



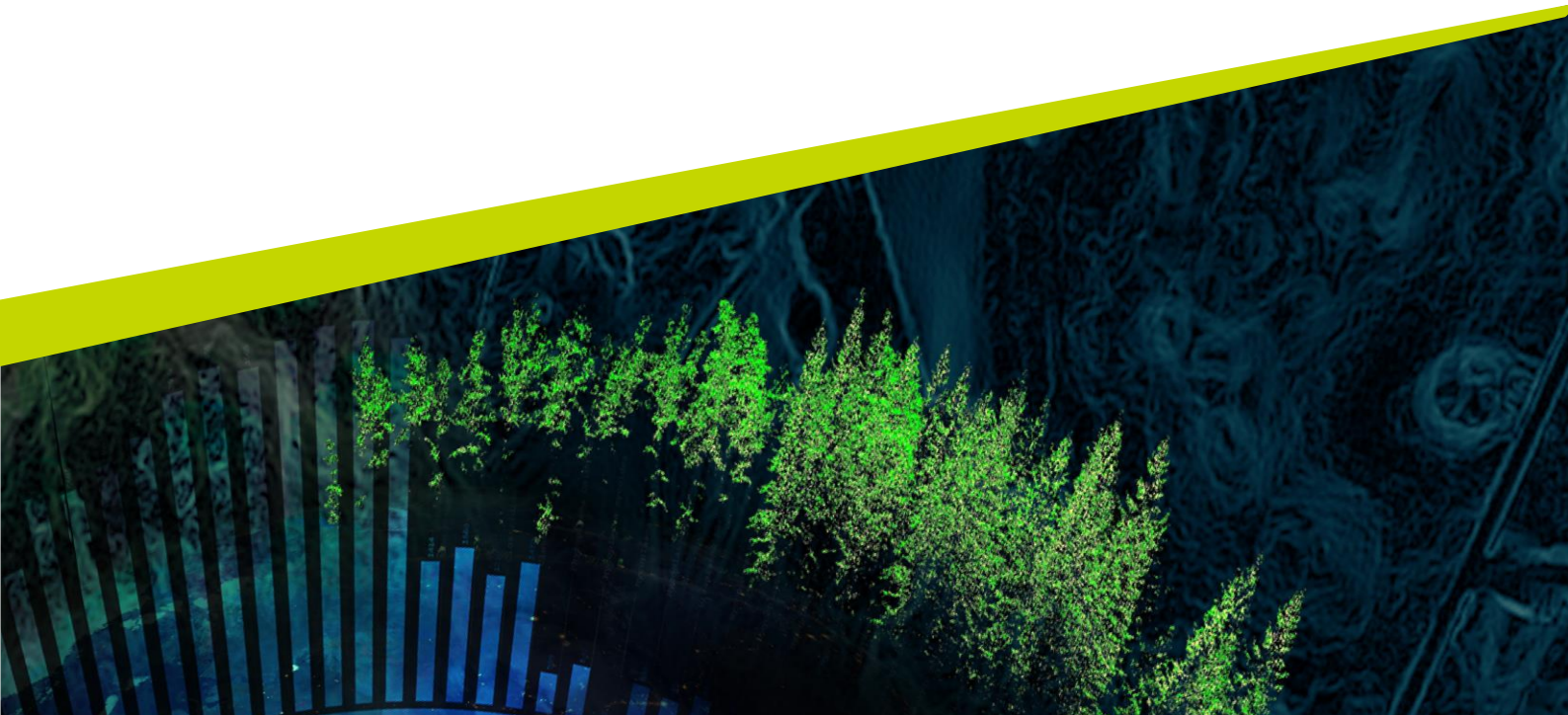
Rhodococcus fascians

– patogenicitet, växtinteraktion och överlevnad i jord

Rhodococcus fascians – pathogenicity, plant interaction and survival in soil

Linnea Rundqvist

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för landskapsarkitektur,
trädgårds- och växtproduktionsvetenskap
Institutionen för Biosystem och teknologi
Alnarp 2024



Rhodococcus fascians – patogenicitet, växtinteraktion och överlevnad i jord

Rhodococcus fascians – pathogenicity, plant interaction and survival in soil

Linnea Rundqvist

Handledare: Ida Lager, Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för växtförädling
Examinator: Anna Karin Rosberg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för Biosystem och Teknologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i Biologi

Kurskod: EX0855

Program/utbildning: Trädgårdsingenjör: odling – kandidatprogram

Kursansvarig inst.: Institutionen för Biosystem och teknologi

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2024

Nyckelord: knippebakterios, patogen, cytokinin, auxin, actinomyceter, växthormon, mikrobiologi, jordbakterier, växtpatogen

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för landskapsarkitektur,
trädgårds- och växtproduktionsvetenskap
Institutionen för Biosystem och teknologi

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Sedan *Rhodococcus fascians* upptäcktes 1927 har kontinuerliga försök gjorts för att förstå denna bakterie. Trots detta finns fortfarande flera obesvarade frågor. Dessa innefattar hur *R. fascians* inducerar symptom hos sin värdväxt, vilka ämnen som är inblandade och deras ursprung, samt hur länge bakterien förmår överleva i jord.

Symptom hos värdväxter uppkommer genom en hormonell obalans orsakad av växtpatogena stammar av *R. fascians*. En eller flera typer av cytokinin, samt troligen auxin, är ämnen som spelar en nyckelroll i symptomutvecklingen. Växtpatogenicitet hos *R. fascians* tros bero på närvaro av en virulent plasmid, även om undantag förekommer.

De flesta studier tyder på att *R. fascians* har en begränsad överlevnadsförmåga i jord utan icke-nedbrutet växtmaterial, på upp till sju månader. Längden på varaktigheten hos bakterien kan påverkas av fuktighetsnivå i jorden, temperatur, bakteriestam och jorddjup.

Nyckelord: knippebakterios, patogen, cytokinin, auxin, actinomyceter, växthormon, växtpatogen, mikrobiologi, jordbakterier

Abstract

Since the discovery of *Rhodococcus fascians* in 1927, continuous efforts have been made to understand this bacterium. However, there are still several unanswered questions. These include how *R. fascians* induces symptoms in its host plant, the substances involved and their origin, as well as how long the bacterium is able to survive in soil.

Symptoms in host plants arise from a hormonal imbalance caused by plant pathogenic strains of *R. fascians*. One or more types of cytokinin, and probably auxin, are the substances that play a key role in symptom development. Plant pathogenicity of *R. fascians* is believed to be caused by the presence of a virulence plasmid, although there are exceptions.

Most studies suggest that *R. fascians* has a limited survival capacity in soil without non-decomposed plant material, of up to seven months. The length of the duration of the bacteria can be affected by soil moisture, temperature, bacterial strain, and soil depth.

Keywords: leafy gall, pathogen, cytokinin, auxin, actinomycete, plant hormones, plant pathogen, microbiology, soil bacteria

Innehållsförteckning

Figurförteckning	9
Förkortningar och förklaringar	10
1. Inledning	11
1.1. Upptäckt och taxonomi	12
1.2. Syfte och frågeställningar	12
2. Metod	14
2.1. Genomförande.....	14
3. Resultat	15
3.1. <i>R. fascians</i> interaktion med växter	15
3.1.1. Faktorer avgörande för växtpatogenicitet	15
3.1.2. Patogenicitetens processer	17
3.1.3. Symptomutveckling hos växter	18
3.1.4. Hormoner	19
3.1.5. Bakteriens motiv till att inducera symptom	21
3.1.6. Spridning.....	21
3.2. <i>R. fascians</i> överlevnadsförmåga - sammanfattning av relevanta studier ...	22
3.2.1. Sammanställning av resultat på studier kring <i>R. fascians</i> överlevnad i jord .	
.....	25
4. Diskussion	27
4.1. Patogenicitet och orsak till symptomutveckling	27
4.1.1. Cytokinin och auxin.....	28
4.1.2. Stadie vid symptomutveckling	29
4.2. <i>R. fascians</i> överlevnadsförmåga i jord	30
4.2.1. Överlevnad i jord.....	30
4.2.2. Faktorer för överlevnad.....	32
4.3. Metoddiskussion	33
5. Slutsats	34
5.1. Vad anses vara de bakomliggande orsakerna till att symptom utvecklas hos	
värdväxter till <i>R. fascians</i> ?	34

5.2. Kan <i>R. fascians</i> överlevnadsförmåga i jord fastställas, baserat på tidigare utförda studier?	34
Referenser	36
Bilaga 1	41

Figurförteckning

Figur 1. Förenklad illustration över en bakteriecell av <i>R. fascians</i> med plasmid... 16
Figur 2. Dahlia som bildat kluster av skott efter angrepp av <i>R. fascians</i>18
Figur 3. Diagram över <i>R. fascians</i> överlevnadsförmåga..26

Förkortningar och förklaringar

Dpi	Days post-infection
IAA	indole-3-acetic acid, en typ av auxin
PBTS	Pistaschio buschy top syndrome
Spp.	Species, arter i plural
Endofyt	Organism som lever inuti en levande växt
Epifyt	Organism som lever på ytan av en levande växt
Fasciation	Morfologisk förändring hos växter, som kan bero på hormonbalans eller genetisk mutation. Uttrycks ofta som flertalet stammar eller blommor som sitter ihop
Isolat	Specifika prov från en bakterieart
Operon	DNA-sekvens med flera gener
Plasmid	DNA-molekyl som finns hos bakterier och kan överföras till andra organismer
Senescence	Den gradvisa nedbrytningen av en organisms celler
Stam	En undertyp från arten, vilka har gemensamma genetiska egenskaper.
Translation	Processen där ett protein bildas, baserat på mRNA

1. Inledning

Rhodococcus fascians, på svenska kallat knippebakterios, är en växtpatogen bakterie som kan orsaka missväxt hos ett stort antal växter (Putnam & Miller 2007; Depuydt et al. 2008). Bland värdväxterna återfinns en del prydnadsväxter av relativt stor ekonomisk betydelse – bland annat dahlia (*Dahlia x pinnata*) och krysantemum (*Chrysanthemum* spp.) (Putnam & Miller 2007). Bakterien orsakar vanligen onormal tillväxt och hämmad blomsterproduktion (Van Hoof et al. 1979).

Genom en ökande globalisering av marknaden för växtmaterial, samt genom moderna växtförökningsmetoder, ökar bakteriens utbredning och betydelse i växtbranschen (Depuydt et al. 2008). På grund av *R. fascians* utbredning ökar även de förluster som orsakas av bakterien. Bakterien har bland annat orsakat stora förluster i produktionen av nejlikor (*Dianthus* spp.) och krysantemum i England och av pelargoner (*Pelargonium* spp.) i USA (Dhaouadi et al. 2020).

Enligt California Department of Food and Agriculture (CDFA 2022) orsakar bakterien även förluster för pistaschproducenter, då den utvecklar en sjukdom kallad ”Pistaschio bushy top syndrome” (PBTS) hos pistaschträd (*Pistacia vera*). CDFA har därför klassat *R. fascians* som en stor ekonomisk risk för plantskoleindustrin i USA.

Bakterier består av en ensam cell och kan hittas nästan överallt (Hultberg 2014). De har ingen cellkärna och arvsmassan finns i cellens cytoplasma som en bakteriekromosom. Vissa bakterier har, utöver denna kromosom, även DNA i form av plasmider. Med hjälp av plasmider kan DNA lätt överföras mellan organismer, och bakterier med plasmider är därför till stor hjälp vid växtbioteknik enligt Hultberg (2014).

Även om bakterier finns så gott som överallt, har vissa miljöer en högre koncentration av bakterier än andra, då miljön där särskilt gynnar bakteriers tillväxt (Hultberg 2014). Marken är en sådan miljö (Reid & Wong 2005). Vissa bakteriearter har god överlevnadsförmåga och kan i årtal utstå förändringar i deras levnadsmiljö, så som extrema temperaturer, torra eller svält. Andra bakterier kan däremot vara känsliga mot även små förändringar i närmiljön. *R. fascians* kan öka i populationsstorlek i temperaturer mellan 3–33 grader Celsius, och tål både mycket sura jordar (pH 4) och svagt alkaliska jordar (Faivre-Amiot 1967).

Vissa bakterier lever i och runt växter, vilka tillsammans bildar ett symbiotiskt förhållande som gynnar båda parter (Kawaka 2022). Andra bakterier kan även de

leva i och runt växterna, men samtidigt åsamka skada på växten, och dessa kallas då för växtpatogena bakterier (Hultberg 2014).

1.1. Upptäckt och taxonomi

Bakterier kan delas upp i två grupper: Gram-positiva och Gram-negativa (Hultberg 2014). Dessa grupper baseras på om de färgas in av ett visst färgämne eller ej, och varje grupp har särskilt utmärkande egenskaper. Gram-positiva bakterier saknar bland annat ett yttre membran, men har en tjockare cellvägg än Gram-negativa bakterier. De flesta växtpatogena bakterier är Gram-negativa (Hultberg 2014), men *R. fascians* är en Gram-positiv bakterie (Vereecke et al. 2000).

R. fascians placeras vidare in i gruppen *Actinomycetales* (Putnam & Miller 2007). Denna bakteriegrupp har liknande egenskaper som svampar, genom att de formar mycel och ibland bildar sporer (Britannica 2022). *R. fascians* bildar dock inte sporer och saknar rörelseförmåga (Bell et al. 1998). Vidare placeras *R. fascians* in i underordningen *Corynebacterinae*, och familjen *Nocardiaceae* (Putnam & Miller 2007).

Inom *R. fascians* finns flera stammar, där ”D188” är den främst undersökta växtpatogena varianten (Francis et al. 2012). Sedan finns även stammen ”D188-5”, som inte är växtpatogen (Stes et al. 2013). Det är två olika arter av *Rhodococcus* som orsakar PBTS på pistaschträd, och den stam som är av arten *R. fascians* kallas ”PBTS2” (Vereecke et al. 2021).

Enligt Dhaouadi et al. (2020) har *R. fascians* sedan 1927 ansetts problematisk i trädgårdsbranschen. Bakterien antogs först vara en specialiserad variant av *Agrobacterium tumefaciens* (sv: rotkräfta), på grund av den relativt snarlika skadebilden (Brown 1927). Tilford (1936) observerade att denna variant ej beter sig på ett sätt som liknar *A. tumefaciens*, och kunde från angripna plantor isolera en annan bakterie. Denna döpte Tilford till *Phytomonas fascians*. Under årens lopp har bakteriens korrekta tillhörighet diskuterats och den har tillskrivits släktet *Bacterium* (Lacey 1939) samt *Corynebacterium* (Dowson 1942). Sedan 1984 hör bakterien till släktet *Rhodococcus*, på grund av dess biokemiska egenskaper, DNA-sekvens samt fenotyp (Goodfellow 1984).

1.2. Syfte och frågeställningar

Syftet med denna litteraturstudie är att sammanställa aktuell forskning om processerna bakom symptomutveckling hos växter angripna av *Rhodococcus fascians*, samt sammanfatta resultat av studier gällande *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord.

Frågorna som ämnas besvaras är:

Vad anses vara de bakomliggande orsakerna till att symptom utvecklas hos växter angripna av *R. fascians*?

Kan *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord fastställas, baserat på tidigare utförda studier?

2. Metod

Detta självständiga arbete utformas som en litteraturstudie, baserad på relevanta vetenskapliga artiklar och studier. Dessa har sedan analyserats för att identifiera trender eller motsatser. Både äldre och nyare publikationer har använts för att en så bred förståelse för *R. fascians* som möjligt ska uppnås. För att hitta publikationerna har relevanta sökord använts i databaser så som Web of Science, Scopus, Google Scholar och PubMed.

2.1. Genomförande

Denna litteraturstudie har sammanställt aktuell forskning om *R. fascians* och bakteriens interaktion med växter. I studien beskrivs vad forskning anser är de bakomliggande orsakerna till symptomutveckling på växter, vilka ämnen som spelar aktiva roller i symptomutveckling och deras ursprung, samt i vilket stadie *R. fascians* inducerar symptom.

I studien har utförda försök kring *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord identifieras och sammanställs. En analys av försökens resultat har gjorts, bland annat med hjälp av diagram för att få det mer överskådligt.

Angående begreppet jord, vilket genomgående används i detta arbete: vad jord består av är oklart, och oftast används begreppet substrat. I de artiklar och studier som denna litteraturstudie baserats på har dock ordet jord (eng: soil) använts i majoriteten av artiklarna. I flera fall beskrivs inte jorden och dess egenskaper ytterligare. På grund av detta har ordet ”jord” även använts i denna studie.

3. Resultat

3.1. *R. fascians* interaktion med växter

3.1.1. Faktorer avgörande för växtpatogenicitet

I vissa bakterier finns plasmider – små DNA-molekyler som förökas i cellerna hos andra organismer (Clark et al. 2019). Dessa är oftast cirkulära, men är hos *Rhodococcus fascians* linjära. Ibland bärs patogena bakteriers patogenicitet på plasmiderna, och så är fallet för *R. fascians*. Växtpatogena stammar av *R. fascians* har plasmider med generna *fas* och *att* (Dhaouadi et al. 2020), se figur 1 på s. 16. Dessa gener anses vara väsentliga för patogenicitet. Närvaron av plasmider som både är linjära och virulenta är unikt för *R. fascians*, som är den enda patogen med sådana plasmider (Francis et al. 2012). Tidigare växtpatogena stammar av *R. fascians* kan omvandlas till icke-patogena om denna plasmid elimineras (Francis et al. 2016).

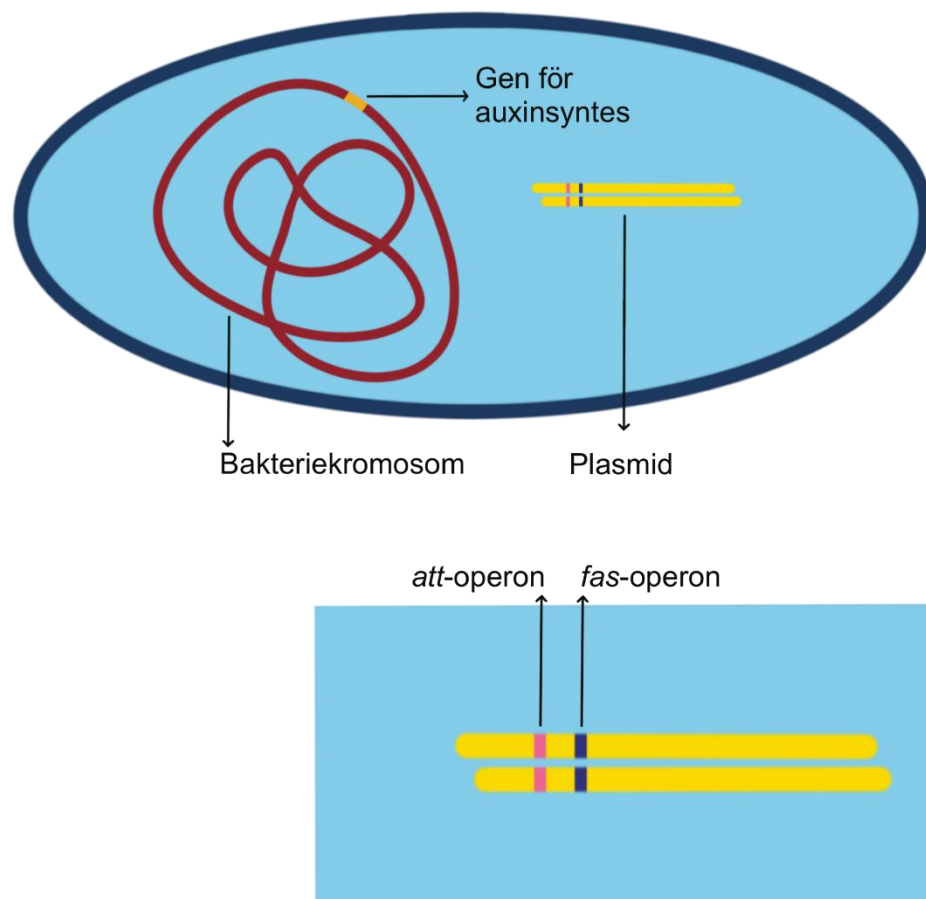
Angripna växters symptomutveckling tros vara avhängande av att bakterien syntetiserar olika typer av cytokinin (Vereecke et al. 2021). Cytokinernas syntetisering kodas av de *fas*-gener som sitter på virulensplasmiden hos majoriteten av de växtpatogena isolaten av bakterien. Saknar plasmiden *fas*-gener (ett s.k. operon) tappar bakterien sin patogenicitet (Depuydt et al. 2008). Eftersom det även finns stammar av *R. fascians* som inte är växtpatogena, måste patogenicitet hos bakterien bekräftas hos angripna växter innan slutgiltig diagnos kan ställas (Dhaouadi et al. 2020). Symptom som liknar de som induceras av *R. fascians* kan även uppkomma vid angrepp av andra bakterier – så som *A. tumefaciens* (Ludwig-Müller 2014). Närvaron av en *R. fascians*-stam är alltså ej tillräcklig för att slutsats ska kunna dras att eventuella symptom beror på bakterien.

Creason et al. (2014a) har via genomsekvensering hittat att arten *R. fascians* har stor genetisk variation inom sig. Författarna menar att resultatet kan innebära att arten egentligen innefattar flera olika arter. Bland de 20 genetiskt skilda isolaten i studien, återfanns sju stycken som ej har virulenta plasmider, och fem stycken som ej är växtpatogena. Detta resultat indikerar att två isolat är växtpatogena trots avsaknad av virulenta plasmider. Författarna hypotiserar kring att patogeniciteten

hos de stammar utan plasmid kan bero på att en genöverföring skett mellan plasmidens DNA och bakteriekromosomerna. Dock rapporterar Nikolaeva et al. (2009) att dessa plasmider kan förloras vid kulturodling av bakterien, något som upptäcktes när flera gener lokaliserade på plasmiden ej längre uppvisades via molekylära metoder. På grund av detta menar Nikolaeva et al. (2009) att faktiska växtpatogena stammar kan uppträda som icke-patogena stammar efter att stammen isolerats och odlats upp i labbmiljö.

Creason et al. (2014a) och Nikolaeva et al. (2009) anser att det är troligt att närvaron av flera stammar av *R. fascians* är nödvändigt för att symptom ska kunna utvecklas hos en värdväxt.

Savory et al. (2017) fann att vissa icke-patogena stammar av *R. fascians* kan bilda en mutualistisk symbios med sin värdväxt. Bakterierna ökade bland annat växternas rotomfång, något som författarna menar kan öka växternas närings- och vattenupptagningsförmåga.



Figur 1. Förenklad illustration över en bakteriecell av *R. fascians* med en plasmid.

3.1.2. Patogenicitetens processer

Enligt Putnam (2018) kan bakterien finnas utanpå växtens blad (epifytiskt stadie) under flera månaders tid. Bakterien vidhäftas till växtens yta genom att skapa ett biofilms-liknande lager (Francis et al. 2016). *R. fascians* kan sedan initiera sitt endofytiska stadie, där bakterien aktivt tar sig in i växtens vävnader, för att därefter orsaka symptom (Cornelis et al. 2002; Putnam 2018). Anledningen till transformationen mellan de två stadierna är ännu oklar enligt Putnam (2018). Goethals et al. (2001) menar emellertid att bakterien orsakar symptom hos värdväxten redan i det epifytiska stadiet, och tar sig in i värdväxten först efter detta. Syftet som det endofytiska stadiet fyller är fortfarande oklart enligt Goethals et al. (2001). Väl i växten finns bakterien främst i de intercellulära utrymmena, och framför allt i de yttre cellskikten. Dhandapani et al. (2018) och Jameson (2019) antyder att olika stammar av *R. fascians* antingen är epifytiska eller endofytiska – beroende på om de är växtpatogena eller ej. De menar att endast växtpatogena stammar av bakterien initierar ett endofytiskt stadie.

Förståelsen för *R. fascians* ökade efter att en specifik virulensplasmid (pFiD188) upptäcktes (Stes et al. 2013). Ett starkt samband mellan närvaron av denna plasmid och bakteriens växtpatogenicitet har påvisats, bland annat av Creason et al. (2014b) samt Stange et al. (1996).

På plasmiden finns två operon, *fas*-generna och *att*-generna, vilka är nödvändiga för att bakterien ska vara patogen (Depuydt et al. 2008). Enligt Stes et al. (2013) har *att*-genen inte hittats hos någon annan bakterie, och dess funktion tros vara kopplad till att bakterien plötsligt tar sig in i värdväxten, samt att den är kopplad till att aktivera translationen av *fas*-gener. Genom att *fas*-generna aktiveras kan dessa börja syntetisera cytokinin – ett hormon som Stes et al. (2013) menar är kopplat till att symptom uppkommer hos angripna växter. Enligt Cornelis et al. (2002) uttrycks *att*-generna enbart i bakteriens epifytiska stadie. Vid närvaron av en värdväxt aktiveras en självreglerande mekanism i plasmiden via *att*-generna, och bakterien övergår från en oskadlig epifyt till en sjukdomsframkallande endofyt (Stes et al. 2013). Samtidigt ökar genuttrycket för *fas*-gener hos plasmiden, vilka kodar för en biosyntesväg för cytokininer. Genom dessa cytokininer kan *R. fascians* påverka växters respons och utveckling, och på så vis utvinna näring från växten (Vereecke et al. 2021; Dhandapani et al. 2017). Stes et al. (2013) menar att bakteriens cytokininer stimulerar växten till att syntetisera auxiner och polyaminer – två ämnen som bidrar till att öka symptomutvecklingen.

I studien av Stes et al. (2013) presenteras fem olika cytokinin som syntetiseras av plasmiden hos den virulenta *R. fascians*-stammen ”D188”. Dessa främjar virulensen hos *R. fascians* och är orsaken till att symptom uppstår hos värdväxten enligt Stes och medförfattare. Dessa fem cytokinin syntetiseras även i lägre kvantiteter av stammen ”D188-5” – vilken varken har plasmider eller är växtpatogen. Detta menar Stes et al. (2013) kan innebära att patogenicitet snarare

avgörs av mängd syntetiserat cytokinin, än typ av cytokinin som syntetiseras. Baserat på båda stammarnas förmåga att syntetisera dessa cytokinin, anser Stes et al. (2013) att syntetiseringen kan koda både av plasmider, samt av bakteriens egna kromosomer. Däremot presenterar Creason et al. (2014b) att enbart en typ av cytokinin spelar en aktiv roll i avgörandet om patogenicitet hos *R. fascians*. Denna hypotes stöds av Jameson (2019), som menar att en unik typ av cytokinin (2-MeiP) syntetiseras av patogena stammar av *R. fascians*. Vereecke et al. (2000) föreslår emellertid möjligheten att symptom inte beror på syntetisering av cytokinin, utan snarare på syntetiseringen av ett ännu ej identifierat ämne från *R. fascians*.

3.1.3. Symptomutveckling hos växter

Vid infektion av bakterien bildas flertalet små skott vid växtens bas, och den apikala dominansen rubbas (Vereecke et al. 2000), se figur 2 nedan. Symptomatisk växtvävnad är kontinuerligt aktiv i sin produktion av skott. Symptomatisk växtvävnad verkar även ha en fördröjd senescence, då den förblir grön långt efter att icke-symptomatisk växtvävnad hos växten vissnat. Produktionen av den stora mängden skott har även tolkats som en absolut form av apikal dominans, där vardera skott hindrar de andra från att fortsätta utvecklas (Vereecke et al. 2000; Goethals et al. 2001). Även Åkesson (1993) beskriver att symptomen främst framträder som en överdriven skottproduktion vid växtens bas. Hon menar vidare att de skott som bildas ofta är missbildade. Den stora mängden skott som bildas beror på att bakterien aktiverar vilande meristem, vars skott är oförmögna att utvecklas (Depuydt et al. 2008). Vidare menar Depuydt et al. (2008) att antalet producerade blommor kan minska, och den generella tillväxten bli hämmad.



Andra symptom som kan uppstå är deformerade blad, och så kallade häxkvastar, vilket främst syftar på en onormal produktion av flertalet täta skott i trädkronor (Goethals et al. 2001).

Symptomutvecklingen och dess allvarlighetsgrad påverkas av flera faktorer, bland annat växtens ålder (Vereecke et al. 2000), vilken art som angrips (Lacey 1939) och vilken bakteriestam som angriper växten (Eason et al. 1995). En smittad växt kan inte bli fri från bakterien och bör slängas (Putnam 2014). Morfologiska förändringar orsakade av *R. fascians* observeras främst på meristem, men ibland bildas symptom även på differentierade celler (Vereecke et al. 2000). Enligt Goethals et al. (2001) innebär detta att bakterien har förmågan att omprogrammera värdväxtens celler. Baserat på Tilfords (1936) forskning är det sällan symptom syns på växtens rötter. Lacey (1939) rapporterar dock att symptom på rötterna kan uppstå vid särskilt allvarliga angrepp, vilka enligt Goethals och medförfattare (2001) uttrycks som en minskad mängd adventivrötter. Även Dhandapani et al. (2017) rapporterar att rötternas utveckling kan bli hämmad vid angrepp.

Putnam (2014) menar att *R. fascians* kan finnas på växten i flera månader, utan att några symptom utvecklas. Detta stöds av Stes et al. (2013), vilka menar att den långvariga samexistensen utan symptomutveckling är möjlig genom de motåtgärder som aktiveras hos växten som reaktion på angrepp av *R. fascians*. Variation i hur snabbt symptom uppkommer kan bero på nivå av virulens hos den angripande bakteriestammen, samt på växtens mottaglighet (Lacey 1939). Även Åkesson (1993) menar att bakterien kan finnas latent hos växter, vilket försvåra urskiljandet av friska mot angripna plantor. Åkesson (1993) lyfter fördelen med att välja meristemförökat utgångsmaterial. Dock har Putnam och Miller (2007) kunnat isolera *R. fascians* hos *in-vitro* plantor.

3.1.4. Hormoner

Cytokinin

De effekter som cytokinin har på växter generellt är att cytokinin stimulerar celldelning och skottutveckling, motverkar bladsenescence och kan bryta växtens apikala dominans (Evert & Eichhorn 2013).

Vid patogen-växt-interaktionens början ökar mängden cytokinin i de infekterade växtvävnaderna, för att snart återigen minska när växtens försvarsmekanismer aktiveras (Stes et al. 2013). En av försvarsmekanismerna är nedreglering av växtens egna cytokininsyntesgener. Trots växtens försvarsmekanismer har växten svårt att hantera det cytokinin som bakterien syntetiserar (Pertry et al. 2009). Detta leder till att det bakteriellt framställda cytokinet ackumuleras i växten, varvid morfologiska förändringar sker. Pertry et al. (2009) menar att det cytokinin som syntetiseras av bakterien i sin tur stimulerar växtens syntetisering av putrescin och auxin - vilka båda är aktiva ämnen i symptomutveckling. Detta stöds delvis av en

studie av Depuydt et al. (2009), vilka menar att ackumulering av putrescin i angripna växtdelar kan vara en del av symptominducerande signalering. I en studie av Stes et al. (2013) observerades att växten vid angrepp aktiverar flertalet försvarsreaktioner. Dessa bestod bland annat av reaktiva syreradikaler, salicylsyra och försvarsmetaboliter. Dock kunde författarna inte notera att försvarsreaktionerna hade någon större påverkan på bakterien.

Enligt Vereecke et al. (2000) är det en mer komplex process som inducerar symptom på växter vid angrepp av denna bakterie, än mängd ackumulerat cytokinin. Författarna kom till denna slutsats då de ej kunnat observera signifikanta skillnader av cytokinin i mätningar mellan friska och angripna kulturer. Författarna föreslår därför att *R. fascians* producerar signalämnen som urskiljer sig från cytokinin kring struktur och aktivitet.

Om angripet växtmaterial placeras på ett näringsmedium spetsat med antibiotika, dör bakterien och symptom upphör (Vereecke et al. 2000). Detta innebär att de flertalet skott som tidigare varit oförmögna att utvecklas, nu kan få en normal utveckling; något som enligt Vereecke et al. (2000) innebär att bakterien eventuellt kan användas för effektivare växtförökning.

Auxin

Även om cytokinin tros inneha en viktig roll i symptomutveckling, har dess roll för symptomutveckling diskuterats (Eason et al. 1996; Goethals et al. 2001). Enligt Vereecke et al. (2000) kan även andra ämnen spela en aktiv roll i bildandet av symptom. Bland dessa återfinns auxin. Auxin bibehåller växtens apikala dominans, stimulerar differentiering av kärnceller samt tillväxten av kambiet (Evert & Eichhorn 2013). Auxinnivåerna (IAA) hos växter inokulerade med *R. fascians* var högre än hos friska växter (Vereecke et al. 2000). Hos inokulerade växter förtjockades nerver och bladskafth som ett resultat av uppsvullnande celler – vilket enligt Vereecke et al. (2000) beror på auxinresponser. Delvis stöds detta av Jacobs och Mohanty (1951) observationer på angripna växter. De menar att vissa av symptomen indikerar ett överflöd av auxin i växten. Dock lyfter de även att andra symptom snarare indikerar på en minskad mängd auxin. Vereecke et al. (2001) menar att ytterligare andra molekyler av bakteriellt ursprung på något vis kan vara inblandat i symptomutveckling.

Stes et al. (2012) visar att auxin syntetiseras av växten, vars auxinsyntes stimulerats via bakteriesyntetiserat cytokinin. Vandeputte et al. (2005) har dock visat att bakterien i sig syntetiserar auxin, något som författarna menar är en vanligt förekommande praxis hos växtpatogena bakterier. Hos *R. fascians* syntetiseras stora mängder IAA hos både den patogena stammen ”D188” och hos den icke-patogena ”D188-5”. Detta indikerar att generna för IAA-syntetisering framför allt finns hos bakteriens kromosom, snarare än på plasmider. Detta illustreras i figur 1

på s. 16. Depuydt et al. (2009) menar att syntetiseringen av auxin kan spela en viktig roll i bakteriens förhindrande av försvarsreaktioner hos växten.

Genom ackumuleringen av både cytokinin och auxin, hämmas auxintransport och således kan skottmeristem aktiveras flera gånger om, vilket bibehåller symptomutveckling (Stes et al. 2012).

3.1.5. Bakteriens motiv till att inducera symptom

Bakterien anskaffar sig näring från växten (Vereecke et al. 2021). Vid inokulering av *R. fascians* i ärtor (*Pisum sativum*) kunde Dhandapani et al. (2017) observera att hjärtbladen förblev gröna hos de infekterade plantorna. Författarna menar att detta kan bero på att bakteriens cytokinin stimulerar klorofyllsyntesen hos hjärtbladen, vilket förser bakterien med metaboliter. Dhandapani et al. (2017) kom fram till denna hypotes då plantor infekterade med en växtpatogen stam av *R. fascians* hade oerhört större mängd klorofyll i hjärtbladen (1.1 mg g^{-1} 35 dpi), jämfört med plantor infekterade med en icke-patogen stam, samt jämfört med kontrollplantorna ($<0.2 \text{ mg g}^{-1}$ 35 dpi)

Dhandapani et al. (2017) visar i deras studie att bakterien använder växten som en källa till kolhydrater, då den växtpatogena bakterien ökar transkriptionen av gener för sockertransport. De menar även att resultat från Depuydt et al. (2009) – där enzymaktiviteten var högre hos växter in med ”D188” – stödjer deras hypotes att växten agerar kolhydratkälla för bakterien. *R. fascians* ökar även transkriptionen av gener för aminosyratransport, varvid växten också kan förse aminosyror till bakterien (Dhandapani et al. 2017). Även Depuydt et al. (2009) menar att de förhöjda nivåerna av aminosyror hos ”D188”-inokulerade växter, kan betyda att bakterien använder värdväxten som kvävekälla. Bakterien kan tillskansa sig näring från växten både i det epifytiska och i det endofytiska stadiet (Depuydt et al. 2009).

3.1.6. Spridning

Enligt Putnam (2014) sker spridning främst genom vegetativ delning av växter och genom cirkulerande bevattningsvatten. Det är inte troligt att spridning sker genom vind eller insekter menar Putnam (2014). Dock fann ett försök av van Hoof et al. (1979) att bakterien kunde spridas via bladlöss i laboratoriemiljö. Eftersom bakterien kan finnas latent hos växter kan spridning ske omedvetet vid vegetativ växtförökning, vilket tros vara den huvudsakliga spridningsorsaken (Putnam & Miller 2007; Putnam 2014). Stes et al. (2013) menar också att användandet av tillväxthormoner vid växtförökning ger liknande morfologiska förändringar vilket möjliggör bakterien att undgå upptäckt. Bakterien kan även spridas mellan plantor via verktyg, dock krävs en stor koncentration av bakterier för att överföring ska ske (Gordon et al. 2024). Hos vissa växter har bakterien funnits i frön, varvid fröplantor blivit angripna (Tilford 1936; Lacey 1939; Van Hoof et al. 1979).

Även om många växtfamiljer angrips av *R. fascians*, finns stor variation i mottaglighet hos arter, och ibland även sorter (Lacey 1939). Faivre-Amiot (1967) stödjer detta och lyfter möjligheten i att resistenta sorten kan vara ett sätt att minska bakteriens spridning. Faivre-Amiot (1967) betonar även vikten i att destruera angripna växter och att regelbundet desinfektera arbetsredskap.

3.2. *R. fascians* överlevnadsförmåga - sammanfattning av relevanta studier

Första isoleringen av *R. fascians* gjordes av Tilford 1936. Initiativet till att isolera bakterien kom från producenter av luktärt (*Lathyrus odoratus*) i Ohio. Producenterna ville veta mer om sjukdomen som orsakar fasciation (onormal tillväxt) på luktärt, då förlusterna på grund av sjukdomen var stora. För att utforska sjukdomens spridningsförmåga utfördes försök på luktärt. Totalt 50 luktärtsfrön ytsteriliserades med en 5 % lösning av formaldehyd i fem minuter och sköljdes därefter med sterilt vatten. Hälften av fröna såddes direkt i krukor med steriliserad jord (kontroll), och hälften gnuggades först med angripet växtmaterial innan de också såddes i krukor med steril jord. Av 20 kontrollplantor som grodde var alla friska. Av 22 plantor som grodde från kontaminerade frön uppvisade 8 symptom. Detta var 6 veckor efter sådd.

Tilford utförde ytterligare ett experiment, där formaldehyd-behandlade frön såddes i jord insamlad från ett växthus där en stor mängd luktärtsplantor blivit angripna. I ena behandlingen såddes fröna direkt i denna jord, i en annan steriliserades jorden genom autoklivering innan sådd. I den osteriliserade jorden grodde 13 plantor, varav 8 uppvisade symptom. I den steriliserade jorden grodde 12 plantor, och en av dessa uppvisade också symptom. Baserat på dessa två försök, samt på observationer från luktärtsproducenterna, konstaterades att bakterien var smittsam. Det konstaterades även att smittan till viss del kunde spridas via frön, då plantor kunde uppvisa symptom trots formaldehyd-behandlade frön. Genom att låta frön dra i en alkohol-lösning 20 minuter upphörde symptom hos plantor sådda i steriliserad jord.

Under 1930-talet utförde Lacey (1939) flera inokulationsförsök med *R. fascians*, på flertalet olika växtarter. Inokulation skedde främst genom att vattna steriliserad jord med bakteriekulturer samtidigt som sådd av frön skedde, eller genom att sticka unga växter med nålar doppade i bakteriekultur. Genom detta kunde flertalet värdväxter för bakterien bekräftas eller strykas. En intressant iakttagelse gjordes: Vid inokulation av både jord och genom nål-stickning hos gladiolus (*Gladiolus* spp.) uppvisade växterna inga symptom. Gladiolus har tidigare bekräftats som värdväxt (Lacey 1939). Vid försök att återigen isolera bakterien från jorden upptäckte Lacey att bakterien ej överlevt. Hon drog slutsatsen att detta berodde på att jordens

förhållanden ej varit tillräckligt gynnsamma för att bakterien skulle överleva. Tidsspannet för försöket rapporteras inte.

Jacobs and Mohanty (1951) testade infektionsgraden av olika stammar av *R. fascians*. De inokulerade unga luktärtsplantor, vilka placerats i provrör, genom att tillsätta bakterien till det sterila vattnet i provrören. Fyra av dessa bakteriestammar hade författarna fått från Margaret Lacey, med meddelandet att stammarna behållit sin patogenicitet efter fem till sex år av regelbunden kulturodling. Jacobs och Mohanty (1951) kunde trots detta enbart observera negativa inokuleringsförsök från dessa bakteriestammar, trots flertalet försök. Detta ledde bland annat till slutsatsen att dessa fyra bakteriestammar troligen tappat sin patogenicitet.

I Frankrike utförde Faivre-Amiot (1967) två försök kring *R. fascians* överlevnad i jord:

- a. Faivre-Amiot (1967) lyckades isolera *R. fascians* från jord som inokulerats med bakterien åtta månader tidigare. Detaljer om jordens sammansättning rapporteras ej, heller ej om jorden hölls i träda.
- b. Författaren rapporterar dock att bakterien ofta var svår att isolera på icke-steriliserad jord i laboratoriemiljö redan efter tretton dagar.

Baserat på, i rapporten ej beskrivna, fältobservationer menar Faivre-Amiot att det är troligt att bakterien kan överleva fyra till fem år i fält.

Vid ett försök av Oduro (1975) kontrollerades *R. fascians* förmåga att överleva i jord. Smittade delar av jätteprästkraige (*Leucanthemum* × *superbum*) inkorporerades i två krukor. Under försökets genomförande på tre månader vattnades enbart en av krukorna – något som ledde till att växtmaterialet i denna kruka bröts ned. I den kruka som ej vattnades bröts det smittade materialet inte ned. Oduro kunde endast isolera bakterien i jord om ej nedbrutet smittat växtmaterial var närvarande. I den kruka där växtmaterialet förmultnat kunde bakterien ej isoleras. Oduro (1975) menar att det på grund av detta, samt den besprutning som sker på fält, kan antas att bakterien ej blir ett problem nästkommande säsong. Oduro menar vidare att spridning nog främst sker via växtdelning, än via jord.

Boylen och Mulks (1978) testade överlevnadsförmågan hos *R. fascians* under svältförhållanden. Efter 56 dagar i svältperiod observerades en minskning på 15 % av torrsvikt hos bakterierna, och författarna anser att bakterien kommer nyttja 50 % av sitt intracellulära kol 105 dagar efter att svält inletts. Boylen & Mulks (1978) visar i sin studie att bakterier av släktet *Corynebacterium* (dit *R. fascians* tidigare hörde) verkar ha en längre överlevnadstid vid svält än andra patogena bakterier.

I en studie av Putnam (2014), inokulerades sandig lerjord hämtad från fält, samt vanlig planteringsjord, med *R. fascians*. Efter tre dagar kunde det noteras att bakteriepopulationen börjat minska. Vid mätning av bakterierna i samtliga jordar fann de att populationerna minskat till endast 1–14 % av den ursprungliga populationen. Putnam observerar dock att överlevnadsförmågan hos bakterien möjligen ökar vid närvaro av icke-förmultnat växtmaterial, och hänvisar till vidare studier som ännu ej är publicerade. Putnam föreslår att bakterien troligen inte kommer överleva en längre period i jord så länge jorden hålls fri från levande växtmaterial.

I en studie av Fichtner et al. (2018) testades *R. fascians* överlevnadsförmåga i nordvästra USA.

- a. I jord insamlad från fält i Kalifornien, Arizona och New Mexico, inokulerades bakterien. Resultatet visade att efter inokulation i februari 2017, hade bakterierna vid april minskat med 99%. I augusti fanns enbart spårmängder kvar. Författarna menar att bakterien har en begränsad förmåga att överleva i jord på friland. Den faktiska sammansättningen av jorden framgår inte.
- b. Fichtner et al. (2018) testade även *R. fascians* överlevnadsförmåga i olika planteringsjord inomhus. De fann att om jorden hölls torr gick det efter en vecka inte att åter-isolera bakterien. Om jorden vattnades (1 ggr/ vecka till behållarens maxkapacitet) förlängde bakteriens överlevnadsläng något, men inte i alla planteringsjordar som testades. Efter 14 veckor kunde endast spårmängder av bakterien detekteras.

Inom *R. fascians* finns flera olika stammar. Bland dessa finns ”PBTS2”, som är en av bakterierna som orsakar PBTS hos pistaschträd. I en studie av Vereecke et al. (2021) testades överlevnadsförmågan hos denna stam i jord på fält. Försöken utfördes både sommar- och vintertid. Samtliga försök utfördes på ett fält i Kalifornien. Trästickor som doppats i bakterielösning placerades i meshpåsar och planterades på 15 samt 75 cm djup i fältet. Vid alla försök, både vid plantering av påsar samt vid testning av trästickor, insamlades tre jordprover vid vardera jorddjup för att avläsa fuktigheten i jorden.

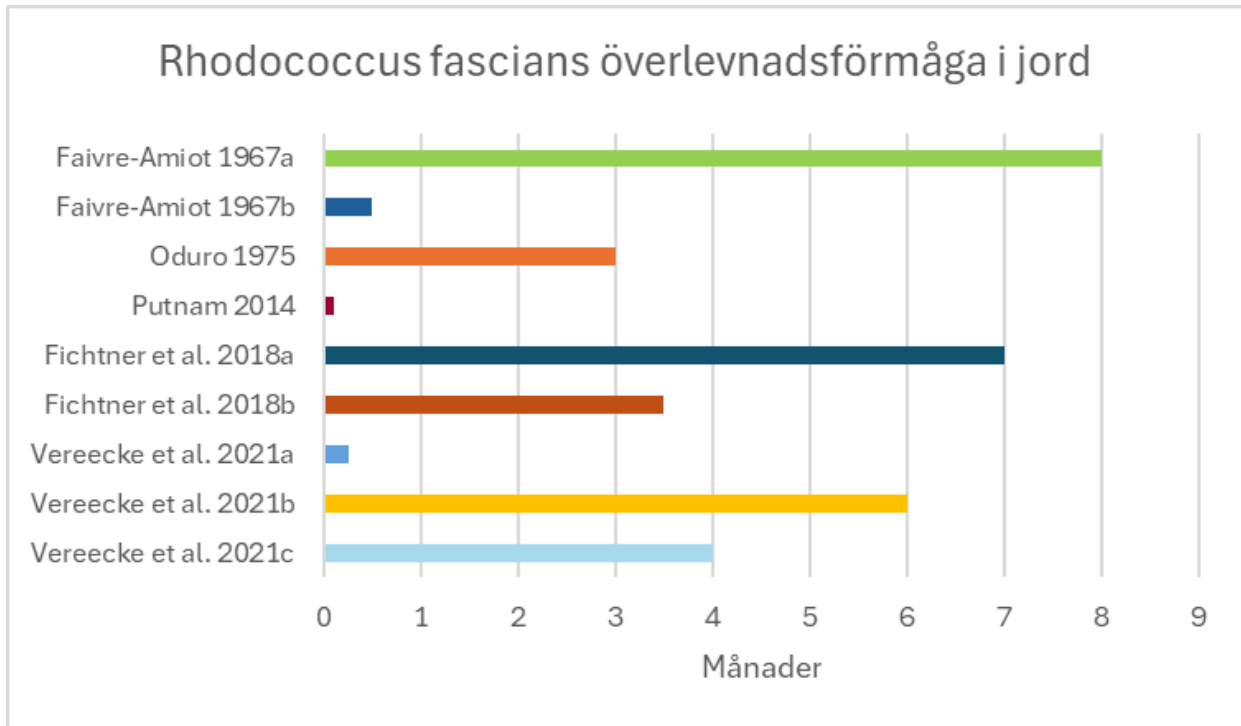
- a. Sommarförsöken skedde i augusti både 2016 och 2017. Påsarna med trästickor togs upp ur jorden efter en veckas tid. Båda sommarförsöken fann att bakterien ej kunde hittas på någon av trästickorna efter en veckas tid. Författarna noterar att fuktighetsnivån i jorden var relativt låg båda somrarna (mellan 0.23 % och 5.67 %).

- b. Vinterförsöket 2016 visade att överlevnadsgraden hos bakterien ej påverkades av planteringsdjup, men varierade beroende på typ av isolat som använts. Vid mätningar efter en och två månader, hade bakteriepopulationen ökat jämfört med vid inokulationstillfället. Mätningen efter sex månader visade dock att bakterien ej kunde detekteras.
- c. I vinterförsöket 2017 påverkades överlevnadsförmågan av både planteringsdjup och bakterieisolat. Vid mätningar skedde enbart minskningar av bakteriepopulationerna, till skillnad från de två första mätningarna i vinterförsöket 2016. Hos trästickor nedgrävda på 75 cm djup kunde endast spårmängder detekteras efter en månad. På mätningar gjorda efter en, respektive två månader hos de trästickor på 15 cm djup, noterades en populationsminskning på 70 %, samt 87 % jämfört med bakteriepopulationen vid inokulationstillfället. Vid mätning efter fyra månader kunde bakterien inte längre detekteras. Författarna noterar att fuktighetsnivån i jorden var högre under försöket år 2016, och föreslår att en koppling mellan detta och bakteriens överlevnadsförmåga i jord kan finnas.

3.2.1. Sammanställning av resultat på studier kring *R. fascians* överlevnad i jord

Av nio försök gällande *R. fascians* överlevnadsförmåga som gjorts i jord, kunde en kraftig populationsminskning observeras hos åtta av dem. Dessa observationer varierade kraftigt tidsmässigt, från tre dygn till sju månader (se figur 3 på s. 26). I Faivre-Amiots (1967) försök "a" rapporterades inte huruvida en ökning eller minskning av populationen skett, enbart att *R. fascians* kan överleva minst åtta månader i jord.

Det försök av Lacey (1939) med gladiolus inbegrips ej av diagrammet, eftersom tidsspann ej rapporterats.



Figur 3. Diagram över *R. fascians* överlevnadsförmåga. Sammanställt från publicerade studier.

4. Diskussion

Det uttrycks på flera håll oro över *R. fascians*. Delvis hos plantskolor, men även hos hobbyodlare är oron stor. Detta visar sig inte minst bland de som söker råd i olika grupper på Facebook¹. Bland dessa grupper sprids en del felaktig information, vilket oavsiktligt kan orsaka onödig rädsla för bakterien – något som tyvärr kan påverka hobbyodlaren odlingsglädje. Särskilt det ökade intresset för dahlior (Mwansa 2023; Naskovic 2021; Paulsson 2023), kan ta skada. Den ökade försäljningen och den ökade vegetativa förökningen av växter, kan leda till en ökad utbredning av bakterien (Depuydt et al. 2008). Ju fler som får in drabbade växter i sin odling, desto fler kan riskera att tappa intresset för att överhuvudtaget odla växtslag som kan angripas av *R. fascians*.

Denna studie visar att det, trots mycket forskning kring *R. fascians*, fortfarande finns oklarheter kring bakterien. Dessa oklarheter innefattar särskilt vilka ämnen som har en aktiv roll i växt-patogen-interaktionen och ursprunget på dessa ämnen, hur och i vilket stadie bakterien inducerar symptom hos sin värdväxt, samt huruvida och hur länge bakterien förmår överleva i jord.

4.1. Patogenicitet och orsak till symptomutveckling

Det finns både växtpatogena och icke-växtpatogena stammar av *R. fascians* (Stange et al. 1996; Stes et al. 2013; Creason et al. 2014a). Flertalet studier pekar på att eventuell patogenicitet hos bakterien har ett starkt samband med närvaron av en virulent plasmid (Stange et al. 1996; Depuyt et al. 2008; Creason et al. 2014b). Sambandet som observerats beror på att väsentliga gener (*fas* och *att*) för patogenicitet är belägna på plasmiden, och inte på bakteriens kromosom. Dock har Creason et al. (2014a) isolerat två isolat av *R. fascians* som är växtpatogena trots avsaknad av plasmid hos båda isolat och avsaknad av *fas*-operon hos ett av isolaten. Detta utmanar teorin att plasmiden är nödvändig för patogenicitet och antyder att andra faktorer också kan vara inblandade. Creason et al. (2014a) anser att dessa två isolat av växtpatogena bakterier uppkommit genom överföring av DNA mellan plasmid och bakteriekromosom. Att isolaten uppkommit genom DNA-överföring

¹ Diverse inlägg från Facebook-gruppen "Dahliaentusiasterna".

är inte omöjligt, eftersom sådan överföring lätt kan ske med plasmider enligt Hultberg (2014). Även den stora genetiska variation som finns inom arten *R. fascians* antyder att utbyte av DNA kan vara vanligt förekommande, och stödjer hypotesen från Creason et al. (2014a). Dock finns även möjligheten att plasmiden hos dessa isolat förlorats under kulturodling – en företeelse som tidigare rapporterats av Nikolaeva et al. (2009).

4.1.1. Cytokinin och auxin

Det är tydligt att både cytokinin och auxin är av stor vikt vid symptomutveckling hos växter angripna av *R. fascians*. Karaktäristiska symptom som utvecklas är beskrivna både som typiska för en överproduktion av cytokinin och för en överproduktion av auxin (Jacobs & Mohanty 1951; Vereecke et al. 2021). Övervägande är det främst cytokinin som anses inneha störst roll (Pertry et al. 2009; Francis et al. 2012; Stes et al. 2012; Stes et al. 2013). Anledningen bakom bakteriens syntetisering av växthormon diskuteras inte alltid i studierna. Vereecke et al. (2000) är den studie där fördelarna med bakteriens syntetisering av cytokinin främst lyfts fram i form av hormonets förmåga att fördröja senescence och på så sätt förlänga den tid som bakterien kan utvinna näring från växten. Depuydt et al. (2009) menar att bakteriellt framställt auxin kan vara en väsentlig del i *R. fascians* motrespons på växtens försvarsreaktioner vid angrepp. Generellt verkar det som att anledningen bakom växtpatogena bakteriers förmåga att syntetisera växthormoner är ett mysterium (Kudayarova et al. 2014; Costacurta & Vanderleyden 1995), vilket kan vara anledningen till att det sällan diskuteras.

Eftersom flera av de effekter som auxin och cytokinin ger växter kan observeras samtidigt i en angripen växt är det svårt att direkt säga att endast ett av dessa hormoner är det avgörande för symptomutveckling. Det bakteriellt framställda cytokininet stimulerar växtens syntetisering av auxin, vilket kan vara en förklaring för att symptom tillskrivna båda dessa hormoner kan observeras vid samma tillfälle (Pertry et al. 2009; Stes et al. 2013). Cytokinin och auxin kan, baserat på de symptom som tillskrivs de olika hormonerna, nästan anses verka antagonistiskt mot varandra, där en balans mellan celldelning och -differentiering uppnås. Symptomutveckling och -bibehållande kan dock även vara en än mer komplex fråga än så, och innefatta fler än dessa två hormoner – precis som Vereecke et al. (2000) beskriver det. Ett av dessa ämnen kan vara putrescin – något som både Pertry et al. (2009) och Depuydt et al. (2009) menar är delaktigt i symptomutveckling.

Stes et al. (2013) menar att symptom uppstår på grund av fem olika cytokininer som bakterien syntetiserar. Creason et al. (2014b) menar dock att enbart en typ av cytokinin är avgörande för symptomutveckling. Båda dessa hypoteser vederläggs dock av observationer från Vereecke et al. (2000), där ingen skillnad i mängd cytokinin hos angripna växter, jämfört med friska växter, kunnat noteras. Dock kan denna frånvaro av en ökad mängd cytokinin hos angripna växter möjligen bero på

växtens nedreglering av den egna cytokininsyntetiseringen, vilken rapporterats som en av växternas försvarsreaktioner av Stes et al. (2013). Eftersom Pertry et al. (2009) beskriver hur värdväxter har svårt att hantera bakteriellt syntetiserat cytokinin, kan cytokinin - trots fynd från Vereecke et al. (2000) – ha en avgörande roll i att symptom uppkommer på angripna växter. Att observationer från Vereecke et al. (2000) inte uppvisar förhöjda nivåer av cytokinin hos angripna växter, kan eventuellt även bero på val av undersökt växt. Det är möjligt att variation kring växters resistens mot *R. fascians* förekommer. Detta illustreras bland annat av Lacey (1939) som beskriver just denna variation både inom mellan olika arter men även mellan olika sorter av en art.

De olika fynden indikerar ett komplext förhållande mellan patogen och värdväxt. För att få bättre inblick i hur, och i vilken ordning processer i både patogen och värdväxt sker, krävs en bättre förståelse i hur samspelet mellan cytokinin, auxin samt andra hormoner och ämnen påverkar växtens fysiologi samt ursprunget på dessa ämnen.

Där forskningen är ense om att det cytokinin som ackumuleras i växten framför allt syntetiseras av *R. fascians*, går åsikterna däremot isär gällande syntetiseringen av auxin. Enligt Pertry et al. (2009) och Stes et al. (2012) syntetiseras auxin framför allt av växten. Vandeputte et al. (2005) och Depuydt et al (2009) menar däremot att det främst är bakterien som syntetiserar auxin. Auxinet är en viktig del av bakteriens motverkan på växtens försvarsreaktioner vid infektionens början (Depuydt et al. 2009), och dess syntetisering är vanligt förekommande hos växtpatogena bakterier (Vandeputte et al. 2005). Vid angrepp initierar växten försvarsreaktioner, vilka inte observerats ha någon effekt på bakterien. Möjligen kan detta just bero på *R. fascians* auxinsyntetisering. Dessa resultat tydliggör behovet av ytterligare forskning för att klargöra auxinet ursprung och exakta roll i symptomutvecklingen. Det är möjligt att både patogen och värdväxt syntetiserar auxin, men under olika faser eller möjligen beroende på olika abiotiska faktorer.

Genom ackumulationen av båda typerna av hormon, hämmas auxintransport och således kan skottmeristem aktiveras flera gånger om, vilket bibehåller symptomutveckling (Stes et al. 2012).

4.1.2. Stadie vid symptomutveckling

Det finns delade meningar kring i vilket stadie *R. fascians* utvecklar symptom hos sina värdväxter: enligt Stes et al. (2013), Cornelis et al. (2002) och Putnam (2018) etableras *R. fascians* först som en oskadlig endofyt på en värdväxt. Efter etablering aktiveras *att*-gener för att övergå till det endofytiska stadiet, varvid bakterien först då utvecklar symptom hos växten. Även Dhandapani et al. (2018) och Jameson (2019) anser att symptom utvecklas av endofytiska bakterier.

Däremot anser Goethals et al. (2001) att det epifytiska stadiet är mer än bara en förberedelsefas inför infektion. De menar att symptom primärt uppstår i det

epifytiska stadiet och att bakterien tar sig in i växten först efter detta. Bakteriens endofytiska stadie har ännu inte ett klarlagt syfte enligt Goethals et al. (2001).

Att förstå i vilket stadie som *R. fascians* inducerar symptom är viktigt för att veta hur bakteriens infektionsprocess ser ut och hur den bäst kan bekämpas. De olika perspektiv som presenterats i denna studie visar att vidare forskning behövs för att avgöra vad som avgör övergångar mellan de olika stadierna, samt för att avgöra vilket stadie som inducerar symptom hos värdväxten.

4.2. *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord

4.2.1. Överlevnad i jord

I åtta av nio försök gällande *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord observerades att bakterien inte överlevde längre än sju månader. I de fall där bakterien kunnat detekteras i jord senare än tre månader har det handlat om spårmängder. I flera försök kunde en stor populationsminskning av bakterien observeras redan dagar efter att inokulation ägt rum. I det försök där bakterien överlevt längre än sju månader rapporteras inga detaljer om de förhållanden som bakterien levde i – förutom det faktum att det var i jord. Detta kan innebära att den ovanligt långa överlevnaden berodde på närvaron av levande växter.

Vid ett försök av Lacey (1939) upptäcktes att bakterien dött i jord inokulerad med bakterien, trots närvaro av en värdväxt. Lacey gjorde observationen att miljön i jorden inte kunde hålla bakterien vid liv. Att utforska just vad som gjorde levnadsmiljön oduglig hade varit intressant, men dessvärre beskrivs inga detaljer kring försöket.

Att bakterien kan överleva i jord måste nog ses som ett faktum. Frågan är bara hur länge och vilka faktorer som påverkar överlevnaden? Faivre-Amiot (1967) kunde isolera bakterien från jord inokulerad åtta månader tidigare, vilket är den längsta påvisade överlevnaden för bakterien. Faivre-Amiot anser att bakterien troligtvis kan överleva upp till fem år i fält, men en motivering till denna hypotes ges inte, annat än att den är baserad på fältobservationer. Faivre-Amiot (1967) beskriver dock hur bakterien är ett problem i jordgubbsodlingar, och att dess spridning bistås av en nematod (*Aphelenchoides fragariae*). Eftersom samma jordgubbsplantor är i bruk flera år i rad kan det antas att observationerna bland annat baserats på dessa odlingar. Huruvida observationer på fält med årliga växtslag och med växelbruk gjorts är oklart. Det hade varit intressant att veta, då växelbruk kan leda till en ökad mikrobiell mångfald, vilket kan påverka jordlevande bakterier negativt (Sun et al. 2023).

I tre försök kunde enbart oerhört små mängder av *R. fascians* detekteras efter som högst en veckas tid i jord (Putnam 2014, försök "b" av Fichtner et al. 2018 och försök "b" av Vereecke et al. 2021). I två försök rapporteras att bakterien inte

kunnat detekteras efter tre månader i jord (Oduro 1975 och försök ”a” av Fichtner et al. 2018). I försök ”b” och ”c” av Vereecke et al. (2021) samt i försök ”a” av Faivre-Amiot (1967) rapporteras de längsta överlevnadstiderna – mellan fyra och åtta månader. Observera att Faivre-Amiot (1967) inte nämnt vare sig en minskning eller ökning av bakteriepopulationen vid åtta månaders tid, till skillnad från övriga försök nämnda i detta stycke.

Dessa variationer i *R. fascians* överlevnadsförmåga tyder på att abiotiska faktorer påverkar levnadslängden. Studierna har tagit upp möjligheten att överlevnadsförmågan kan påverkas av temperatur, fuktighetsnivå, sammansättning av substrat och pH, samt av vilken stam av *R. fascians* som används.

Närvaro av levande växtmaterial

R. fascians överlevnadsförmåga i jord tros vara starkt kopplad till närvaron av icke-nedbrutet växtmaterial (Oduro 1975; Putnam 2014). I Oduros försök (1975) dog bakterien inom tre månader utan närvaron av icke-nedbrutet växtmaterial. Dock ledde närvaron av en levande värdväxt inte till bakteriens kvarvarande i försöket med Lacey (1939). Om Oduros (1975) och Putnams (2014) teori kring att bakteriens överlevnad är avhängande på icke-nedbrutet växtmaterial stämmer, skulle en eventuellt kontaminerad jord bli brukbar igen genom att hålla jorden i träda en säsong. Möjligtvis skulle det även gå att minska förekomsten av *R. fascians* genom att odla icke-värdväxter på platsen – detta måste dock bekräftas eftersom inga studier gjorts kring detta. Att hålla en jord i träda innebär dock egna utmaningar – särskilt om bakterien skulle förekomma i perenna planteringar.

Överlevnad i annat än jord

Boylen och Mulks (1978) visade att *R. fascians* hade en ovanlig förmåga att överleva perioder av svält. Jämförs dessa resultat med resultaten från andra studier står sig Boylen och Mulks (1978) resultat nästan i motsats till övriga: När Faivre-Amiot odlade *R. fascians* i laboratoriemiljö var bakterien efter tretton dagar ofta omöjlig att isolera, varvid slutsatsen var att den ej överlevt; Putnam (2014) observerade en minskning på upp till 99 % bara dagar efter inokulering; Fichtner et al. (2018) observerade en minskning på 99 % inom tre månader; Vereecke et al. (2021) observerade enbart spårmängder kvar efter sju dagar-sex månader beroende på miljöförhållande. Möjligtvis kan det näringsmedium som Boylen & Mulks (1978) använde varit bidragande till *R. fascians* levnadslängd, samt möjligen avsaknaden av konkurrerande organismer. Eftersom flera av de försök med en kortare observerad överlevnadstid utförts i varierade typer av jordar, kan utfallet mycket väl påverkats av eventuell mikroaktivitet, särskilt som jordarna i flera fall inte steriliserats innan försökets början. *R. fascians* är troligen känslig för konkurrens från andra mikroorganismer, och bakteriens överlevnadsförmåga starkt

kopplad till eventuell närvaro eller avsaknad av mikroaktivitet. Det skulle förklara varför *R. fascians* ibland uppvisar korta överlevnadstider och ibland längre.

Främsta spridningsväg

Tilford (1936) visade i sina försök med luktärt, där 8 av 13 plantor uppvisade symptom, att *R. fascians* kan smitta om kontaminerad jord används. Smitta uppkom även till viss del i den jord som steriliserats och användes som kontroll. Detta kan antingen bero på att inte alla bakterier dog vid steriliseringsprocessen, att någon kontaminering under försökets genomförande skett, eller på att bakterien befunnit sig på fröna som användes. Spridning sker främst via vegetativ förökning av växter, snarare än via kontaminerad jord (Oduro 1975; Putnam & Miller 2007; Putnam 2014). Angripna plantor kan vara svåra att urskilja på grund av bakteriens fallenhet för att finnas latent hos växter (Åkesson 1993). Vanligen kan meristemförökade plantor i sådana fall rekommenderas, men risken finns att *R. fascians* kan finnas även i dessa plantor (Putnam & Miller 2007).

4.2.2. Faktorer för överlevnad

Lacey (1939) upptäckte att jord ibland kunde uppvisa dålig kapacitet som levnadsmiljö till *R. fascians*. De faktorer som påverkar jordlevande bakterier överlag är framför allt tillgång till en passande näringskälla, men även fuktighetsnivå, syretillgång och temperatur (Burgess & Raw 1967). Konkurrens mellan olika organismer är också en påverkande faktor, och vissa organismer kan aktivt försöka förhindra närvaron av andra organismer genom att producera antibiotiska ämnen (Reid & Wong 2005). *R. fascians* tillhör de bakterier som är särskilt känsliga för antibiotiska ämnen enligt Jacobs och Mohanty (1951). Författarna menar att närvaron av två, i jord vanligt förekommande, antibiotikaproducerande bakterier (*Bacillus subtilis* och *B. mesentericus*) eventuellt kan inhibera tillväxten av *R. fascians*. För en ökad konkurrens mellan organismer krävs en mikrobiellt aktiv jord. Genom att tillföra organiskt material, odla gröngödslingsgrödor och undvika kompaktering av jorden kan den mikrobiella aktiviteten öka (Reid & Wong 2005). Att tillämpa växtföljd kan också bidra till bekämpning av växtpatogena bakterier (Hultberg 2014). Riskerna med att odla samma gröda år efter år förtydligas av Miller et al. (1980), som beskriver hur otroligt höga populationer av *R. fascians* i liljefält kan bero på avsaknaden av växtföljd.

Vereecke et al. (2021) observerade att *R. fascians* hade en längre överlevnadstid under försöket 2016 än 2017, och reflektioner ifall den högre fuktighetsnivån i jorden 2016 kan ha påverkat bakteriepopulationen positivt gjordes. Att fuktighet i viss grad påverkar *R. fascians* positivt stöds av observationer från Fichtner et al. (2018), där bakterien kunde isoleras från planteringsjord som vattnats en vecka efter inokulation, men inte från planteringsjord som hölls torr. I Oduros (1975) försök

däremot överlevde *R. fascians* i den kruka som ej vattnades, medan bakterien inte överlevde i den kruka som fick tillgång till vatten. Oduro drog slutsatsen att bakteriepopulationens död berodde på att växtmaterial bröts ned snabbare vid högre fuktighetsnivå. Detta tyder på att en fin balansgång krävs för att den miljö som *R. fascians* kan överleva i ska uppnås – det får inte finnas brist på fukt, men det får heller inte vara så pass fuktigt att växtmaterial bryts ned snabbare än nytt växtmaterial hinner börja växa på platsen.

4.3. Metoddiskussion

Överraskande få studier har gjorts för att avgöra hur pass jordburen denna bakterie är. Det vore positivt om fler studier gjordes, för att kunna avgöra dess överlevnadsförmåga med större säkerhet. Även studier baserade på fler observationer, kan vara bra för att öka resultatets trovärdighet. En av studierna – Oduro 1975 – har till exempel gjorts i väldigt begränsad omfattning, med bara en kruka per behandling. Fler försök skulle behöva göras med ett liknande upplägg för att se om försöket kan upprepas med liknande resultat.

De studier som gjorts har många gånger fått olika resultat, även om det verkar finnas ett samband mellan närvaro av ej nedbrutet växtmaterial eller fuktighetsnivå och längden på överlevnaden. Genom att genomföra fler studier kan tidigare resultat valideras och få större trovärdighet.

Ett frustrerande problem som uppstått under processen till denna litteraturstudie är att flera artiklar anger ett överlevnadsintervall hos *R. fascians*, utan att redovisa i vilken kontext bakterien överlevt, och ibland inte heller källan till informationen. Detta kan vara ”farligt” då information genom detta möjligen kan spridas utan att den är verifierad – vilket kan bilda en felaktig uppfattning om bakterien.

Många studier finns ej online, och beställning av fysiska kopior har varit nödvändigt. I de flesta fall har beställningar kommit fram bara efter ett några dagar, men ibland innebär det ett dröjsmål på närmare två veckor. I fallet av en beställning inväntas leverans fortfarande – ca 30 arbetsdagar efter beställning...

Studier gjorda på språk utöver svenska eller engelska har översatts via ”Google translate” samt AI, vilket kan medföra att viktig information går förlorad vid översättningen. För att undvika detta har flera översättningsredskap använts, och översättningarna korsrefererats.

5. Slutsats

5.1. Vad anses vara de bakomliggande orsakerna till att symptom utvecklas hos värdväxter till *R. fascians*?

Vid angrepp inducerar *R. fascians* en hormonell obalans hos värdväxten genom att syntetisera cytokinin och eventuellt auxin. Dessa hormoner kan leda till förändringar i de ämnen som växten själv syntetiserar, vilket kan leda till morfologiska förändringar. Värdväxter verkar ha svårare att hantera bakteriellt syntetiserade ämnen, varvid dessa kan ackumuleras i växten och leda till morfologiska förändringar i växten. Symptomutvecklingen är komplex, och kan involvera flera ämnen som ännu ej är identifierade.

R. fascians patogenicitet är troligen avhängande på närvaro av en virulent plasmid, eftersom gener för patogenicitet finns på denna plasmid. Vissa isolat är dock patogena trots avsaknad av plasmid, varvid teorin utmanas. Eventuellt kan patogenicitetsgenerna överförts från plasmid till bakteriekromosom genom överföring av DNA.

Det är troligt att *R. fascians* inducerar symptom hos värdväxter i sitt endofytiska stadiet, då flertalet studier påvisat detta. Vissa forskare anser dock att symptom uppstår i det epifytiska stadiet.

5.2. Kan *R. fascians* överlevnadsförmåga i jord fastställas, baserat på tidigare utförda studier?

R. fascians överlevnadsförmåga i jord kan inte fastställas med säkerhet, då det finns vissa osäkerheter att beakta. Majoriteten av studierna visar dock att *R. fascians* har en begränsad förmåga att överleva i bar jord, och av bakteriepopulationerna fanns oftast endast spårämnen kvar inom sju månader.

Studier visar att överlevnadsförmågan i jord hos *R. fascians* kan påverkas av temperatur, bakteriestam, tillgång till icke-nedbrutet växtmaterial, jorddjup och fuktighetsnivå i jorden. Andra faktorer som vanligen påverkar jordlevande bakterier är även syretillgång och konkurrens från andra organismer.

R. fascians sprids främst via vegetativ förökning av växter, snarare än genom kontaminerad jord. Bakterien kommer troligtvis inte överleva längre perioder i en jord som hålls fri från levande växter och icke-nedbrutet växtmaterial.

I framtida forskning hade det varit intressant att undersöka hur pass olika stammar av *R. fascians* frambringar olika resultat kring överlevnadsförmåga i jord, hur överlevnadsförmågan ser ut i ett vinterklimat, samt hur mängd och grad av icke-nedbrutet växtmaterial påverkar överlevnadsförmågan hos *R. fascians*.

Referenser

- Bell, K.S., Philp, J.C., Aw, D.W.J. & Christofi, N. (1998). The genus *Rhodococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85, 195-210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00525.x>
- Boylen, C.W. & Mulks, M.H. (1978). The Survival of Coryneform Bacteria during Periods of Prolonged Nutrient Starvation. *Microbiology*, 105(2), 323-334. <https://doi.org/10.1099/00221287-105-2-323>
- Britannica (2022). *Actinomycete*. <https://www.britannica.com/science/actinomycete> [2024-03-21]
- Brown, N.A. (1927). Sweet pea fasciation, a form of crown gall. *Phytopathology*, 17, 29–32.
- Burges, A. & Raw, F. (1967). *Soil Biology*. Academic Press.
- CDFa (2022). *Rhodococcus fascians*, *Pest Rating Proposals and Final Ratings*. <https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/?p=825> [2024-03-25]
- Clark, D.P., Pazdernik, N.J. & McGehee, M.R. (2019). Plasmids. I: Clark, D.P., Pazdernik, N.J. & McGehee, M.R. (red.) *Molecular Biology*, 3 uppl., Academic Cell. 712-748. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00023-9>
- Cornelis, K., Maes, T., Jaziri, M., Holsters, M. & Goethals, K. (2002). Virulence genes of the phytopathogen *Rhodococcus fascians* show specific spatial and temporal expression patterns during plant infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15, 398–403. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.4.398>
- Creason, A.L., Davis II, E.W., Putnam, M.L., Vandeputte, O.M., & Chang, J.H. (2014a). Use of whole genome sequences to develop a molecular phylogenetic framework for *Rhodococcus fascians* and the *Rhodococcus* genus. *Frontiers in Plant Science*, 5(406), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00406>
- Creason, A.L., Vandeputte, O.M., Savory, E.A., Davis II, E.W., Putnam, M.L., Hu, E., Swader-Hines, D., Mol, A., Baucher, M., Prinsen, E., Zdanowska, M., Givan, S.A., El Jaziri, M., Loper, J.E., Mahmud, T. & Chang, J.H. (2014b). Analysis of Genome Sequences from Plant Pathogenic *Rhodococcus* Reveals Genetic Novelty in Virulence Loci. *PLOS ONE*, 9(7), e101996. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101996>
- Costacurta, A., & Vanderleyden, J. (1995). Synthesis of Phytohormones by Plant-Associated Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 21(1), 1–18. <https://doi.org/10.3109/10408419509113531>
- Depuydt, S., Putnam, M., Holsters, M. & Vereecke, D. (2008). *Rhodococcus fascians*, an emerging threat for ornamental crops. I: Teixeira da Silva, J.A. (red.) *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues*, volume V. Global Science Books. 480-489.

- Depuydt, S., Tenkamp, S., Fernie, A.R., Elftieh, S., Renou J-P., Vuylsteke, M., Holsters, M. & Vereecke, D. (2009). An integrated genomics approach to define niche establishment by *Rhodococcus fascians*. *Plant Physiology*, 149, 1366–1386. <https://doi.org/10.1104/pp.108.131805>
- Dhandapani, P., Song, J., Novak, O. & Jameson, P.E. (2017). Infection by *Rhodococcus fascians* maintains cotyledons as a sink tissue for the pathogen. *Annals of Botany*, 119, 841–852. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw202>
- Dhandapani, P., Song, J., Novak, O. & Jameson, P.E. (2018). Both epiphytic and endophytic strains of *Rhodococcus fascians* influence transporter gene expression and cytokinins in infected *Pisum sativum* L. seedlings. *Plant Growth Regulation*, 85(2), 231–242. <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0387-3>
- Dhaouadi, S., Mougou, A.H. & Rhouma, A. (2020). The plant pathogen *Rhodococcus fascians*. History, disease symptomatology, host range, pathogenesis and plant-pathogen interaction. *Annals of Applied Biology*, 177(1), 4-15. <https://doi.org/10.1111/aab.12600>
- Dowson, W.J. (1942). On the generic name of the gram-positive bacterial plant pathogens. *Transactions of the British Mycological Society*, 25, 311–314. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(42\)80020-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(42)80020-0)
- Eason, J.R., Jameson, P.E. & Bannister, P. (1995). Virulence assessment of *Rhodococcus fascians* strains on pea cultivars. *Plant pathology*, 44, 141–147.
- Eason, J.R., Morris, R.O. & Jameson, P.E. (1996). The relationship between virulence and cytokinin production by *Rhodococcus fascians* (Tilford 1936) Goodfellow 1984. *Plant pathology*, 45(2), 323-331. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-130.x>
- Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. (2013). *Raven Biology of Plants*. 8 uppl., W. H. Freeman, Macmillan.
- Faivre-Amiot, A. (1967). Quelques observations sur la présence de *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson dans les cultures maraichères et florales en France. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 16, 165–176.
- Fichtner, E.J., Mahvelati, N., Facundo, H., Kapaun, T., Francis, I. & Randall, J. (2018). *Soil Survival, Root Infectivity, and Management of Rhodococcus spp. Causing Pistachio Bushy Top Syndrome*. [Faktablad]. American Pistachio Growers. https://americanpistachios.org/sites/default/files/inline-files/2.%20Soil%20Survival_Edited%2001-03-2018.pdf [2024-05-07]
- Francis, I., De Keyser, A., De Backer, P., Simón-Mateo, C., Kalkus, J., Pertry, I., Ardiles-Diaz, W., De Rycke, R., Vandeputte, O.M., El Jaziri, M., Holsters, M. & Vereecke, D. (2012). pFiD188, the linear virulence plasmid of *Rhodococcus fascians* D188. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 25(5), 637–647. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0215>
- Francis, I.M., Stes, E., Zhang, Y., Rangel, D., Audenaert, K. & Vereecke, D. (2016). Mining the genome of *Rhodococcus fascians*, a plant growth-promoting bacterium gone astray. *New Biotechnology*, 33(5, Part B), 706–717. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.01.009>

- Goethals, K., Vereecke, D., Jaziri, M., Van Montagu, M. & Holsters, M. (2001). Leafy gall formation by *Rhodococcus fascians*. *Annual Review of Phytopathology*, 39(1), 27–52.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.27>
- Goodfellow, M. (1984). Reclassification of *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson in the Genus *Rhodococcus*, as *Rhodococcus fascians* comb. Nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 5(2), 225-229.
[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(84\)80023-5](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(84)80023-5)
- Gordon, M.I., Thomas, W.J. and Putnam, M.L. (2024). Transmission and Management of Pathogenic *Agrobacterium tumefaciens* and *Rhodococcus fascians* in Select Ornamentals. *Plant Disease*, 108(1), 50–61.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-22-2557-RE>
- van Hoof, H.A., Huttinga, H., Knaap, A., Maas Geesteranus, H.P., Mosch, W.H.M. & de Raay-Wieringa, D.G.J. (1979). Tumours of Begonia and some other ornamentals, induced by *Corynebacterium fascians*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 85(3), 87–98.
<https://doi.org/10.1007/BF01982971>
- Hultberg, M. (2014). Växtpatogena bakterier. I: Nilsson, U., Kärnestam, E. & Sandskär, B. (red.) *Växtskyddets grunder*. Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för Växtskyddsbiologi. 61–70.
<https://publications.slu.se/?file=publ/show&id=65628> [2024-04-02]
- Jacobs, S.E. & Mohanty, U. (1951). Studies in bacteriosis, XXVII: Factors influencing infection by *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson. *Annals of applied biology*, 38, 237-245. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1951.tb07800.x>
- Jameson, P.E. (2019). Virulent *Rhodococcus fascians* Produce Unique Methylated Cytokinins. *Plants*, 8(12), 582. <https://doi.org/10.3390/plants8120582>
- Kawaka, F. (2022). Characterization of symbiotic and nitrogen fixing bacteria. *AMB Express*, 12, 99. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01441-7>
- Kudoyarova, G.R., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V., Timergaina, L.N., Arkhipova, T.N., Shendel, G.V., Kuz'mina, L.Y. & Dodd, I.C. (2014). Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83, 285–291.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.015>
- Lacey, M.S. (1939). Studies on a bacterium associated with leafy galls, fasciations and “cauliflower” disease of various plants. Part III. Further isolations, inoculation experiments and cultural studies. *Annals of Applied Biology*, 26, 262–78.
- Ludwig-Müller, J. (2014). Auxin and the interaction between plants and microorganisms. I: Zazimalova, E., Petrasek, J. & Benkova, E. (red.) *Auxin and its role in plant development*. Springer. 413-434.
<https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1526-8>
- Miller, H.J., Janse, J.D., Kamerman, W. & Muller, P.J. (1980). Recent observations on leafy gall in Liliaceae and some other families. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 86, 55–68.
<https://doi.org/10.1007/BF01974335>

- Mwansa, Å. (2023). Uppsving för snittblommor – då startade Therese självplock: ”Är superroligt”. *Nya Lidköpings-Tidningen*, 19 september.
<https://www.nlt.se/2023/09/16/uppsving-for-snittblommor-da-startade-therese-sjalvplock-ar-superroligt-3396f/> [2024-05-06]
- Naskovic, J. (2021). Visar upp över 50 sorters dahlior: ”Blivit ett uppsving för Varnhem”. *Skaraborgs Allehanda*, 22 augusti.
<https://www.sla.se/2021/08/22/visar-upp-over-50-sorters-dahlior-blivit-ett-uppsving-for-varnhem-db833/> [2024-05-06]
- Nikolaeva, E.K., Park, S-Y., Kang, S., Olson, T.N. & Kim, S.H. (2009). Ratios of Cells With and Without Virulence Genes in *Rhodococcus fascians* Populations Correlate with Degrees of Symptom Development. *Plant disease*, 93(5), 439-555. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-5-0499>
- Oduro, K.A. (1975). Factors affecting epidemiology of bacterial fasciation of *Chrysanthemum maximum*. *Phytopathology*, 65, 719–721.
https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1975Articles/Phyto65n06_719.pdf [2024-03-21]
- Paulsson, J. (2023). Dahlior är höstens hjältar. *Laholms tidning*, 17 oktober.
<https://laholmstidning.se/kronikor/dahlior-ar-hostens-hjaltar/2768> [2024-05-06]
- Pertry, I., Václavíková, K., Depuydt, S. & Vereecke, D. (2009). Identification of *Rhodococcus fascians* cytokinins and their modus operandi to reshape the plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(3), 929–934.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0811683106>
- Putnam, M.L. (2014) Demystifying *Rhodococcus fascians*: Prevention is the grower’s best defense against this tenacious pathogen. *Digger*, 33–37.
https://bpp.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/bpp/attachments/digger_201402_pp33-37_osu.pdf [2024-03-25]
- Putnam, M.L. (2018). Treating and tracking the intractable *Rhodococcus*. *Digger magazine*, 27–29. <https://diggermagazine.com/treating-rhodococcus/> [2024-03-28]
- Putnam, M.L. & Miller, M.L. (2007). *Rhodococcus fascians* in Herbaceous Perennials. *Plant Disease*, 91(9), 1064–1076.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-91-9-1064>
- Reid, G. & Wong, P. (2005). *Soil bacteria*. [Faktablad]. Soil biology basics. State of New South Wales Department of Primary Industries.
https://www.dpi.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0017/41642/Soil_bacteria.pdf [2024-04-02]
- Savory, E.A., Fuller, S.L., Weisberg, A.J., Thomas, W.J., Gordon, M.I., Stevens, D.M., Creason, A.L., Belcher, M.S., Serdani, M., Wiseman, M.S., Grünwald, N.J., Putnam M.L. & Chang, J.H. (2017). Evolutionary transitions between beneficial and phytopathogenic *Rhodococcus* challenge disease management. *eLife*, 6, e30925.
<https://doi.org/10.7554/eLife.30925>
- Stange, R.R., Jeffares, D., Young, C., Scott D.B., Eason, J.R. & Jameson, P.E. (1996). PCR amplification of the *fas-1* gene for the detection of virulent strains of *Rhodococcus fascians*. *Plant Pathology*, 45(3), 407–417.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-154.x>

- Stes, E., Francis, I., Pertry, I., Dolzblasz, A., Depuydt, S. & Vereecke, D. (2013). The leafy gall syndrome induced by *Rhodococcus fascians*. *FEMS Microbiology Letters*, 342(2), 187–195. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12119>
- Stes, E., Prinsen, E., Holsters, M., & Vereecke, D. (2012). Plant-derived auxin plays an accessory role in symptom development upon *Rhodococcus fascians* infection. *The Plant Journal*, 70(3), 513–527. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04890.x>
- Sun, L., Wang, S., Prabhu Narsing Rao, M., Shi, Y., Lian, Z-H., Jin, P-J., Wang, W., Li, Y-M., Wang, K-K., Banerjee, A., Cui X-Y. & Wei, D. (2023). The shift of soil microbial community induced by cropping sequence affect soil properties and crop yield. *Frontiers in Microbiology*, 14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1095688>
- Tilford, P.E. (1936). Review of Fasciation of sweet peas caused by *Phytoplasma fascians* n. sp. (Fasciazione del pisello odoroso dovuta a *Phytoplasma fascians* n. sp.). *Rivista di Patologia Vegetale*, 27(1/2), 38–39.
- Vandeputte, O., Öden, S., Mol, A., Vereecke, D., Goethals, K., El Jaziri, M & Prinsen, E. (2005). Biosynthesis of Auxin by the Gram-Positive Phytopathogen *Rhodococcus fascians* Is Controlled by Compounds Specific to Infected Plant Tissues. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3), 1169–1177. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.3.1169-1177.2005>
- Vereecke, D., Burssens, S., Simón-Mateo, C., Inzé, D., Van Montagu, M., Goethals, K. & Jaziri, M. (2000). The *Rhodococcus fascians*-plant interaction: morphological traits and biotechnological applications. *Planta*, 210(2), 241–251. <https://www.jstor.org/stable/23385865?seq=1>
- Vereecke, D., Fichtner, E.J., Lambert, P.Q., Cooke, P., Kilcrease, J., Stamler R.A., Zhang, Y., Francis, I.M. & Randall, J.J. (2021). Colonization and survival capacities underlying the multifaceted life of *Rhodococcus* sp. PBTS1 and PBTS2. *Plant Pathology*, 70(3), 567–583. <https://doi.org/10.1111/ppa.13307>
- Åkesson, I. (1993). *Rotkräfta och knippebakterios*. [Faktablad]. Faktablad om växtskydd – trädgård 18 T. Sveriges lantbruksuniversitet. https://pub.epsilon.slu.se/18149/1/%C3%85kesson_I_201109.pdf [2024-03-21]

Bilaga 1

Värdväxter till *Rhodococcus fascians*:

Växtfamilj	Vetenskapligt namn	Svenskt namn
<i>Acanthaceae</i>	<i>Acanthus mollis</i>	Mjukakantus
<i>Apocynaceae</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	Rosensköna
<i>Asteraceae</i>	<i>Chamaemelum nobile</i>	Romersk kamomill
<i>Asteraceae</i>	<i>Artemisia annua</i>	Sommarmalört
<i>Asteraceae</i>	<i>Chrysanthemum spp.</i>	Krysantemumsläktet
<i>Asteraceae</i>	<i>Dahlia spp.</i>	Dahlialäktet
<i>Asteraceae</i>	<i>Helianthus annuus</i>	Solros
<i>Asteraceae</i>	<i>Argyranthemum spp.</i>	Margeritläktet
<i>Asteraceae</i>	<i>Aster × frikartii</i>	Kokardaster
<i>Asteraceae</i>	<i>Coreopsis spp.</i>	Ögonblomssläktet
<i>Asteraceae</i>	<i>Cosmos atrosanguineus</i>	Chokladskära
<i>Asteraceae</i>	<i>Heliopsis helianthoides</i>	Dagöga
<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemum × superbum</i>	Jätteprästkra
<i>Asteraceae</i>	<i>Tagetes erecta</i>	Stor tagetes
<i>Asteraceae</i>	<i>Tagetes patula</i>	Sammetstagetes
<i>Asteraceae</i>	<i>Tanacetum coccineum</i>	Rosenkra
<i>Balsaminaceae</i>	<i>Impatiens walleriana</i>	Flitiga Lisa
<i>Begoniaceae</i>	<i>Begonia × tuberhybrida</i>	Knölbegonia
<i>Brassicaceae</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Backtrav
<i>Brassicaceae</i>	<i>Erysimum × marshallii</i>	Sommarkårel
<i>Brassicaceae</i>	<i>Erysimum cheiri</i>	Gyllenlack
<i>Brassicaceae</i>	<i>Erysimum asperum</i>	Präriekårel
<i>Brassicaceae</i>	<i>Iberis gibraltarica</i>	Gibraltariberis
<i>Brassicaceae</i>	<i>Iberis sempervirens</i>	Vinteriberis
<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanula × 'Saraastro'</i>	Blåklocka
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Viburnum opulus</i>	Skogsolvon
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Gypsophila paniculata</i>	Brudslöja
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Trädgårdsnejlika
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Dianthus barbatus</i>	Borstnejlika
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>	Purpurvinda
<i>Crassulaceae</i>	<i>Kalanchoe blossfeldiana</i>	Våreld
<i>Crassulaceae</i>	<i>Phedimus spurius</i>	Kaukasiskt fetblad
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	Julstjärna
<i>Fabaceae</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	-
<i>Fabaceae</i>	<i>Lathyrus odoratus</i>	Luktärt
<i>Geraniaceae</i>	<i>Pelargonium × hortorum</i>	Zonalpelargon
<i>Geraniaceae</i>	<i>Pelargonium zonale</i>	Hästskopelargon
<i>Geraniaceae</i>	<i>Pelargonium domesticum</i>	Engelsk pelargon

<i>Iridaceae</i>	<i>Gladiolus spp.</i>	Gladiolsläktet
<i>Liliaceae</i>	<i>Gloriosa spp.</i>	Klängliljesläktet
<i>Liliaceae</i>	<i>Hosta spp.</i>	Funkiasläktet
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium longiflorum</i>	Trumpetlilja
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium regale</i>	Kungslilja
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium speciosum</i>	Praktlilja
<i>Liliaceae</i>	<i>Tulipa gesneriana</i>	Tulpan
<i>Malvaceae</i>	<i>Alcea rosea</i>	Stockros
<i>Malvaceae</i>	<i>Lavatera spp.</i>	Sommarmalvesläktet
<i>Onagraceae</i>	<i>Fuchsia spp.</i>	Fuchsiasläktet
<i>Onagraceae</i>	<i>Gaura spp.</i>	Sommarljussläktet
<i>Onagraceae</i>	<i>Oenothera berlandieri</i>	-
<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaver somniferum</i>	Opievallmo
<i>Poaceae</i>	<i>Zea mays</i>	Majs
<i>Polemoniaceae</i>	<i>Phlox spp.</i>	Floxsläktet
<i>Primulaceae</i>	<i>Primula spp.</i>	Vivesläktet
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Consolida ajacis</i>	Romersk riddarsporre
<i>Salicaceae</i>	<i>Populus tremula × O. alba</i>	Asp
<i>Saxifragaceae</i>	<i>Heuchera sanguinea</i>	Blodalunrot
<i>Saxifragaceae</i>	<i>Tiarella sp.</i>	Spetsmössesläktet
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Antirrhinum majus</i>	Lejongap
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Digitalis lanata</i>	Grekisk fingerborgsblomma
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Nemesia spp.</i>	Nemesiasläktet
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Verbascum spp.</i>	Kungsljussläktet
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Veronica spicata</i>	Axveronika
<i>Solanaceae</i>	<i>Atropa belladonna</i>	Belladonna
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	-
<i>Solanaceae</i>	<i>Schizanthus spp.</i>	Fjärilsblomstersläktet
<i>Solanaceae</i>	<i>Nierembergia spp.</i>	Niembergiasläktet
<i>Solanaceae</i>	<i>Petunia sp.</i>	Petuniasläktet
<i>Tropaeolaceae</i>	<i>Tropaeolum majus</i>	(Indian-)Krasse
<i>Verbenaceae</i>	<i>Verbena spp.</i>	Verbenasläktet
<i>Violaceae</i>	<i>Viola spp.</i>	Violsläktet

