resten omfattedes af grupperne »noget uens« + »uens«.

Endvidere blev 18 isolater, udtaget blandt førnævnte 36, podet i alt 4 gange på ren Czapek agar og bedømt. 77,8 pct. var »konstante« + »ret konstante«; resten »noget uens« + »uens« (se tabel 1).

IV. Infektionsforsøg i drivhus

Angreb af kartoffelskurv kan give sig udslag i forskellige sårtyper. Skurvangrebets styrke varierer fra sort til sort, og på knoldene af en enkelt sort kan der forekomme forskellige sårtyper; almindelig skurv, dyb skurv, ophøjet- eller pukkelskurv og overfladiske angreb. Der har hersket divergerende opfattelser om årsagen til disse forskelle; det synes dog fastslået, at forskellene er sortsbestemt, kårbestemt og forårsaget af fysiologisk forskellige smitteracer, som dels har tilpasset sig efter de givne kår, dels varierer med hensyn til virulens (1, 12 og 34). Hoffmann fandt, at der ved undersøgelsen af *S. scabies* fra et større antal geografisk forskellige herkomster kun var fysiologiske forskelle og varierende virulens.

Blandt 55 skurvede knoldprøver (de fleste af sorten Bintje) indsamlet til Statens plantepatologiske Forsøg og af forskellig herkomst (herunder også jordtype og Rt) var der ingen synderlig

forskel på skurvtypen, men forskelle i angrebsgrad. Kun på 3 knoldprøver fandtes typen »pukkelskurv«, på en af disse prøver som eneste type på Dianella, i de andre tilfælde sammen med almindelig dyb skurv. På de resterende 52 prøver fandtes almindelig skurv med varierende angrebsgrad, hvor alvorlige angreb var ensbetydende med dyb skurv.

De i det følgende beskrevne infektionsforsøg kunne bekræfte, at der kun kunne noteres forskelle i angrebsgrad, hvilket havde relation til de enkelte skurvisolaters virulens.

A. FREMGANGSMÅDE

Skurvisolaters patogene egenskaber vil kunne fremgå af infektionsforsøg. Disse kan udføres på forskellig måde og med forskelligt voksemedium til kartoffelplanterne (12 og 23).

I et orienterende forsøg prøvedes en metode, tidligere praktiseret af LAWRENCE (1956), og som gik ud på at anvende små kartoffelknolde, som er afpillet en skurvmodtagelig sort i knolddannelsesperioden, før knoldene har nået fuld udvikling.

Der anvendtes til et forsøg små knolde taget fra Bintje-planter dyrket i potter i drivhus; heraf afpilledes et hold små knolde med stoloner (knolddannende udløbere) og et andet hold uden. Disse knolde anbragtes i kubusglas med 10 stk. pr. forsøgsled respektive isolat. I det ene hold sattes stolonerne ned i et lille glas med næringsopløsning, fastlimet på bunden af kubusglasset, og knoldene lå på fugtigt filtrerpapir; i det andet hold glas lå de afpillede knolde ligeledes på filtrerpapir (førstnævnte fremgangsmåde blev ikke anvendt af Lawrence). I hvert glas pensledes knoldene med spore- og mycelopslemning fra 9 af føromtalte isolater *af S. scabies* (unge kulturer). Der lagdes glaslåg på, og knoldene stilledes til inkubation i thermostater ved 28° C i en uges tid. Der sørgedes til stadighed for tilstrækkelig fugtighed i glassene ved sprøjtning med sterilt vand.

Der kunne kun opnås små skurvinfektioner i lenticellerne og noget varierende i antal. Skurvangrebene blev ikke kraftige nok til at måle forskelle i angrebsgrad. Lawrence havde anvendt sorten »Green Mountain«; men Bintje, som er anvendt til alle infektionsforsøgene på Statens plantepatologiske Forsøg, har vist sig overordentlig modtagelig.

En mere hensigtmæssig fremgangsmåde er infektionsforsøg udført med kartoffelplanter, der vokser i sterilt substrat i potter under glas, hvor voksemediet er neutralt og podet med en sporemycelopslemning fra et hold rendyrkede skurvisolater. Som voksemedium har f.eks. Vermiculite været anvendt af andre, men det menes at have tilbøjelighed til at blive slimet. I nærværende forsøg viste det sig, at »Perlite« var et til formålet særdeles velegnet materiale. Det er et mineral (væsentligst aluminiumsilikat) af vulkansk oprindelse, hvis volumen under ophedning har udvidet sig til det 10-15 dobbelte og dannet et granuleret, porøst materiale med vandholdende evne.

Et orienterende infektionsforsøg (forsøg 1, 1958) blev sat i gang i drivhus i maj med nogle af de i tabel 2 angivne isolater af *S. scabies*. Formålet var at indarbejde en passende metode, der eventuelt også kunne anvendes i resistensforædlingsarbejdet med nye kartoffelsorter.

Forsøg forberedes ved at pode et antal skråstivede rørglas (Czapek-agar) med de isolater, der skal prøves. Er der brug for større mængder, kan opformering f.eks. foretages i Roux-flasker. Efter 2-3 ugers forløb er kulturerne tjenlige; mycelium og sporer afrives, hvilket foregår ved først at påfylde lidt dest. vand og tilsætte en dråbe spredemiddel »Tween 80«, dernæst afrives al luftmycel- og sporebelægning med et dertil egnet instrument (f.eks. et stykke tråd med en fladbanket, vinkelbøjet ende). I de tilfælde, hvor der ikke er produceret ret meget luftmycelium, afrives så meget som muligt af det bruskagtige agar-mycelium. Glassene rystes, og spredemidlet vil medvirke til, at sporene adskilles.

Til infektionsforsøg anvendes helst nye, flamberede potter, hvor 18 cm størrelsen er passende til een plante; i bunden lægges et flamberet eller sprittet stykke glas, hvorpå der fyldes halvt op med Perlite. Det har vist sig, at et glas pr. potte giver en passende mængde smittemateriale.

Førnævnte mycel-sporeopslemning til ét forsøgsled hældes i en portion let fugtet Perlite og blandes op heri. Dette smittemateriale fordeles derpå ligeligt i antallet af potter pr. forsøgsled, i dette tilfælde 6 potter; der fyldes ca. ¾ op med Perlite. Hver pottes indhold blandes godt, og endelig lægges en afsvampet, forspiret knold af Bintje midt i Perlite-massen med kronenden opad; og endelig

fyldes potten passende op. Der bruges renvaskede og desinficerede remedier til hvert hold smittemateriale.

Efter fremspiringen vandes der med en alsidig næringsopløsning, i begyndelsen én gang, senere to gange ugentlig. Der bruges vandværksvand, da eventuelle forureninger er at vente udefra i form af uundgåeligt jordstøv (derfor af og til enkelte svagtangrebne knolde i kontrolpotterne).

Dersom man sætter et forsøg i gang i marts, kan der nås to forsøg i én sæson. Det er en fordel at kunne supplere med kunstigt lys, men ikke nogen betingelse. Det andet hold planter må ikke holdes for fugtigt af hensyn til faren for angreb af kartoffelskimmel.

Når planterne begynder at visne, afskæres toppen, og skurvangrebene kan bedømmes. Knoldangrebene sorteres efter Statens plantepatologiske Forsøg's skala i 6 klasser (0-5), og på grundlag af procent angrebne knolde i hver klasse beregnes et *skurvtal*, der er et udtryk for hele knoldprøvens procentiske overflade angrebet af skurv; bedømmes samtidig angrebets karakter, fås endeligt et udtryk for det pågældende skurvisolats virulens.

Tabel 2. Orienterende infektionsforsøg med 9 isolater af *S. scabies* forsøg 1, 1958

Isolat nr. (a+b+c)	Sortering efter skurvangreb: procent knolde i klasserne						Antal høstede knolde i alt	Skurvtal	Type skurvsår
	0	1	2	3	4	5			
4	13.04	52.17	30.43	4.35	0.0	0.0	23	4.2	alm.
9	0.0	24.24	21.21	33.33	15.15	6.06	33	17.0	alm. dyb
29	0.0	7.69	11.54	34.62	42.31	3.85	26	23.9	alm. dyb
33	0.0	19.23	30.77	30.77	19.23	0.0	26	14.1	alm.
35	0.0	0.0	0.0	10.87	21.74	67.39	46	59.8	alm.
39	7.41	40.74	22.22	18.52	11.11	0.0	27	9.4	alm.
40	5.41	13.51	27.03	40.54	8.11	5.41	37	15.3	alm. dyb
41	0.0	42.11	36.84	15.79	5.26	0.0	38	8.0	alm.
45	0.0	19.05	33.33	19.05	19.05	9.52	42	19.6	alm.
kontrol	47.62	52.38	0.0	0.0	0.0	0.0	42	1.3	(meget små sår, vanskelig at bedømme)

I førnævnte orienterende forsøg med renkulturer af *S. scabies* fra 9 knoldprøver bestående af 3 enkeltisolater fra hver prøve (a+b+c), fremgår det af skurvtallene i næstsidste kolonne, tabel 2, at der er en betydelig forskel i virulens. (Knoldene høstedes i begyndelsen af september).

Et skurvtal på 15 svarer til et relativt kraftigt angreb. Isolaterne 29, 35 og 45 viste sig særlig virulente.

B. PÅVISNING AF FORSKELLE I VIRULENS

I juli 1958 prøvedes 19 udvalgte *enkelt*-isolater i et infektionsforsøg 2 udført som forud beskrevet. Der beregnedes 5 potter pr. forsøgsled.

Grundet på meget fugtigt vejr og dermed høj luftfugtighedsgrad

Tabel 3. Forskelle i virulens hos 19 isolater af *S. scabies*, forsøg 2, 1958

Isolat nr.	Sortering efter skurvangreb, procent knolde i klasserne						Antal høstede knolde i alt	Skurvtal	Type skurvsår
	0	1	2	3	4	5			
4c	9.52	16.67	23.81	23.81	23.81	2.38	42	15.9	alm.
9a	7.14	0.0	21.43	42.86	17.86	10.71	28	22.3	dyb
10a	6.06	33.33	12.12	39.39	9.09	0.0	33	10.8	dyb
11a	3.85	26.92	19.23	26.92	19.23	3.85	26	15.8	alm., dyb
14b	0.0	8.57	20.00	54.29	17.14	0	35	15.9	alm.
22a	13.16	18.42	13.16	26.32	26.32	2.63	38	16.6	alm., ret dyb
29b	0.0	6.45	38.71	29.03	19.35	6.45	31	19.0	alm., dyb
33b	63.64	22.73	9.09	4.55	0.0	0.0	22	1.9	meget små sår
35b	0.0	4.17	4.17	41.67	41.67	8.33	24	27.5	alm., dyb
36a	0.0	0.0	21.43	39.29	35.71	3.57	28	22.7	alm., dyb
37b	0.0	0.0	16.67	44.44	38.89	0.0	18	21.5	alm.
38b	4.88	21.95	24.39	41.46	7.32	0.0	41	11.2	alm.
39c	0.0	8.33	8.33	29.17	50.00	4.17	24	25.3	alm.
40b	17.14	31.43	25.71	22.86	0.0	2.86	35	8.3	alm.
41c	2.94	64.71	20.59	11.76	0.0	0.0	34	4.9	alm.
42b	0.0	18.75	31.25	31.25	18.75	0.0	16	14.1	alm.
43a	17.95	33.33	20.51	20.51	7.69	0.0	39	8.1	alm.
44a	0.0	9.09	33.33	36.36	21.21	0.0	33	15.6	alm., dyb
45c	3.45	24.14	13.79	34.48	17.24	6.9	29	18.0	alm.
kontrol	32.26	35.48	29.03	3.23	0.0	0.0	31	3.5	meget små pletter i lenticeller

samt snævre pladsforhold blev planterne angrebet af kartoffelskimmel, som måtte holdes nede ved gentagne sprøjtninger først med et Zinebmiddel, derpå med et kobberoxykloridpræparat. De ældre planter i forsøg 1 i et tilstødende rum blev ikke angrebet.

Knoldstørrelsen blev som følge af skimmelangrebet noget mindre end ønsket, hvilket dog ikke influerede synderligt på forskellene mellem skurvangrebene. Disses karakter fremgår af fotografierne af nogle knoldprøver fra forsøget, se fig. 3.

En måling af Rt i Perliten efter forsøgets afslutning viste et pH niveau på 7,8 i kontrolpotterne og gennemsnitlig det samme i de øvrige potter. Resultaterne af dette forsøg fremgår af tabel 3.

Fra knoldmaterialet opnået i forsøg 2 blev der foretaget en reisolation (med undtagelse af nr. 35 b og 41 c, der gav for svage angreb). Isolaterne blev podet over på tyrosinholdigt agar; under-

Tabel 4. Forskelle i virulens hos 18 isolater af *S. scabies*, forsøg 3, 1959

Isolat nr.	Sortering efter skurvangreb, procent knolde i klasserne						Antal høstede knolde i alt	Skurvtal	Type skurvsår
	0	1	2	3	4	5			
4a	0.0	0.0	2.63	5.26	23.68	68.42	38	60.6	± dyb
9a	0.0	0.0	2.86	5.71	34.29	57.14	35	55.9	ret dyb
10a	0.0	0.0	0.0	2.44	14.63	82.93	41	67.7	± dyb
11a	0.0	0.0	9.68	6.45	45.16	38.71	31	46.5	± dyb
14b	0.0	0.0	2.33	11.63	20.93	65.12	43	58.1	dyb
22a	0.0	0.0	0.0	7.50	17.50	75.00	40	63.5	± dyb
29b	0.0	0.0	3.23	32.26	45.16	19.35	31	35.4	alm.
33b	89.29	10.71	0.0	0.0	0.0	0.0	28	0.3	overfladiske pletter
35b	0.0	0.0	2.86	0.0	5.71	91.43	35	70.8	± dyb
36a	0.0	0.0	0.0	0.0	20.59	79.41	34	66.8	alm.
37b	0.0	0.0	0.0	37.50	62.50	0.0	24	27.5	± dyb
39c	0.0	0.0	3.45	24.14	68.97	3.45	29	30.6	± dyb
40b	0.0	0.0	3.03	0.0	27.27	69.70	33	62.1	± dyb
41c	0.0	0.0	7.14	78.57	14.29	0.0	28	17.3	overfladisk skurv
42b	0.0	0.0	0.0	6.98	9.30	83.72	43	67.1	± dyb
43a	0.0	0.0	0.0	0.0	31.11	68.89	45	62.6	± dyb
44a	3.70	18.52	14.81	48.15	14.81	0.0	27	14.0	± dyb, spredte sår
45c	0.0	0.0	0.0	2.50	42.50	55.00	40	56.5	± dyb
kontrol	16.00	24.00	40.00	16.00	4.00	0.0	25	7.4	spredte sår

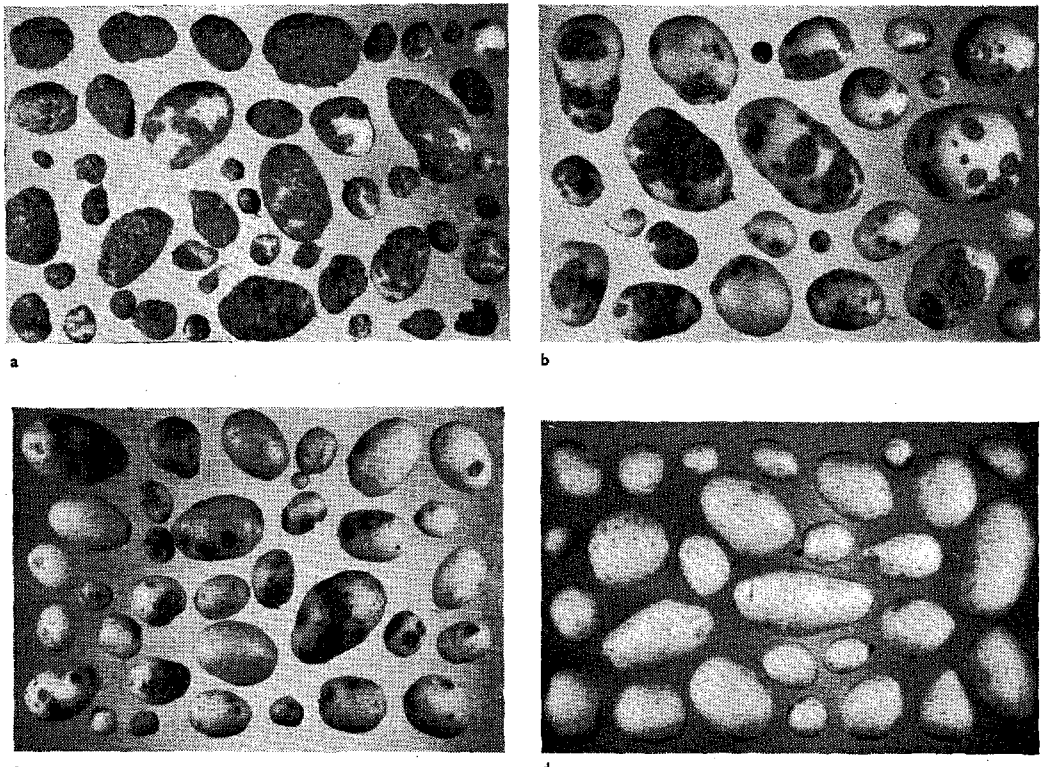

Fig. 3. Knoldprøver (Bintje) fra infektionsforsøg: a) stærkt skurvangrebne knolde forårsaget af et *S. scabies* isolat med kraftig virulens; b) do. middelkraftig v.; c) noget svagere v.; d) knolde fra ren »Perlite«, kontrol. (Foto F.H.)

søgelser viste, at de forholdt sig i det store og hele som ophavsmaterialet.

Dette forsøg blev gentaget i april 1959 med de samme isolater med undtagelse af 4 c og 38 b, der måtte udgå på grund af ringe vækst; i stedet for 4 c indgik 4 a, som oprindelig stammede fra samme knoldprøve.

Som det fremgår af resultaterne fra dette forsøg 3 opnåedes overordentlig stærke angreb, alvorligere end de sædvanligvis vil forekomme i marken (se fig. 3). Når angrebene var langt kraftigere i dette forsøg end i 1958, skyldtes det formentlig en bedre plantevækst, da der ingen skimmelangreb forekom. Den samlede knoldprøves vægt fra 5 potter blev gennemsnitlig kun ca. 450 g, hvilket er noget mindre, end hvad der kan opnås, men de stærkt angrebne knolde havde tabt ret meget i vægt, inden sorteringen blev foretaget (se tabel 3 og 4).

C. FORSØG MED 3 UDVALGTE, SÆRLIG VIRULENTE STAMMER

På grundlag af resultaterne fra føromtalte infektionsforsøg blev der udvalgt 3 særlig virulente isolater, af hvilke der fandtes 3 enkeltisolater. Det var hensigten at undersøge, hvorvidt tre enkeltisolater (inokuleret samlet), der stammede fra en og samme knoldprøve, ville give stærkere angreb, end de enkelte isolater hver for sig; et spørgsmål, der så vidt vides ikke tidligere har været belyst. Forsøget udførtes i 1959 og blev gentaget i 1960 (forsøg 4 og 5). Til forsøgets ene afsnit beregnedes 5 rørglas med renkulturer af isolaterne 29a, 29b og 29c; 35a, 35b og 35c samt 45a, 45b og 45c anvendt hver for sig og med 5 potter pr. forsøgsled. Til forsøgets andet afsnit reserveredes 2 glas af samme isolater, disse blandedes sammen, altså a+b+c hvert nummer for sig og omfattende 6 potter pr. forsøgsled; forsøget sattes i gang den 17. april.

Dyrkningen af kartoffelplanter i potter foregik på sædvanlig vis; men omkring 1. juli noteredes, at enkelte planter havde bladrullesygelignende symptomer, især nr. 45a og b samt 35 a+b+c og 45 a+b+c. 14 dage senere viste det sig imidlertid, at symptomerne var af næsten ensartet styrke for alle 5 og 6 potters ved-

a b

Fig. 4. a) Plante fra infektionsforsøg med særlig virulente isolater af *S. scabies*; b) plante, der har vokset i ren »Perlite« (et tilsvarende farvefotografi viste forskellen tydeligere). (Foto F.H.)

kommende inokuleret med samme isolat. En undersøgelse af skurvangrebet på knoldene bekræftede formodningen om, at det var meget stærke skurvangreb, der var årsag til symptomer på nedvisning, begyndende med rulning af bladene, visne bladrande og topskudsymptomer, der ikke sås på kontrolplanterne; lægge-materialet var i øvrigt sygdomskontrolleret. Den 23. juli var nedvisningen så langt fremskredent, at knoldene kunne høstes, og en sortering af skurvangrebene blev foretaget, som tidligere beskrevet.

Forsøget blev gentaget i 1960 fra den 28. april til den 18. august, men dette år kunne der ikke iagttages nedvisningssymptomer på toppen før ved normal modning af alle planterne.

Resultaterne af disse to forsøg fremgår af tabellerne 5 og 6. I oversigtstabel 7 viser tallene en sammenligning af de gennemsnitlige skurvtal i forsøgsleddene a, b og c, i forhold til a+b+c, og heraf fremgår det, at der i 1959 kun var stærkere angreb i forsøgsleddet 35 a+b+c i forhold til de tilsvarende enkeltisolater af nr. 35. I 1960 er der derimod betydelig stærkere skurvangreb i alle leddene a+b+c i forhold til enkeltisolaterne. Årsagen til, at de relativt svagere skurvangreb i 1960 fremkaldte en udtalt forskel i angrebsstyrke mellem grupperne a, b, c og a+b+c kan søges i, at enkeltisolaterne gav så voldsomme angreb i 1959, at de ikke kunne blive væsentlig stærkere. I 1960 synes isolaternes virulensniveau at være lavere, hvorfor der kunne opnås et forstærket angreb, når de optrådte i fællesskab.

Når skurvtallet 41,5 i 29 a+b+c blev svagere end i 29 a, b, c, 1959, må det bero på en tilfældig svigtende, ukendt faktor.

Tabel 5. Infektionsforsøg 4 i 1959 med særlig virulente stammer af *S. scabies*

Isolat nr.	Sortering efter skurvangreb, procent knolde i klasserne						Antal høstede knolde	Skurvtal	Type skurvsår
	0	1	2	3	4	5			
29a	0.0	0.0	2.94	5.88	20.59	70.59	34	61.3	ret dyb
29b	0.0	0.0	0.0	7.41	40.74	51.85	27	54.3	alm.
29c	0.0	3.70	0.0	33.33	37.04	25.92	27	37.5	± dyb
35a	0.0	0.0	0.0	0.0	39.29	60.71	28	59.3	± dyb
35b	0.0	0.0	0.0	2.78	16.67	80.56	36	66.7	± dyb
35c	0.0	0.0	0.0	6.90	34.48	58.62	29	57.1	dyb
45a	0.0	0.0	0.0	7.41	11.11	81.48	27	66.1	dyb
45b	0.0	0.0	0.0	0.0	17.86	82.14	28	67.9	± dyb
45c	0.0	0.0	0.0	0.0	28.57	71.43	35	63.6	± dyb
29 a+b+c	0.0	0.0	2.56	15.38	56.41	25.64	39	41.5	± dyb
35 a+b+c	0.0	0.0	0.0	0.0	20.51	79.49	39	66.8	ret dyb
45 a+b+c	0.0	0.0	0.0	3.03	18.18	78.79	33	65.9	ret dyb
kontrol	68.0	20.0	12.0	0.0	0.0	0.0	25	1.4	enkelte pletter

Tabel 6. Infektionsforsøg 5 i 1960 (gentagelse af forsøget i 1959)

Isolat nr.	Sortering efter skurvangreb, procent knolde i klasserne						Antal høstede knolde	Skurvtal	Type skurvsår
	0	1	2	3	4	5			
29a	2.27	0.0	9.09	45.45	40.91	2.27	44	23.52	meget dyb
29b	0.0	0.0	0.0	23.68	42.11	34.21	38	43.95	ret dyb
29c	0.0	8.11	21.62	35.14	35.14	0.0	37	19.40	ret dyb
35a	0.0	0.0	0.0	10.87	50.00	39.13	46	48.48	ret dyb
35b	0.0	0.0	3.13	21.88	46.88	28.13	32	41.02	ret dyb
35c	0.0	30.30	42.42	27.27	0.0	0.0	33	8.03	tidligt angreb standset
45a	0.0	6.98	4.65	37.21	51.16	0.0	43	24.01	meget dyb
45b	0.0	0.0	0.0	11.11	58.33	30.56	36	45.00	dyb
45c	0.0	2.50	7.50	37.50	40.00	12.50	40	29.63	alm.
29 a+b+c	0.0	0.0	0.0	8.33	43.75	47.92	48	52.50	ret dyb
35 a+b+c	0.0	0.0	1.89	3.77	49.06	45.28	53	51.84	ret dyb
45 a+b+c	0.0	0.0	4.65	23.26	48.84	23.26	43	38.38	ret dyb

McKEE (1958) fandt nøje overensstemmelse mellem resultaterne af infektionsforsøg med nye kartoffelsorter i drivhus og på friland. Afprøvning af nye danske kartoffelkrydsninger mod skurv vil formentlig føre til samme resultat.

Tabel 7. Oversigtstabel. Sammenligning mellem skurvtallene fra tabel 5 og 6

Isolater af *S. scabies*	Skurvtal			
	1959		1960	
	a, b og c*	a+b+c	a, b og c*	a+b+c
29a, 29b og 29c.....	51.0	41.5	29.0	52.5
35a, 35b og 35c.....	61.0	66.8	32.5	51.8
45a, 45 b og 45c.....	65.8	65.9	32.8	38.4

* Gennemsnitstal

V. Ompodning og opbevaring af renkulturerne

Dersom man ønsker at disponere over renkulturer af *S. scabies*, må de jævnligt ompodes. Stilles kulturerne køligt, d.v.s. ved 5–10 °C, er det muligt at opbevare dem 5–6 måneder. Opbevares de derimod ved stuetemperatur, er hyppigere ompodning nødvendig. Ved normale laboratorieforhold, hvorunder svampe opbevares i samlinger på Statens plantepatologiske Forsøg, har det vist sig, at skurvisolaterne kan dø ud, hvis de står over to måneder uden at blive ompodet. Kulturerne ompodes derfor hver anden måned på den modificerede Czapek-agar.

En anden opbevaringsmåde er tørfrysning. Det viste sig, at *S. scabies* renkulturer er lette at tørfryse, og denne proces byder på de fordele, at dels fylder præparaterne meget lidt, da glasampullerne måler 6×60 mm, dels kan kulturerne opbevares i lang tid uden at miste deres levedygtighed.

Et antal renkulturer af *S. scabies* blev velvilligst af et dansk terapeutisk laboratorium tørfrosset i maj 1958 og opbevaret ved stuetemperatur. I marts 1960 blev præparaterne anvendt, og 61 pct. gav kulturer med usvækket vækst, resten var »uddøde«. Det vides ikke med bestemthed, hvor længe de tørfrosne kulturer kan bevare deres levedygtighed, idet det er uvist, om processen i nogle tilfælde allerede har skadet organismen fra begyndelsen; på den anden side kunne de præparater, som viste sig levedygtige, måske meget vel opbevares i endnu længere tid, da deres vækstkraft synes usvækket.

VI. SAMMENDRAG

Fra et halvt hundrede knoldprøver med kartoffelskurvangreb og af forskellig proveniens er der fremstillet en række isolater af *S. scabies* med det formål at råde over og foretage undersøgelser og forsøg med et udsnit af skurvsmitteracer fra en række danske lokaliteter.

Ved isoleringsarbejdet har LAWRENCE's metode vist sig særdeles nyttig. På grundlag af visse vækstejendommeligheder hos agarmyceliet blev der fra begyndelsen foretaget et udvalg af koloni-

væksttyper, og renkulturernes vækstegenskaber på forskellige substrater blev undersøgt. Der noteredes tydelige forskelle i evnen til at danne luftmycelium og sporer. Disse egenskaber viste sig i de fleste tilfælde at være konstante.

Med 19 udvalgte isolater af *S. scabies* blev der udført 3 infektionsforsøg i potter i væksthus. Som velegnet voksemedium til kartoffelplanterne viste mineralet »Perlite« sig at være. Der var betydelig forskel mellem enkelte isolaters virulens, og infektionsgraden blev bestemt på grundlag af en sortering af knoldmaterialet for skurvangreb i klasserne 0–5. Et såkaldt »skurvtal« blev beregnet på grundlag af procent angrebne knolde i hver klasse.

I yderligere 2 infektionsforsøg med 3 særlig virulente stammer viste det sig som antaget, at en kombination af 3 enkeltisolater fra oprindelig samme knoldprøve i fællesskab kunne give et kraftigere skurvangreb end de enkelte isolater prøvet samtidig hver for sig.

Renkulturer af *S. scabies* til opbevaring ompodes helst hver anden måned på modificeret Czapek's agar. Samme kulturer har også vist sig velegnede til tørfrysning, hvorefter et antal i hvert fald kan opbevares uforandret i et år, muligvis længere.

VII. SUMMARY

A number of isolates of *Streptomyces scabies* (Thaxter) Waksman and Henrici have been prepared from scabby potato samples of different Danish provenience. Growth studies in vitro showed a difference in the way of forming agar mycelium and the ability of producing air mycelium as well as the sporulation capability.

Infection experiments have been carried out in green house using pots and the mineral "Perlite"; the latter proved to be a very suitable growing medium for the purpose.

Considerable differences of pathogenicity between the strains were noted.

Further experiments with three very virulent strains of *S. scabies* showed that when three single isolates originating from the same potato sample were present jointly, a considerable stronger attack may occur in comparison with the same isolates, when used separately in the experiment.

Cultures af *S. scabies* for collection purpose may pass through a dry-freezing process after which they can be stored for 12 months or more.

VIII. LITERATUR

1. *Afanassiev, M. M.:* Comparative physiology of Actinomyces in relation to potato scab. Res.Bull.Neb.Agric.Exp.Sta. 92, 63 pp. 1937.
2. *Bruyn, Helena L. G. de.:* Het Schurftvraagstuck van mycologische Zijde bekeken. Inst.v.Phytopath.Wageningen. Med.7:4, 8 pp. 1935.
3. *Ibid.:* Onderzoekingen over enkele Octinomycetes welke Aardappelschurft verwekken. Tijdschr. over Plantenziekten 45:133–159, 1939.
4. *Conn, H. J. & Conn, J. E.:* Value of pigmentation in classifying Actinomyces. J.Bact. 42: 791–99, 1941.
5. *Cooper, D. C. m.fl.:* Periderm development of the potato tuber and its relationship to scab resistance. Amer. Potato Journ. 31:3: 58–66, 1954.
6. *Emilsson, Børge:* The relation between content of chlorogenic acid and scab resistance in potato varieties. Acta Agric.Scand. 3:328–333, 1953.
7. *Emilsson, Børge & Gustafsson, N.:* Scab resistance in potato varities. Acta Agric.Scand. 3:1:33–52, 1953.
8. *Gäumann, E. & Häfliger, E.:* Der Einfluss der Bodentemperatur auf Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen. Phytopath.Zeitschr. 16:1:85–105, 1950.
9. *Gottschling, W.:* Auswertung achtjährigen Feldprüfung auf Resistenz gegen den Kartoffelschorf. Nachrichtenbl.f.d.D.Pflanzenschutzd. 13:11: 210–216, 1959.
10. *Hoffman, G. M.:* Zur Methodik der Schorfresistenzprüfung von Wildkartoffeln. Sonderdruck aus Phytopath.Zeitschr. 24:4:465–68, 1955.
11. *Ibid.:* Untersuchungen zur Ätiologie pflanzlicher Actinomykosen. Phytopath.Zeitschr. 34:1:1-56, 1958.
12. *Ibid.:* Untersuchungen zur physiologischen Spezialisierung von Streptomyces scabies (Thaxt.) Waksmann & Henrici: Zentralbl.f.Bakt.II:112: 369-81, 1959.
13. *Hoffmann, G. M. & Schrödter, H.:* Mikroklimatiske Untersuchungen bei Kartoffelschorf. Infektionen in Lochtöpfen unter Freilandbedingungen. Der Züchter: 24:4/5:131–137, 1954.
14. *Houghland, G. V. C. & Cash, Lillian C.:* The use of vermiculite in providing scab inoculation for potatoes. Pl.Dis.Rep.: 38:460–61, 1954.
15. *Jensen, H. L.:* Actinomycetes in Danish soils. Soil Science 30:1:59-77, 1930.
16. *Kieszling, L. E.:* Wachstumsverlauf von Actinomycetenstämmen und seine quantitative Bestimmung auf verchiedenen Kartoffelnährsubstrat. Zentralbl.f.Bakt. 89: 177-196, 1933.
17. *Knight, S. Ken. – Muncie, J. A.:* Isolation of phytopathogenic Actinomyces. Phytopath. 29:1000–1001, 1939.
18. *Lawrence, C. H.:* Infection by Streptomyces scabies of detached potato tubers. Canad.J.Microbiol. 2:7:757–58, 1956.
19. *Ibid.:* A method of isolating actinomycetes from scabby potato tissue and soil with minimal contamination. Canad.J.of Bot. 34:1:44–47, 1957.
20. *Lutmann, B. F.:* Actinomycetes in potato tubers. Phytopath. 31:702–712, 1941.

21. *McKee, R. K.:* Assessment of resistance of potato varieties to common scab. Eur.Potato Journ. 1:1:65–80, 1958.
22. *Millard, W. A. & Burr, C. S.:* A study of twentyfour strains of actinomyces and their relation to types of common scab of potato. Ann. App. Biol. 13:580–644, 1926.
23. *Pieringer, A. P.:* A greenhouse method for determining the disease reaction of potato seedlings to common scab caused by Streptomyces scabies (Thaxt.) Waksmann & Henrici. Diss.Abstr. 17:1:5 pp., 1957.
24. *Richards, O. W.* The actinomyces of potato scab demonstrated by fluorescence microscopy. Stain Tech. 18: 91-94, 1943.
25. *Sanford, G. B.:* Some factors affecting the pathogenicity of Actinomyces scabies. Phytopath. 16:525–47, 1926.
26. *Schaal, L. A.:* Variation and physiologic specialization in the common scab fungus (Actinomyces scabies). Journ.Agr.Res. 69:5:169–186, 1944.
27. *Schaal, L. A. & Dirrell, L. W.:* A simplified method of isolating single cells of Streptomyces. Amer. Potato Journ. 36:4:137–139, 1959.
28. *Shoemaker, R.A. & Riddell, R. T.:* Staining Streptomyces scabies in lesions of common scab of potato. Stain Tech. 29:2:59–61, 1954.
29. Stapp, C.: Untersuchungen über Actinomyzeten des Bodens. Zeitschr. f. Bakt. Paras. 2:107:129–150, 1953.
30. *Taylor, C. F.:* A method for the isolation of Actinomycetes from scab lesions on potato tubers and beet roots. Phytopath. 26:367-388, 1936.
31. *Taylor, C. F. & Decker, P.:* A correlation between pathogenicity and cultural characteristics in the genus Actinomyces. Phytopath. 37:49–58, 1947.
32. *Thomas. W. D. (jr.):* Growth and variation of six physiological races of Actinomyces scabies on different culture media. Phytopath. 37:319-331, 1947.
33. *Waksmann, S. A.:* The Actinomycetes, their nature, occurrence activities and importance, 230 pp., 1950.
34. *Ibid.:* On the classification of Actinomycetes. Journ. Bact. 39:5:549–558. 1940.
35. *Wingerberg, Fritz:* Studien über den gewöhnlichen Kartoffelschorf und sein Erreger. Sonderdruck, Kühn-Archiv 33:257–295, 1932.
36. *Wolffgang, H. & Hoffmann, G. M.:* Die Bedeutung der Chlorogensäure als Resistenzfaktor des Kartoffelschorfes. Züchter 29:7:335–39, 1959.
37. *Wollenweber, H. W.:* Der Kartoffelschorf. Arbeiten des Forschungsinstitutes für Kartoffelbau, 2:102 pp., 1920.