

Rozprawa doktorska pt.:

Analiza zmienności wybranych izolatów z populacji bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Spieckermann & Kotthoff) Davis i in.

o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplina agronomia

Analysis of variability of selected isolates of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Spieckermann & Kotthoff) Davis et al.

Agnieszka Maciejewska

IHAR-PIB w Radzikowie, Zakład Fitopatologii

STRESZCZENIE

Bakterie *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) są sprawcą choroby kwarantannowej ziemniaków zwanej bakteriozą pierścieniową ziemniaka. Stosowane dotychczas metody identyfikacji i detekcji czynnika sprawczego, w celu poszukiwania źródła zakażenia i wyeliminowanie choroby okazywały się mało skutecznymi. Genetyczne zróżnicowanie izolatów *Cms* badano z pomocą metody PCR MP oraz analizy VNTR. Zastosowana metoda PCR MP z użyciem pięciu enzymów restrykcyjnych (*ApaI*, *PstI*, *BamHI*, *XmaI*, *HindIII*) wykazała istotne zróżnicowanie genetyczne izolatów z podgatunku *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Testami patogeniczności na liściach siewek bakłażana określono zakres wirulencji 200 izolatów *Cms*. Oceniono także właściwości biochemiczne badanych izolatów *Cms* oraz siłę związku korelacyjnego pomiędzy genetycznym polimorfizmem, właściwościami biochemicznymi oraz biologicznymi izolatów *Cms*. Efektem pracy jest także udoskonalenie metody PCR MP pozwalającej na genetyczne różnicowanie izolatów *Cms*, która może znaleźć zastosowanie w badaniach epidemiologicznych, identyfikacji pierwotnych źródeł zakażenia patogenem, czy atestacji odporności ziemniaka na bakteriozę pierścieniową.

Słowa kluczowe: *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, test immunofluorescencji pośredniej (IFAS), patogeniczność, zróżnicowanie biochemiczne, DNA polimorfizm, PCR MP, genotypowanie, zróżnicowanie, poziom dyskryminacji, Analiza Wariancji (ANOVA), test Tukeya

ABSTRACT

Bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) is the causal agent of potato quarantine disease called potato ring rot. The methods used so far for identification and detection of the source of infection of potato by the pathogen have not been considered as very effective. Genetic differentiation of *Cms* isolates was investigated by using the PCR MP method

and VNTR analysis. The PCR MP method with the use of five restriction enzymes (*ApaI*, *PstI*, *BamHI*, *XmaI*, *HindIII*) showed significant intra-subspecies diversity of *Cms* isolates. Pathogenicity tests on leaves of eggplant seedlings allowed to determine the range of virulence of 200 isolates of *Cms*. The biochemical properties and the correlation strength between genetic polymorphism, biochemical and biological properties of *Cms* isolates were also assessed. The PCR MP method was modified and adjusted to allow the genetic differentiation of *Cms* isolates and it might be used to determine the primary infection sources, in epidemiological and pathogen resistance studies of potato genotypes.

Key words: *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, immunofluorescence antibody staining (IFAS), pathogenicity, biochemical diversity, polymorphism DNA, PCR MP, genotyping, differentiation, discriminatory power, Analysis of Variance (ANOVA), Tukey's test.

Radzików, 2018-03-05

Mgr Agnieszka Maciejewska