



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds-
och växtproduktionsvetenskap

Effekten av sockerbetsextrakt (SBE) och hormonreglering i sjukdomsutveckling av stjälkbakterios i potatis, *Solanum tuberosum*, orsakad av *Dickeya solani*

The effects of sugar beet extract (SBE) and hormone regulation in disease
development of blackleg in potato, *Solanum tuberosum*,
caused by *Dickeya solani*

Stefan Hulthenius

Effekten av sockerbetsextrakt (SBE) och hormonreglering i sjukdomsutveckling av stjälbakterios i potatis, *Solanum tuberosum*, orsakad av *Dickeya solani*

The effects of sugar beet extract (SBE) and hormone regulation on disease development of blackleg in potato, *Solanum tuberosum*, caused by *Dickeya solani*

Författare: Stefan Hultenius

Handledare: Per Mühlenbock, Forskare/PhD, Resistensbiologi

Bitr. handledare: Erik Andreasson, Professor, Resistensbiologi

Examinator: Erland Liljeröth, Professor/Docent, Resistensbiologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Kandidatarbete i biologi

Kurskod: EX0493

Program/utbildning: Trädgårdsingenjör: odling – kandidatprogram

Examen: *Trädgårdsingenjör, kandidatexamen i biologi*

Ämne: Biologi EX0493

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsmånad och -år: April 2014

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Stjälbakterios, *Dickeya solani*, sockerbetsextrakt

Förord

Ett stort tack till min handledare Per Mühlenbock som har stöttade mig med ett handfast handledarskap. Tack till Dharani Burra och till alla andra på Horticum som stötta mig under examensarbetet. Alla ni har bidragit med kunskap och arbetsglädje under examensarbetets gång. Jag vill även tacka Klara Asp för ett givande och grundligt utfört opponentsarbete.

Sammanfattning

Själkbakterios är ett svårbehandlat problem som orsakar ökande skördeföruster av potatis i Sverige och Europa. Sedan 2005 har den nyligen upptäckta patogenen *Dickeya solani* spridits genom Europa via handel med sättknölar och orsakat ökande ekonomiska förluster. Under kommande år kan *D. solani* ge större skador till följd av klimatförändringar, då *D. solani* är mer aggressiv i högre temperaturer. Att kunna aktivera växtens försvar genom inducerad resistens kan vara ett miljövänligt alternativt medel att bekämpa själkbakterios. Ett sådant medel kan vara sockerbetsextrakt (SBE) som är en biprodukt från sockerproduktion. SBE har i tidigare försök på potatis som infekterats med oomyceten *Phytophthora infestans*, som orsakar potatisbladmögel, visat sig inducera försvaret i potatis. Detta resulterade i en signifikant reduktion av storleken på sjukdomssymptom. I det här försöket har SBE's försvarsinducerande effekt testats mot *D. solani* på fem olika potatiskloner. De potatiskloner som användes var den selekterade förädlingsklonen SW93-1015, den kommersiellt odlade Desirée, samt två transgena kloner av Desirée som bar NahG-genen eller ett RNAi konstrukt för *coi1*-genen.

Syftet med att använda de två transgena sorterna i försöket var för att undersöka om NahG och COI1 generna påverkade resistensen i växten mot *D. solani*, eftersom det är gener som reglerar salicylsyra och jasmonsyra-beroende responser. Försöket visade att SBE inte gav signifikant förbättrad resistens på alla klonerna i försöket mot *D. solani*. Dock visade den SBE-behandlade Desirée klonen signifikant förbättrad resistens jämfört med den obehandlade Desirée klonen. Alla klonerna av obehandlade NahG och *coi1* visade signifikant mindre lesion än Desirée.

Abstract

Blackleg is an intractable problem that causes increased yield losses of potato in Sweden and Europe. Since 2005, the newly discovered pathogen *Dickeya solani* has spread through Europe via trade in potato tubers and has caused increasing economic losses. It is predicted that *D. solani* in the future will cause even greater damage due to climate change, *Dickeya solani* is more aggressive at higher temperatures. Being able to activate the plant's own defense by induced resistance may be an environmentally friendly alternative means to combat blackleg. Such agents may be sugar beet extract (SBE) which originates from a by-product from sugar production. SBE has in previous experiments on potatoes infected with the oomycete *Phytophthora infestans* causing late blight been shown to induce the defense of potatoes. This has resulted in a significant reduction of the size of infection wounds. In this experiment, the SBE's defense inducing effect has been tested against *D. solani* on five different potato clones. The potato clones used were - the breeding clone SW93-1015, the variety Desirée, and two transgenic clones of Desirée with a NahG gene or an RNAi construct for *coi1* gene.

The purpose of using the two transgenic varieties in the experiment was to investigate whether NahG and COI1 genes affected resistance in the plant against *D. solani*, as they are genes that regulate salicylic acid and jasmonic acid-dependent responses. The experiment showed that the SBE did not yield significantly improved resistance to all the clones in the trial against *D. solani*. However, it showed that the SBE treated Desirée clone significantly improved resistance compared to the untreated Desirée clone. All clones of untreated NahG and *coi1* showed significantly smaller lesions than Desirée.

Innehållsförteckning

Förkortningar.....	1
Introduktion.....	2
Stjälkbakterios	2
<i>Dickeya solani</i>	3
Resistens	5
Ämnen som kan inducera försvar i växten	7
Sockerbetsextrakt (SBE)	8
Material och metoder	10
Metod för att extrahera sockerbetsextrakt (SBE)	10
Odling av <i>Dickeya solani</i> bakterier	11
Växtmaterial	11
Växtodling	11
SBE-behandling	12
Infektion	12
Avläsning	12
Statistiska analys	13
Resultat.....	14
Frågeställning 1: Påverkar SBE resistensen generellt i klonerna?	15
Frågeställning 2: Påverkar SBE resistensen i en enskild klon?	17
Frågeställning 3: Påverkar NahG resistensen i potatis?	18
Frågeställning 4: Påverkar COI1 resistensen i potatis?	20
Diskussion	21
Referenser.....	23

Förkortningar

ET = Eten

ETI = Effektorutlöst immunitet

ETS = Effektorutlöst känslighet

CFU = (Colony Forming Units)

HPLC = Vätskekromatografi

HR = Hypersensitiv respons

IBA = Indol-3-smörsyra

ISR = Inducerad systemisk resistens

JA = Jasmonsyra

NB-LRR = (Nucleotide Binding domain (NB) and a Leucine Rich Repeat (LRR) domain)

PAMP = Patogen-associerade molekylära mönster

PRR = Mönsterigenkännings-receptorer

PTI = PAMP-utlöst immunitet

SA = Salicylsyra

SAR = Systemiskt förvärvad resistens

SBE = Sockerbetsextrakt

Introduktion

Stjälkbakterios

Sjukdomen stjälkbakterios orsakar betydliga ekonomiska förluster i potatisodlingar (Pérombelon 2002), och är ett svårbehandlat problem som orsakar ökande skördeförluster i Europa (Czajkowski et al. 2010a). Stjälkbakterios karakteriseras av svart nekros i stjälkar av potatis (Czajkowski et al. 2010a), och sprids oftast genom kontaminerat utsäde, där de orsakar blötröta (Helias et al. 2000).

Stjälkbakterios orsakas av de pektolytiska bakterierna: *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, och *Dickeya* spp. (Czajkowski et al. 2010b; Toth et al. 2011). I tempererade områden är dessa de huvudsakliga källorna till stjälkbakterios. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* som har ett brett antal värdväxter, men *P. atrosepticum* är begränsad till att endast kunna infektera potatis (Mansfield et al. 2012).

Stjälkbakterios-bakterier kan finnas i växten i vilotillstånd utan att orsaka sjukdomssymptom (Pérombelon 1992).

Gynnsamma förhållanden som hög luftfuktighet och temperatur är nödvändigt för uppkomsten och utvecklingen av symptom. (Toth et al. 2003; Pérombelon 1992; Pérombelon & Kelman 1980). De stjälkbakterios-orsakande bakterierna producerar en mängd cellväggsnedbrytande enzymer som bidrar till nedbrytning av växtvävnader (Barras et al. 1994). Dessa enzymer bryter ned olika polysackarider, främst pektin som är vanligast förekommande polysackariden i primärcellväggarna (Hassan & Hugouvieux-Cotte-Pattat 2011). Detta genererar näringsämnen för bakterien (Hugouvieux-Cotte-Pattat & Charaoui-Boukerzaza 2009). Symptomen på växten blir vanligtvis vissnande blad, vävnadsnekros och svartnad eller missfärgad stam (Mattinen et al. 2008). Fullständig nekros av stam och rotknölar kan ske vid framskridna stadier av sjukdomen.

Flera försök på tillvägagångssätt för att få kontroll och minska stjälkbakterios och blötröta på potatis har utprovats utan att helt ha lyckats (Czajkowski et al. 2011). Metoder för att undvika kontamination och patogensäkrad certifikation på utsäde är vida utbredd och har varit delvis framgångsrika. Både fysikaliska och kemiska metoder har utprovats, men med begränsad framgång hittills (Czajkowski et al. 2011). Immunitet mot blötröta eller stjälkbakterios hos de kommersiella sorterna av potatis har inte påträffats, men ett par sorter har upptäckts ha en viss

grad av resistens (Czajkowski et al. 2011). Försök på att förädla potatis för resistans mot stjälbakterios har än så länge misslyckats, genetisk modifiering verkar lovande. I Europa är det dock sett som komplicerat att införa gener i grödor från inte korsningsbara arter för att förbättra grödans kvalitet (Czajkowski et al. 2011).

Dickeya solani

Dickeya spp. (Samson et al. 2005), kallades tidigare *Pectobacterium chrysanthemi* (Hauben et al. 1998) eller *Erwina chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953).

Dickeya spp. orsakar en mer aggressiv sjukdomsutveckling än *P. atrosepticum* och har upptäckts över hela Europa (Toth et al. 2011) och orsakar stor ekonomisk skada på olika växter världen över (Samson et al. 2005). *Dickeya* spp. orsakar stjälskröta på ett antal olika växter, som potatis, tomat, och cikoria (Czajkowski et al. 2011). Typiska symptom av stjälbakterios av *Dickeya* spp. är avbildade i Figur 1.



Figur 1. Symptom av stjälbakterios av *Dickeya* spp.

I släktet *Dickeya* har *Dickeya dianthicola* varit misstänkt som den huvudsakliga skadegöraren på potatis i Europa i över 40 år (Toth et al. 2011). Sedan 2005 har en akut ökning av den mer aggressiva *Dickeya* stammen *Dickeya solani* resulterat i ökade skördeförluster på potatis och därmed bidragit till större ekonomiska förluster. *D. solani* har spridits tvärs över Europa via

handel av utsäde. (Toth et al. 2011). *D. solani* har upptäckts i flera olika länder som Holland, Finland, Polen, Tyskland, Belgien, Frankrike, och Sverige (Toth et al. 2011).

Studier från Finland visade att isolat av *D. solani* var den mest variabla i aggressivitet i *in vitro*-försök jämfört med andra arter (Laurila et al. 2008). Försöket visade att *D. solani*-stammar var mer aggressiva än isolat av *D. dianthicola*-stammar på knölar och stjälkar vid 22-23 °C. Isolat av *D. solani* från Israel var i ett annat försök i Israel mycket aggressiv på potatisstjälkar vid dagstemperatur på 28-30 °C, medan *P. astrosepticum* inte orsakade sjukdomssymtom under dessa omständigheter (Tsrör et al. 2009).

Dickeya-bakterier kan leva som epifyter eller som saprofyter i jorden och i grundvattnet tills de möter en mottaglig värd (Aoki et al. 2013). *D. solani* kan därifrån kolonisera rötter på potatisplantor i jorden inom en dag, oavsett om det förekommer rotskador eller inte (Czajkowski et al. 2010b). Stammar av *Dickeya* spp. har blivit isolerade från älvar i södra Sverige (Persson 1991) och i många andra länder som Finland (Laurila 2007). I Europa har det varit lite eller ingen korrelation mellan *Dickeya* spp. från flodvatten och fynd på potatis. I Australien däremot har bevattning varit en trolig källa till infektion av stjälbakterios på potatis (Cothier & Gilbert 1990). *Dickeya*-bakterien kan även infektera insekter, vilka kan fungera som vektorer för spridning av *Dickeya*-bakterien till andra växter (Grenier et al. 2006).

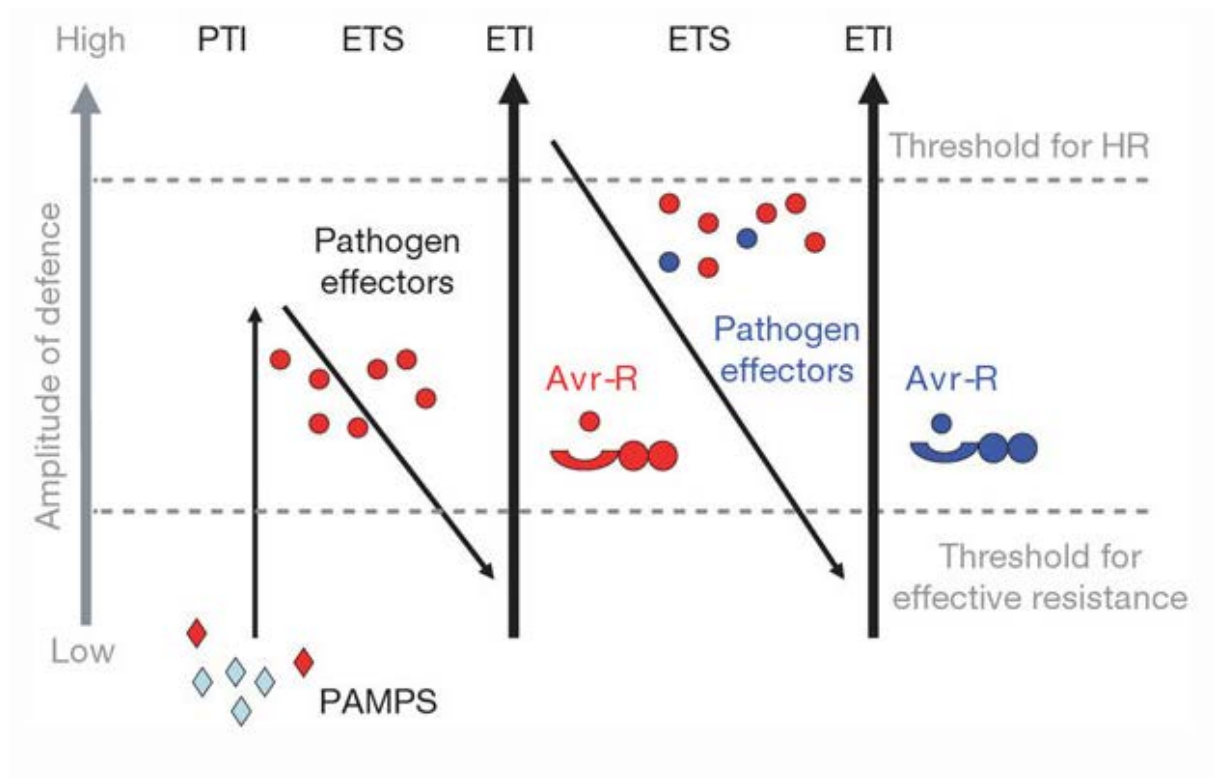
Resistens

I naturliga habitat är växter omgivna av enormt många potentiella fiender. Nästan alla ekosystem rymmer en stor variation av bakterier, svampar, virus, nematoder, insekter, kvalster, däggdjur och andra växtätande djur (Taiz & Zeiger 2006). Växter är i normalfallet resistent, det vill säga motståndskraftiga mot de allra flesta växtpatogener (Sandström & Twengström 2002). Det är endast få av alla dessa patogena bakterier, svampar, virus med mera som kan angripa ett visst växtslag (Sandström & Twengström 2002).

För att växter ska kunna skydda sig själva mot skador från patogener så har de utvecklat olika konstitutiva och inducerande försvarsstrategier (Dangl & Jones 2001).

Det konstitutiva försvaret i växter är till exempel vaxartad kutikula och antimikrobiella föreningar (Dangl & Jones 2001). Växtpatogener kan grovt sett delas in i nekrotrofa och biotrofa patogener. De nekrotrofa patogenerna dödar värden för att få näring medan de biotrofa kräver en levande värd för att slutföra sin livscykel.

Eftersom växter till skillnad från däggdjur saknar mobila försvarsceller så förlitar de sig på immunförsvaret i varje cell samt systemiska signaler som kommer från infektionsplatserna (Chisholm et al. 2006, Dangl & Jones 2001). Dagens bild av växtens immunsystem har förklarats med en sicksack-modell med fyra faser (Figur 2) (Jones & Dangl 2006). Modellen visar i fas 1 patogen-associerade molekyllära mönster (PAMPs) som igenkänns av transmembrana mönsterigenkännings-receptorer (PRR). Detta resulterar i en PAMP-utlöst immunitet (PTI) som effektivt hindrar koloniseringen av patogenen. I fas 2 kan framgångsrika patogener utveckla effektorer som bidrar till ökad virulens hos patogenen. Effektorerna kan här störa PTI, vilket resulterar i en effektorutlöst känslighet (ETS) (Chisholm et al. 2006, Jones & Dangl 2006). En effektor kan bli i fas 3 i gengäld igenkänd av en av växtcellens NB-LRR proteiner som resulterar i effektorutlöst immunitet (ETI) (Jones & Dangl 2006). ETI ger en starkare och snabbare PTI respons som resulterar i resistens och vanligtvis en hypersensitiv respons (HR), en typ av programmerad celldöd. Den naturliga selektionen får i fas 4 patogenen att undvika ETI genom att diversifiera den igenkända effektorgenen, eller förvärva andra effekterheter som hämmar ETI.



Figur 2. Sicksack-modell av växtens immunsystem (Jones & Dangl 2006)

Växten kan försvara sig lokalt eller systemiskt mot patogener (Heath 1998). Systemiskt förvärvad resistens (SAR) representerar en förhöjd beredskap där växtens resurser mobiliseras till andra delar av växten som förberedelse i händelse av ytterligare angrepp (Freeman & Beattie 2008). Den inducerande resistensen i växten är generellt effektiv mot ett brett spektrum av patogener där försvaret förknippas med produktion av patogenrelaterade proteiner (PR-proteiner) som utgör delen av en försvarsrespons, vilket förmedlas via salicylsyra (SA) (Hammerschmidt 1999). En annan systemisk process växter använder sig av är inducerad systemisk resistens (ISR), som induceras av tillväxtfrämjande *Rhizobium*-bakterier. Denna är beroende av och förmedlas av hormoner som jasmonsyra (JA) och eten (ET) (Gozzo & Faoro 2013).

Hormonet SA är essentiell i växten för att kunna aktivera grundläggande försvarsrespons, speciellt mot biotrofa patogener (Vlot et al. 2009). En obalans i basala nivåer av SA kan dramatiskt förändra resistensen i växten (Vlot et al. 2009). I försök har det visats att växten *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) med höga nivåer av SA är mer resistent mot bakterier som *Pseudomonas syringae* (Mauch et al. 2001).

Det har även visats i försök att transgena växter med bakterien *Pseudomonas putida* (*Pto*) genen NahG uttrycker ett salicylathydroxylas som snabbt nedbryter SA (Lawton et al. 1995). Försök har visat att transgena växter med NahG genen kan resultera i minskad resistens mot den biotrofa oomyceten *Peronospora parasitica* (Glazebrook 2005).

COI1 är ett F-box protein som är nödvändig för att växten ska kunna reagera på JA (Ren et al. 2005). Växters resistens mot svampnekrotofer som till exempel *Botrytis cinerea* och *Alternaria brassicola* äventyras i mutanten *coil* (Thomma et al. 1998).

Sjukdomsreaktioner i växter bestäms ofta av komplexa nätverk av interaktioner mellan flera hormonsignaleringsvägar (Glazebrook 2005). Tidigare försök med NahG och COI1 visar att SA- och JA-beroende responser kan användas på olika sätt mot olika patogener (Thatcher et al. 2009).

Ämnen som kan inducera försvar i växten

Faktorer som kan inducera försvar i växten kan vara biotisk eller abiotisk stress, patogentillverkade ämnen eller syntetiska kemikalier (Walters et al. 2005). Man kan artificiellt trigga systemisk resistens i växten genom att spraya växten med kemikaliska ämnen (Freeman & Beattie 2008). Inducerad resistans leder oftast inte till helt resistent växter och effekten har visat sig vara beroende av olika faktorer som omgivande miljö, genotyp, och appliceringsmetod (Walters et al. 2005; Liljeroth et al. 2010).

Det finns flera kemikaliska ämnen som inducerar resistens i växter och den icke-essentiella aminosyran BABA (β -aminosmörtsyra) är en av de mest studerade föreningarna. BABA har i försök förbättrat resistansen för olika typer av biotiska och abiotiska stress-symptom (Jakab et al. 2005; Liljeroth et al. 2010). Hur den BABA-inducerande resistensen fungerar är inte väl förstådd, då reaktionen i växten är komplex (Jakab et al. 2005). Kemikalien BTH (benso (1,2,3)-tiadiazol-7-karbotiosyra-S-metylester), - en analog till SA, samt behandling med SA, har även de visat sig förbättra resistansen för biotisk stress (Soylu et al. 2003).

Sockerbetsextrakt (SBE)

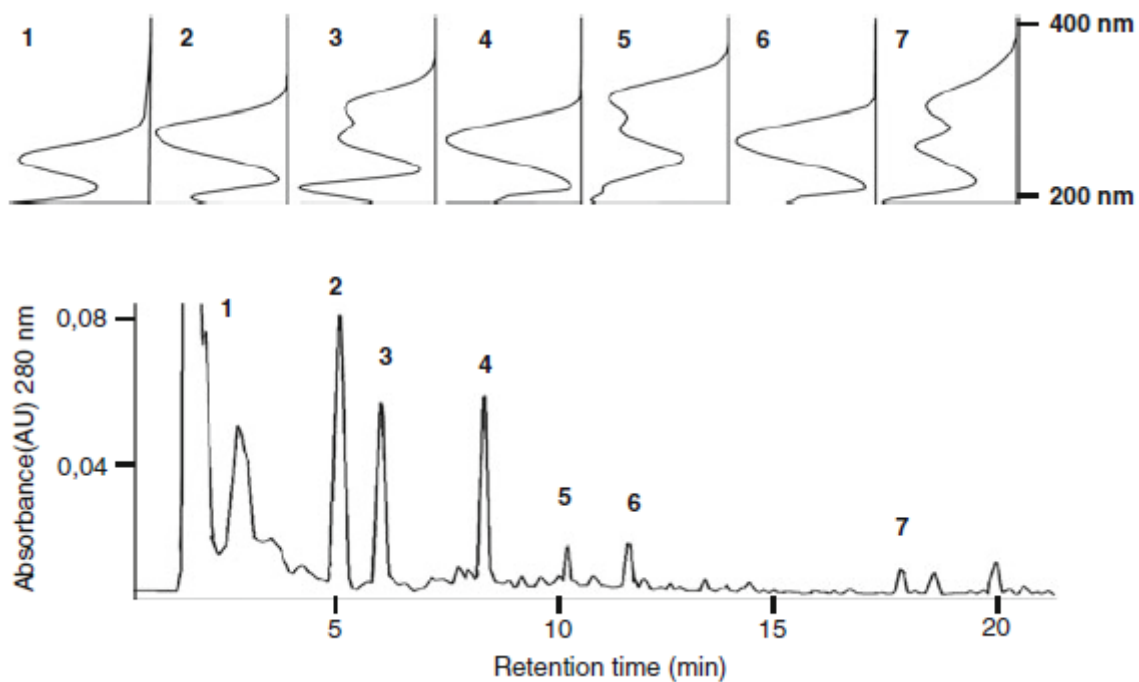
Ett nytt medel som kan inducera försvaret i potatis är sockerbetsextrakt (SBE) som nyligen visats kunna förbättra resistensen mot potatisbladmögel (Moushib et al. 2013). Detta är en av de mest destruktiva och vanliga sjukdomarna på potatis och orsakas av oomyceten *Phytophthora infestans* (Nowicki et al. 2012). Det var denna patogen som orsakade den irländska svälten som uppstod på 1840-talet, vilket resulterade i en nästan total förstörelse av grödan på Irland (Reader 2008).

SBE användes i försök av Moushib et al. (2013) då man ville finna ett nytt, naturligt och billigt växtbaserat medel som kan trigga växtens försvarsrespons, och som även skulle kunna kombineras med andra bekämpningsmedel.

Sockerbetsextrakt utvinns från sockerbetskalk, som är en biprodukt från sockerproduktion från sockerbetor (Moushib et al. 2013). När sockerbetorna levereras till sockerbruken så tvättas och delas betorna, och läggs i varmt vatten (Nordic sugar 2014). Sockerbetans celler där sockret finns öppnas av det varma vattnet, så att sockret strömmar ut i vattnet. Denna råsaft rensas från bakterier och jordpartiklar genom att man löser upp släckt kalk och kolsyra däri. Reaktionen mellan släckt kalk och kolsyra gör att kalken faller ut, som därmed fångar upp organiska ämnen och andra växtnäringsämnen från råsaften (Sockerbrukskalk 2010). Råsaften filtreras och kalken pressas till sockerbrukskalk (Sockerbrukskalk 2010). Sockerbetskalk säljs i bulk och innehåller cirka 300 Kg CaO/ton vara. Vid extraktionen av sockerbetskalk för tillverkning av SBE används 99 % etanol (Moushib et al. 2013).

Moushib et al. (2013) undersökte SBE på tre potatisgenotyper (Desirée, Bintje, och Ovatio) som infekterats med *P. infestans* i växthusmiljö. Plantorna i försöket som blivit behandlat med SBE resulterade i en signifikant reduktion av storleken på infektionen. Försöket visade att SBE gav en liknande effekt som det resistens-inducerande medlet BABA på de infekterade bladen.

SBE hade ingen synbar toxisk effekt på *Phytophthora*hyfernas tillväxt, eller groning och sporbildning (Moushib et al. 2013). Istället så triggar SBE induktion av de patogenrelaterade proteinerna (PR-1 och PR-2) som har visat sig induceras med växtens försvar (Van Loon et al. 2006), vilket antyder att skyddet av SBE kan ske via inducerad resistens. En mängd fenolartade metaboliter har upptäckts i SBE (extraherat med etanol), vilket kan bidra till försvarsresponsen (Figur 3) (Moushib et al. 2013).



Figur 3. HPLC profil av SBE med 280 nm, och exempel av UV-spektrum på detekterade fenolföreningarna (numren ovanför topparna motsvarar numren av de UV-spektra skannat i våglängden mellan 200-400 nm). Topp nr. 1 visar p-hydroxibensoesyra (Moushib et al. 2013)

Eftersom växternas fenolföreningar har väl dokumenterade roller i växtpatogeninteraktioner så spekuleras det att fenolfyndet i SBE kan ha bidragit till den inducerande resistensen på *P. infestans* (Moushib et al. 2013). En av fenolföreningarna i HPLC analysen identifierades som ett ämne likt p-hydroxibensoesyra (Fig. 3). Denna förening som är härledd från bensoesyra har i försök visats inducera systemisk resistans i gurka mot svamppatogenen *Colletotrichum lagenarum* (Fought & Kuć 1996).

Frågeställningar för den föreliggande studien

Försöket syftar till att undersöka om sockerbetsextrakt (SBE) kan förhindra eller minska skadorna som *D. solani* orsakar på potatis, samt om hormonreglering påverkar sjukdomsutveckling av stjälbakterios i potatis, orsakad av *D. solani*. Frågeställningarna i arbetet är:

1. Påverkar SBE resistensen generellt i klonerna?
2. Påverkar SBE resistensen i en enskild klon?
3. Påverkar NahG-genen resistensen i potatis?
4. Påverkar COII resistensen i potatis?

Material och metoder

Metod för att extrahera sockerbetsextrakt (SBE)

En fast fraktion av sockerbrukskalk, som är en biprodukt under sockerproduktion från sockerbetor, användes för att preparera sockerbetsextraktet (SBE) i denna studie. SBE-extrakt erhöles genom att blanda 1600 g av sockerbetskalk med 1 liter 99,9 % etanol. Detta blandades noggrant och fick vila i 4 °C under ett dygn för att partiklarna skulle sjunka till botten. Efter att partiklarna sjunkit så bildades ovanpå ett vätskeskikt av en gulaktig supernatant, vilket separerades från fällningen och filtreras för att få bort uppslammade partiklar som fanns kvar i vätskan. Filtratet centrifugerades (3,000 rpm, 3 min i 4 °C) sedan. Efter centrifugeringen lagrades supernatanten i 4 °C fram till den dag det används.

Vid besprutningen av SBE så späddes SBE femfaldigt med vatten, så att vätskan innehöll en alkoholhalt på 20 %.

Odling av *Dickeya solani* bakterier

D. solani bakterierna lagrades i kryokärl på glaskulor med ett frysmedium i -80° C. Innan infektionen subkultiverades *D. solani* med 10 ml näringsvätska vid 27° C i en inkubator med skakbord (220 rpm) i 18-20 timmar.

Växtmaterial

- 10 stycken Desirée Tyskland, vildtyp
- 10 stycken Desirée Tyskland, coil x5
- 10 stycken Desirée Tyskland, coi1 H1
- 10 stycken Desirée Tyskland, NahG D2
- 10 stycken Desirée Tyskland, NahG A
- 10 stycken, förädlingsklonen SW-1015 (Ali et al. 2012)

Växtodling

Sterila skott sattes i plastaskar innehållande MS agar (MS: *Mitis salvivarius*) med standardvitaminer, 2 % Sackaros, samt IBA (0,5 mg/L). Ett tätt åsittande lock sattes sedan på plastaskarna med tejp för att försegla askarna väl.

De drevs upp i en klimatkammare med en temperatur på 23 °C under dagen och 18 °C under natten. Långdagsbelysning (16 timmar med 80µE ljus) användes. Efter tre veckor omplanteras växterna och sattes ut i växthus där de odlades i ytterligare 6 veckor.

De *in vitro*-odlade plantorna skars försiktigt från agarlösningen med en skalpell och med fingrarna drogs försiktigt agarlösningen från rötterna. Plantorna planterades försiktigt i 3,5 L krukor med den kommersiella planteringsjorden Emmaljunga Exklusiv blom och plantjord. Jorden var torvbaserad med 7 % grus, 5 % lecakulor, 5 % lera med kisel, och tillsatt med 6 kg/m³ kalkstensmjöl, 2 kg/m³ dolomitkalk, 1,5 kg/ m³ NPK 11-5-18 med mikronäring, 0,1 kg/m³ extra mikronäring, samt 0,1 kg/m³ organiskt järn.

Plantorna placerades randomiserat på en odlingsbänk, märkta efter klon och efter behandling. Temperaturen var mellan 18-21 °C, dagslängden var 16 timmar med hjälp av högtrycksnatriumlampor som tilläggsbelysning.

Plantorna vattnades tre gånger i veckan och flytande näringslösning (NPK) gavs vid tre tillfällen för att bristsymptom hos plantorna skulle undvikas.

SBE-behandling

Fem plantor från varje klon sprutades med 20 % SBE-lösning en vecka efter överföringen från *in vitro* till kruka med jord. SBE-behandlingen gjordes sedan en gång i veckan under sex tillfällen. Plantorna sprayades med en sprejflaska ovan och under bladen tills det skapades avrinning på bladen. Mängden med 99 % SBE-lösning som förbrukades per behandling (30 plantor) var från första besprutningstillfället: 0,6 dl, 0,8 dl, 1,2 dl, 1,6 dl, 2,4 dl, 3,2 dl.

Infektion

6 veckor efter överföringen från *in vitro* till jord och dagen efter sista SBE-behandlingen infekterades alla plantorna med bakterien *D. solani*.

Bakteriekulturen justerades till $5 \cdot 10^9$ CFU/ml. Vi använde en automatpipett med 200µL spets som injiceringsverktyg. Bakterielösningen injicerades i plantans huvudstam, 5-8 cm över jordytan med 20µl av bakterielösningen. Det bildade såret på stjärken täcktes med Nescofilm och destillerat vatten sprayades sedan försiktigt över Nescofilmen. Plantorna täcktes för med transparent plastpåse som fuktades genom att spraya insidan med kranvatten.

Avläsning

Symptomen av *D. solani* uppmättes en vecka efter infektionen genom mätning av lesionslängden (stjärkens mörkade och mjuka del) på plantans stjärk.

Statistiska analys

För att ta reda på om det fanns en signifikant skillnad mellan klonerna i försöket utfördes envägs variansanalys (ANOVA) på logtransformerade värden.

För grupperingsinformation mellan klonerna och behandlingen användes Tukey-metoden ($p=0,05$).

Resultat

Växterna visade tydlig sammanhållen nekros (mörkare/svarta stjälparter), och uppmjukningar på stjälparna på alla klongrupporna, både med och utan SBE-behandling. SW93-1015 klonerna hade även tidvis mer fläckvis brun nekros på stammen (Figur 4).



Figur 4. Desirée Tyskland till vänster och SW93-1015 till höger

Frågeställning 1: Påverkar SBE resistensen generellt i klonerna?

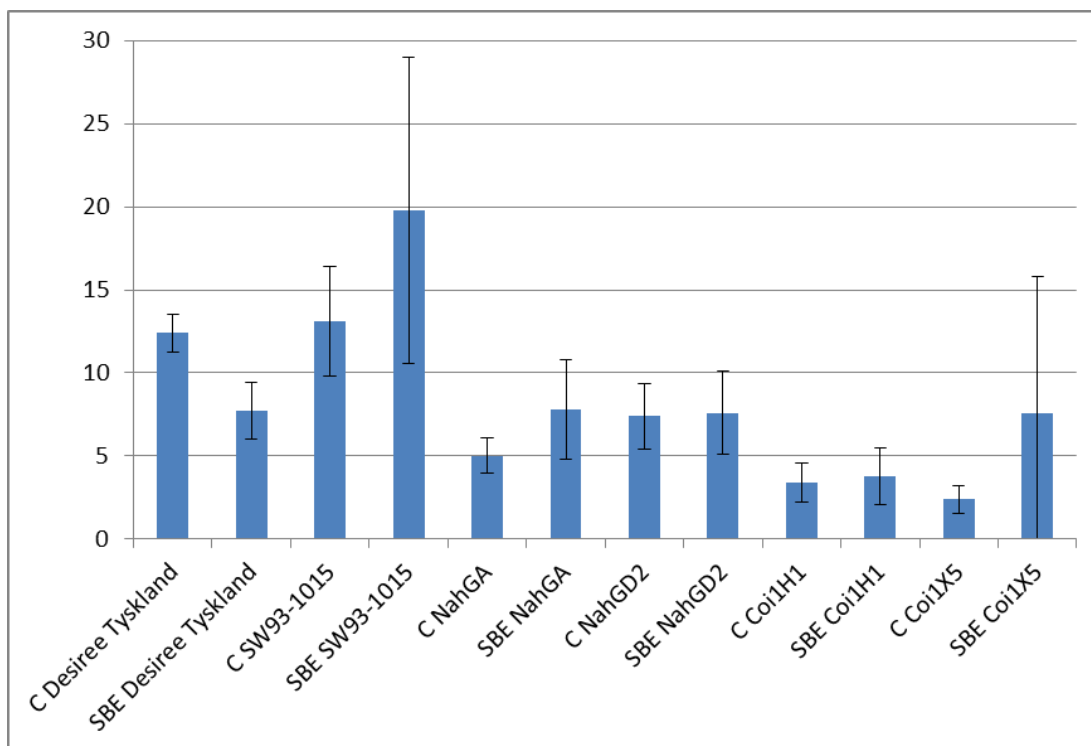
I försöket ville vi ta reda på om SBE påverkar resistensen i klonerna. Vi hade förväntat oss att SW93-1015 klonerna skulle ha betydligt sämre resistens än Desirée Tyskland och använde därför denna klon som positiv kontroll i försöket (Mühlenbock et al. 2013).

Jämförelse av medelvärden och standardavvikelse mellan proverna indikerade att det endast var klonen Desirée Tyskland som fick ökad resistens av SBE-behandlingen (Figur 5). De andra klonerna i försöket visade likvärdig resistens av SBE-behandlingen. (Figur 5).

Resultatet visade även att klonen SW93-1015 var mindre mottaglig mot *D. solani* än vad vi hade förväntat oss, men att den ändå var mer mottaglig än Desirée Tyskland (Figur 5) (Mühlenbock et al. 2013).

Vid ANOVA-analys av hela försöket fann vi att ingen av klonerna visade signifikant förbättring mellan SBE-behandlade och obehandlade kloner. Här visade ANOVA-analysen även att det inte fanns signifikant skillnad mellan klonen SW93-1015 och Desirée Tyskland i utvecklingen av symptomen från *D. solani* (Tabell 2).

Med endast denna analys blev slutsatsen att ingen av klonerna visade signifikant förbättrad resistans av SBE-behandlingen då vi jämförde alla klonerna mot varandra i hela försöket (Tabell 2). Det var inte en signifikant skillnad på klonen SW93-1015 jämfört med Desirée Tyskland i utvecklingen av *D. solani* (Tabell 2), vilket inte var vad vi hade förväntat oss baserat på resultaten i Figur 5 samt tidigare studier (Mühlenbock et al. 2013). Här gjordes därför en mer detaljerad analys där vi separerade försöken i olika grupper.



Figur 5. Lesionslängd (cm) uppmättes på SBE-behandlade och obehandlade kloner i försöket. Standardavvikelsen är här åskådliggjord som felstaplar

Källa	DF	SS	MS	F	P
Faktor	11	19,116	1,738	8,33	0,000...
Error	48	10,009	0,209		
Totalt	59	29,125			

S = 0,4566 r-Sq = 65,63% R-Sq (adj) = 57,76%

Tabell 1. ANOVA visade p-värde <0,000 mellan alla klonerna

Klongrupp	N	Medelvärde	Standardavvikelse	Gruppering
SW93-1015, SBE	5	2,8409	0,7045	A
SW93-1015	5	2,5527	0,2686	A B
Desirée T	5	2,5224	0,0907	A B
Desirée T, SBE	5	2,0353	0,2156	A B C
NahG A, SBE	5	2,0133	0,3586	A B C
NahG D2	5	1,9877	0,2602	A B C
NahG D2, SBE	5	1,9844	0,4081	A B C
NahG A	5	1,6122	0,2056	B C D
coi1 X5, SBE	5	1,5954	1,0368	B C D
coi1 H1, SBE	5	1,2911	0,4065	C D
coi1 H1	5	1,2037	0,3553	C D
coi1 X5	5	0,8732	0,3278	D

Tabell 2. Grupperingsinformation med Tukey-metoden ($p=0,05$) av alla obehandlade och SBE-behandlade klonerna i försöket. Om en grupp inte delar en bokstav så visar detta en signifikant skillnad.

Frågeställning 2: Påverkar SBE resistensen i en enskild klon?

Jämförelse av medelvärden och standardavvikelse mellan proverna indikerade att det endast var Desirée Tyskland som fick bättre resistens av SBE-behandlingen (Figur 5). Vi gjorde därför en separat ANOVA mellan behandlad och obehandlad Desirée Tyskland. Här visade ANOVA-analysen en signifikant skillnad mellan dessa med p-värdet 0,002 (Tabell 3). Slutsatsen är här att endast Desirée Tyskland uppvisade en signifikant bättre resistens av SBE-behandlingen.

Källa	DF	SS	MS	F	P
Faktor	1	0,5934	0,5934	21,69	0,002
Error	8	0,2188	0,0274		
- Totalt	9	0,8122			-

S = 0,1654 r-Sq = 73,06% R-Sq (adj) = 69,69%

Tabell 3. Här visas signifikant skillnad mellan SBE-behandlad och obehandlad Desirée Tyskland. P-värdet var 0,002 mellan SBE-behandlad och obehandlad Desirée Tyskland

Frågeställning 3: Påverkar NahG-genen resistensen i potatis?

Utvärderingen av längden på NahG-klonernas lesioner indikerar att de obehandlade NahG-klonerna visade bättre resistens än den obehandlade Desirée Tyskland (Figur 5).

De SBE-behandlade NahG-klonerna visade likvärdig resistens som den SBE-behandlade Desirée Tyskland (Figur 5).

Med statistisk analys fann vi att obehandlade NahG A och NahG D2-klonerna visade signifikant mindre lesioner mot obehandlade Desirée Tyskland (Tabell 5 & Tabell 7).

Slutsatsen är att de obehandlade NahG visade signifikant mindre lesion (Tabell 5 & Tabell 7).

Källa	DF	SS	MS	F	P
Faktor	5	11,8651	2,3730	33,58	0,000...
Error	24	1,6961	0,0707		
Totalt	29	13,5612			

S = 0,2658 r-Sq = 87,49% R-Sq (adj) = 84,89%

Tabell 4. ANOVA visade p-värde <0,000 mellan de obehandlade klonerna

Klongrupp	N	Medelvärde	Standardavvikelse	Gruppering
SW93-1015	5	2,5527	0,2686	A
Desirée T	5	2,5224	0,0907	A
NahG D2	5	1,9877	0,2602	B
NahG A	5	1,6122	0,2056	B C
coi1 H1,	5	1,2037	0,3553	C D
coi1 X5	5	0,8732	0,3278	D

Tabell 5. Grupperingsinformation med Tukey-metoden (p=0,05) av de obehandlade klonerna i försöket. Om en grupp inte delar en bokstav så visar detta en signifikant skillnad

Källa	DF	SS	MS	F	P
Faktor	5	6,828	1,366	3,94	0,009
Error	24	8,313	0,346		
Totalt	29	15,141			

S = 0,5885 r-Sq = 45,09% R-Sq (adj) = 33,66%

Tabell 6. ANOVA visade p-värde 0,009 mellan de behandlade klonerna

Klongrupp	N	Medelvärde	Standardavvikelse	Gruppering
SW93-1015, SBE	5	2,8409	0,7045	A
Desirée T, SBE	5	2,0353	0,2156	A B
NahG A, SBE	5	2,0133	0,3586	A B
NahG D2, SBE	5	1,9844	0,4081	A B
coi1 X5, SBE	5	1,5954	1,0368	B
coi1 H1, SBE	5	1,2911	0,4065	B

Tabell 7. Grupperingsinformation med Tukey-metoden (p=0,05) av de SBE-behandlade klonerna i försöket. Om en grupp inte delar en bokstav så visar detta en signifikant skillnad

Frågeställning 4: Påverkar COI1 resistensen i potatis?

De obehandlade coi1-klonerna verkade ha bättre resistens än den obehandlade Desirée Tyskland (Figur 5). De SBE-behandlade coi1-klonerna visade likvärdig resistens som den SBE-behandlade Desirée Tyskland (Figur 5).

Med statistisk analys fann vi att obehandlad coi1 H1 och coi1 X5 visade signifikant mindre lesioner än obehandlade Desirée Tyskland (Tabell 5 & Tabell 7).

Slutsatsen är att det endast var obehandlade *coi1* som visade signifikant mindre lesioner (Tabell 5 & Tabell 7).

Diskussion

Stjälkbakterios orsakar betydliga ekonomiska förluster i potatisodlingar (Pérombelon 2002), och är ett svårbehandlat problem som orsakar ökande skördeförluster i Europa (Czajkowski et al. 2010a). Sedan 2004 har den nyligen upptäckta patogenen *D. solani* spridits genom Europa via handel med sättknölar och orsakat ökande ekonomiska förluster (Toth et al. 2011). Under kommande år kan *D. solani* ge större skador till följd av klimatförändringar, då *D. solani* är mer aggressiv i högre temperaturer (Toth et al. 2011).

I vårt försök ville vi undersöka om det resistens-inducerande medlet sockerbetsextrakt (SBE) kan minska skadorna som *D. solani* orsakar på potatis. Tidigare försök har visat att SBE ger signifikant ökade resistens mot *P. infestans* på potatis (Moushib et al. 2013).

Resultatet visade att SBE-behandlingen visade signifikant mindre lesion på den kommersiella klonen Desirée Tyskland. De andra klonerna i försöket visade en opåverkad respons av SBE-behandlingen. Resultatet visade att den kommersiella sorten visade signifikant mindre lesioner av SBE-behandlingen, vilket ökar förhoppningen att SBE även kan användas mot andra sjukdomar i potatis, och möjligen i andra grödor. Det har visats tidigare att inducerad resistans oftast inte leder till helt resistent växter och effekten har visat sig vara beroende av olika faktorer som omgivande miljö, genotyp, och appliceringsmetod (Walters et al. 2005, Liljeroth et al. 2010).

Det vore intressant att se hur SBE-behandlingen påverkar *D. solani* på andra kommersiella sorter av potatis, men framför ska det bli intressant att se fler försök av SBE på *P. infestans* på potatis. I framtiden kan förhoppningsvis SBE-behandling användas effektivt utan fungicider, eller som ett komplement för att kunna minska fungicid-användningen på kommersiellt odlad potatis, och på andra kommersiellt odlade grödor.

I försöket fann vi att förädlingsklonen SW93-1015 (Ali et al. 2012) indikerade sämre resistens än Desirée Tyskland. Tidigare försök utförda av Mühlenbock et al. (2013) har visat att SW93-1015 har en signifikant sämre resistens än Desirée Tyskland mot både *D. solani* och *P. atrosepticum* i försök utförda i växthus och *in vitro*. En förklaring på att detta inte var lika tydligt i denna studie kan vara att tidigare försöket i växthus av Mühlenbock et al. (2013)

utfördes genom att infektera på plantor som drivits upp direkt från knölar. Dessa plantor hade mjukare stam än de *in vitro*-drivna plantorna som användes i detta försök, vilket kan ha bidragit till minskad resistensen hos SW93-1015 i det tidigare försöket.

Förvånande visade försöket även att de obehandlade klonerna *coi1* H1, *coi1* X5, samt NahG A, NahG D2 hade signifikant mindre lesioner än obehandlade Desirée Tyskland (Tabell 5 & Tabell 7).

Klonen med NahG-genen uttrycker salicylathydroxylas, vilket bryter ned salicylsyra (SA) (Lawton et al. 1995). Nekrotrofer som *Pectobacterium* inducerar celldöd som en del i deras angreppsstrategi, därmed blir effekten ETI som kan leda till HR, inte förhindrar infektionen, utan förstärker istället angreppet (Davidsson et al 2013). Detta eftersom NahG-klonen som uttrycker salicylathydroxylas som nedbryter SA så påverkade detta ETI-effekten av HR negativt, vilket kan ha lett som följd till att *D. solani* angreppet inte blev lika framgångsrikt som hos den kommersiella sorten Desirée Tyskland. Detta pekar på att SA i potatis ger minskad resistens mot *D. solani*. Klonerna i försöket med RNAi konstrukt för *coi1*-genen har minskad förmåga att reagera på jasmonsyrasignalering, vilket även det ledde till signifikant bättre resistens mot *D. solani* på de obehandlade *coi1*-klonerna. Detta indikerar att även JA påverkar resistensen mot *D. solani*. Att vi såg små symtom i transgenerna kan kanske förklara varför vi inte såg någon effekt av SBE i dem.

För att summera, så var försöket lyckat. Inga missöden skedde och vi fick ut data att analysera och frågorna kunde besvaras. Försöket visade att endast Desirée Tyskland uppvisade en signifikant bättre resistens av SBE-behandlingen. I frågeställningarna om NahG och COI1 påverkar resistensen i klonerna så visade resultatet att de obehandlade NahG och *coi1* klonerna hade signifikant mindre lesion än den kommersiella sorten Desirée Tyskland. Detta indikerar att SA och JA påverkar symtombilden av *D. solani*.

Referenser

Ali A, Moushib LI, Lenman M, Levander F, Olsson K, Carlson-Nilsson U, Zoteyeva N, Liljeroth E, Andreasson E (2012). Paranoid potato Phytophthora-resistant genotype shows constitutively activated defense. *Plant Signaling & Behavior* 7:3, 400-408

Aoki SK, Diner EJ, de Roodenbeke CT, Burgess BR, Poole SJ, Braaten BA, Allison MJ, Webb JS, Hayes CS, Cotter PA, Low DA (2010). A widespread family of polymorphic contact-dependent toxin delivery systems in bacteria. *Nature* 468, 439-442

Barras F, van Gijsegem F, Chatterjee AK (1994). Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. *Annual Review of Phytopathology* 32, 201-34

Burkholder WH, MacFadden LH, Dimock AH (1953). A bacterial blight of chrysanthemum. *Phytopathology*, 43, 522-525

Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124, 803-814

Cother EJ, Gilbert RL (1990). Presence of *Erwinia chrysanthemi* in two major river systems and their alpine sources in Australia. *Journal of Applied Bacteriology* 69, 729-38

Czajkowski R, de Boer WJ, van Veen JA, van der Wolf JM (2010a). Downward vascular translocation of a green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. (Biovar 3) from stem and leaf inoculation sites on potato. *Phytopathology* 100 (11):1128-1137. DOI:10.1094/PHYTO-03-10-0093

Czajkowski R, De Boer WJ, Velvis H, van der Wolf JM (2010b). Systemic colonization of potato plants by a soilborne green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. Biovar 3. *Phytopathology* 100, 134-42

Czajkowski R, Pérombelon MCM, van Veen JA, van der Wolf JM (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathology* 60, 999-1013

Dangl JL, Jones JDG (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection, Nature 411, 826-833

Davidsson PR, Kariola T, Niemi O, Palva TE (2013). Pathogenicity of and plant immunity to soft rot pectobacteria. Frontiers in Plant Science, 11 June 2013. DOI 10.3389/fpls.2013.00191

Freeman BC, Beattie GA (2008). An overview of plant defences against Pathogens and Herbivores. The Plant Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01

Fought L & Kuć JA (1996). Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. Journal of Phytopathology, 144, 1-6

Glazebrook J (2005). Contrasting Mechanisms of defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 43, 205-27

Gozzo F & Faoro F (2013). Systemic Acquired Resistance (50 Years after Discovery): Moving from the lab to the Field. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 12473-12491

Grenier AM, Duport G, Pages S, Condemine G, Rahbe Y (2006). The phytopathogen *Dickeya dadantii* (Erwina chrysanthemi 3937) is a pathogen of the pea aphid. Appl Environ Microbiol 72. 1956-1965

Hammerschmidt R (1999). Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? Physiological and Molecular Plant Pathology, 55, 77-84

Hauben L, Moore ERB, Vauterin L, Steenackers M, Mergaert J, Verdonck L, Jean Swings (1989). Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Systematic and Applied Microbiology, 21, 384-397

Hassan S & Hugouvieux-Cotte-Pattat N (2011). Identification of Two Feruloyl Esterases in *Dickeya dadantii* 3937 and Induction of the Major Feruloyl Esterase and Pectate Lyases by Ferulic Acid. Journal of Bacteriology, vol. 193 no 4: 963-970

Helias V, Andrivon D, Jouan B (2000). Internal colonization pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*. *Plant pathology* 49 (1):33-42

Heath MC (1998). Apoptosis, programmed cell death and the hypersensitive cell death. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 117-124

Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Charaoui-Boukerzaza S (2009). Catabolism of Raffinose, Sucrose, and Melibiose in *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Journal of Bacteriology* 191: 6960-6967

Jakab G, Ton J, Flors V, Zimmerli L, Metraux JP, Mauch-Mani B (2005). Enhancing *Arabidopsis* salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. *Plant Physiology*, 139, 267-274

Jones JDG, Dangl JL (2006). The plant immune system. *Nature*, 444, 323-329

Laurila J, Ahola V, Lehtinen A, Joutsjoki T, Hannukkala A, Rahkonen A, Pirhonen M (2008). Characterisation of *Dickeya* strains isolated from potato and river water samples in Finland. *European Journal of Plant Pathology* 122, 213-25

Lawton K, Weymann K, Leslie F, Vernooij B, Uknes S, Ryals J (1995). Systemic Acquired Resistance in *Arabidopsis* Requires Salicylic Acid but Not Ethylene. *MPMP*, Vol. 8, No. 8, 863-870

Liljeroth E, Bengtsson T, Wiik L, Andreasson E (2010). Induced resistance in potato to *Phytophthora infestans* –effects of BABA in green house and field tests with different potato varieties. *European Journal of Plant Pathology*, 127, 171-183

Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer SV, Machado MA, Toth I, Salmond G, Foster GD (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology* 13 (6):614-629. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x

Mattinen L, Somervuo P, Nykyri J, Nissinen R, Kouvonen P, Corthals G, Auvinen P, Aittamaa M, Valkonen JP, Pirhonen M (2008). Microarray profiling of host-extract-induced genes and characterization of the type VI secretion cluster in the potato pathogen *Pectobacterium atrosepticum*. *Microbiology* 154 (Pt 8):2387-2396. doi:10.1099/mic.0.2008/017582-0

Mauch F, Mauch-Mani B, Gaille C, Kull B, Haas D, Reimann C (2001). Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase. *The Plant Journal*, 25 (1), 67-77

Moushib LI, Witzell J, Lenman M, Liljeroth E, Andreasson E (2013). Sugar beet extract induces defence against *Phytophthora infestans* in potato plants. *European Journal of Plant Pathology*, 136 (2) 261-271 (11)

Mühlenbock P, Dharani Dhar Burra, Andreasson E (2013). A novel method for screening of Blackleg disease on in vitro potato stems. Department of Plant Protection Biology, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden

Nordic Sugar (2014). Socker – en söt hälsning från naturen. Tillgänglig: <http://www.nordicsugar.se/kann-ditt-socker/naturens-sotma/> (2014-03-23)

Nowicki M, Foolad MR, Nowakowska M, Kozik EU (2012). Potato and Tomato Late Blight Caused by *Phytophthora infestans*: An Overview of Pathology and Resistance Breeding. *Plant Disease* / Vol. 96 No. 1. © 2012 The American Phytopathological Society.

Pérombelon MCM, Kelman A (1980). Ecology of the Soft Rot Erwinias. *Annual review of phytopathology* 18 (1):361-387. doi:10.1146/annurev.py.18.090180.002045

Pérombelon MCM (1992). Potato blackleg: Epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 98 (2):135-146. doi:10.1007/BF01974480

Pérombelon MCM (2002). Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology*, 51, 1-12

Persson P (1991). Soft rot *Erwinia* species attacking potatoes in Sweden. Plant Protection Reports Dissertations 20. Swedish University of Agricultural Science.

Reader J (2008). Propitious Esculent. The Potato in World History. © 2008, John Reader. ISBN: 9780434013180

Samson R, Legendre JB, Christen R, Saux MFL, Achouk W, Gardan L (2005). Transfer of *pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov and *Dickeya paradisiaca* comb. nov and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp nov., *Dickeya dianthicola* sp nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp nov and *Dickeya zae* sp nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55, 1415-1427

Sandström M, Twengström E (2002). Växters resistens mot sjukdomar. Faktablad om växtskydd 112 J, © Sveriges lantbruksuniversitet. ISSN 1100-5025

Socketbrukskalk (2010) Produktbeskrivning. Nordic Sugar. Tillgänglig: https://www.socketbetor.nu/cps/rde/xbcr/SID-08B9A6CE-B9376D1E/agriportal/Produktbeskrivning_socketbrukskalk_2010_1661215_snapshot.pdf (2014-03-23)

Soylo S, Baysal Ö, Soylo EM (2003). Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* susp. *Michiganensis*) in tomato seedlings. Plant Science 165 (2003). 1069-1075

Taiz L, Zeiger E (2006). Plant Physiology, Fourth Edition. © 2006 by Sinauer Associates, Inc. ISBN 10: 0-87893-856-7

Thatcher F, Manners JM, Kazan K (2009). *Fusarium oxysporium* hijacks COI1-mediated jasmonate signaling to promote disease development in Arabidopsis. The Plant Journal. 58, 927-939

Thomma BPHJ, Eggermont K, Penninckx IAMA, Mauch-Mani B, Vogelsang R, Cammue BPA, Broekaert WF (1998). Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 95, 15107-15111

Toth IK, Bell KS, Holeva MC, Birch PRJ (2003). Soft rot *erwiniae*: from genes to genomes. *Molecular plant pathology* 4 (1):17-30. doi:10.1046/j.1364-3703.2003.00149.x

Toth IK, van der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Helias V, Pirhonen M, Tsrer L, Elphinstone JG (2011). *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathol* 60 (3):385-399. doi:10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x

Tsrer L, Erlich O, Lebiush S, Ben-Daniel B, van der Wolf JM (2009). Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *European Journal of Plant Pathology* 123, 311-20

Van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ (2006). Significance of inducible defence-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 135-162

Vlot CA, Dempsey DMA, Klessig DF (2009). Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. *The Annual Review of Phytopathology*. 47, 177-206

Walters D, Walsh D, Newton A, Lyon G (2005). Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology*, 95, 1368-1373