



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
– PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
W RADZIKOWIE
ODDZIAŁ W BONINIE

Nasiennictwo i ochrona ziemniaka

52.

konferencja naukowo-szkoleniowa



**Dźwirzyno
22-24 maja 2019**

SPIS TREŚCI

Referaty

	Str.
1. Sławomir Wróbel – Dokąd zmierza nasiennictwo ziemniaka w Polsce – problemy i zagrożenia	9
2. Monika Kawczyńska – Wpływ działań Agencji Nasiennej Sp. z o.o. na rozwój rolnictwa w latach 2016-2018 w kontekście wykorzystania do siewu ziemniaków odmian chronionych wyłącznym prawem	11
3. Tomasz Bieńkowski – Polska Federacja Ziemniaka – doświadczenie, współpraca, skuteczność	14
4. Jerzy Osowski – Zwalczanie alternariozy i zarazy ziemniaka przy wykorzystaniu danych z Euroblight oraz zarejestrowanych fungicydów	15
5. Grzegorz Grochot – Zorvec – nowa jakość w ochronie ziemniaka przed zarazą	20
6. Janusz Urbanowicz – Reakcja ziemniaka na herbicydy	21
7. Piotr Pańczak – Preparaty biologiczne jako alternatywa dla preparatów chemicznych w uprawie ziemniaka	25
8. Małgorzata Łabańska – Biosensory jako nowoczesne narzędzia w analizie żywności	28
9. Dorota Szarek, Włodzimierz Przewodowski, Katarzyna Salamońska, Wioleta Stochła-Potentas, Agnieszka Przewodowska – Badania nad białkami pozwalającymi na polepszenie diagnostyki sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka	29
10. Wioleta Stochła-Potentas, Włodzimierz Przewodowski, Katarzyna Salamońska, Dorota Szarek, Agnieszka Przewodowska – Opracowanie przeciwciał do diagnostyki immunologicznej sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka	30
11. Katarzyna Salamońska, Włodzimierz Przewodowski, Dorota Szarek, Wioleta Stochła-Potentas, Agnieszka Przewodowska – Diagnostyka molekularna bakterii <i>Clavibacter sepedonicus</i> comb. nov. w obecności komponentów tkankowych ziemniaka	31
12. Włodzimierz Przewodowski, Agnieszka Przewodowska, Katarzyna Salamońska, Dorota Szarek, Wioleta Stochła-Potentas – Opracowanie nowoczesnych materiałów do diagnostyki kwarantannowych bakterii ziemniaka z prób środowiskowych	32
13. Mateusz Mielczarek, Anna Pawłowska, Krzysztof Treder – Diagnostyka wybranych wirusów ziemniaka w laboratorium i na polu za pomocą izotermicznej amplifikacji kwasów nukleinowych (RT-LAMP)	33
14. Agata Kaczmarek, Anna Pawłowska, Izabela Jadach-Żebrowska, Mateusz Mielczarek, Krzysztof Treder – Oczyszczanie i ocena jakości poliklonalnych przeciwciał króliczych do identyfikacji sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka	34

DIAGNOSTYKA MOLEKULARNA BAKTERII *CLAVIBACTER SEPEDONICUS* COMB. NOV. W OBECNOŚCI KOMPONENTÓW TKANKOWYCH ZIEMNIAKA

mgr inż. Katarzyna Salamońska, dr inż. Włodzimierz Przewodowski
mgr inż. Dorota Szarek, mgr inż. Wioleta Stochła, dr inż. Agnieszka Przewodowska
IHAR-PIB Oddział w Boninie, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii
e-mail: k.salamonska@ihar.edu.pl

Ziemniak jest rośliną narażoną na wiele różnych chorób. Jedną z nich jest bakterioza pierścieniowa ziemniaka wywoływana przez bakterie kwarantannowe *Clavibacter sepedonicus* comb. nov. (Cs). W tej chwili nie istnieją żadne skuteczne metody zwalczania tego patogenu, dlatego tak ważna jest wiarygodna i czuła diagnostyka. Według Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (EPPO), aby wykryć bakterię Cs w tkance ziemniaka, należy wykonać co najmniej dwa testy opierające się na różnych zasadach działania. Może to być np. test immunologiczny i molekularny.

Coraz większą popularnością ze względu na swoją czułość i specyficzność cieszy się diagnostyka molekularna. Niestety nawet najbardziej czuła metoda molekularna może być trudna do stosowania ze względu na występujące w badanej próbce substancje zwane inhibitorami (np. polifenole, polisacharydy, egzonukleazy i inhibitory proteaz). Z uwagi na duże zróżnicowanie pod względem zdolności wydzielania śluzu przez poszczególne szczepy bakterii Cs dodatkowy problem mogą stanowić substancje znajdujące się w śluzie bakteryjnym. Dlatego ważnym etapem warunkującym skuteczność metod molekularnych w wykrywaniu bakteriozy pierścieniowej ziemniaka jest odpowiednie przygotowanie materiału genetycznego do dalszych badań, poprzez odpowiedni dobór metody izolacji DNA. Metoda ta powinna pozwolić na wyeliminowanie potencjalnych inhibitorów dla metod molekularnych, znajdujących się zarówno w ekstrakcie roślinnym, jak i w czystych kulturach bakteryjnych.

Celem pracy było porównanie efektywności izolacji DNA bakterii Cs o różnym stopniu mukoidalności z prób w wodzie i w obecności komponentów tkankowych soku z ziemniaka. Efektywność izolacji oceniano na podstawie klasycznego testu PCR, ponieważ spośród metod molekularnych jest to metoda najbardziej wrażliwa na inhibitory znajdujące się w tkankach ziemniaka i śluzie bakteryjnym.

Do przeprowadzenia badań użyto zawiesin różnych szczepów bakterii Cs w dwóch mediach – w wodzie i w ekstrakcie roślinnym. Szczepy te uprzednio wykalibrowano, wykonując posiewy mikrobiologiczne na podłożach stałych. Po uzyskaniu wyrosłych kolonii sporządzono zawiesiny w przedziale od 10^0 do 10^6 jtk/ml (jednostka tworząca kolonie na mililitr). Tak przygotowane próby izolowano za pomocą udoskonalonej metody DNA, a następnie wyizolowany materiał genetyczny poddano reakcji PCR. Wyniki i ewentualne różnice obserwowano na podstawie rozdziału DNA w żelu agarozowym.