



Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie  
Zakład Agronomii Ziemiaka

**Milena Pietraszko**

Epidemiologia bakteriozy pierścieniowej ziemniaka  
powodowanej przez  
*Clavibacter sepedonicus comb. nov.*

Autoreferat pracy doktorskiej

Promotor: Prof. dr hab. Ewa Łojkowska

Promotor pomocniczy: Dr hab. inż. Włodzimierz Przewodowski

Recenzenci: Dr hab. Agnieszka Jamiołkowska, prof. uczelni

Prof. dr hab. inż. Joanna Puławska

Radzików, 2023

## 1. WSTĘP

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) uprawiany jest prawie we wszystkich rejonach świata i znajduje się w pierwszej czwórce najważniejszych dla światowej gospodarki roślin uprawnych. Polska z produkcją około 7 mln ton ziemniaka, zajmuje aktualnie dziewiąte miejsce w świecie pod względem wielkości produkcji po Chinach, Indiach, Ukrainie, USA, Rosji, Niemczech, Bangladeszu i Francji (FAOstat, 2022). W ostatnich latach sukcesywnie zmniejsza się areal uprawy ziemniaka w naszym kraju. Wśród wielu przyczyn ciągłego zmniejszania się liczby gospodarstw uprawiających ziemniaka i zmniejszającego się arealu uprawy tej rośliny wymieniane są m.in. utrudnienia w eksporcie związane z występowaniem bakteriozy pierścieniowej ziemniaka (Chotkowski i Rembeza, 2013; Zimnoch-Guzowska, 2016).

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka jest chorobą wywoływaną przez bakterie z gatunku *Clavibacter sepedonicus* (*C. sepedonicus*) (Spieckermann & Kotthoff 1914) (Li i in., 2018; Nouioui i in., 2018). Sprawca choroby jest agrofagiem kwarantannowym podlegającym obowiązkowi zwalczania, co jest regulowane przepisami fitosanitarnymi w wielu państwach, w tym w państwach Unii Europejskiej. Bakteria *C. sepedonicus* znajduje się m.in. na liście A2 organizmów kwarantannowych Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (EPPO), obejmującej organizmy szkodliwe dla roślin, występujące w niektórych państwach członkowskich tej organizacji. Wobec organizmów kwarantannowych stosuje się przepisy prawne polegające na niedopuszczeniu do ich wprowadzania i rozprzestrzeniania się między krajami oraz ograniczeniu występowania wewnątrz danego kraju.

Znaczenie gospodarcze bakteriozy pierścieniowej ziemniaka jest szczególnie duże ze względu na fakt, iż jest to choroba ważnej rośliny uprawnej jaką jest ziemniak oraz szeroki zasięg występowania powodującej ją bakterii *C. sepedonicus*, jakim jest obszar Europy, Ameryki Północnej i północnej Azji.

Mimo wieloletnich działań zmierzających do eliminacji bakterii *C. sepedonicus* z upraw ziemniaka, jej wykrywalność w Polsce jest wciąż znaczna, jedna z największych w Europie. Według danych Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa odsetek partii porażonych w stosunku do przebadanych w roku 2021 w przypadku ziemniaków towarowych (konsumpcyjnych i przemysłowych) wynosił 3,9%. W przypadku polskich sadzeniaków ziemniaka odsetek partii porażonych w stosunku do przebadanych kształtuje się corocznie na stosunkowo niskim poziomie ok. 0,1-0,2% (PIORiN, 2022).

Wystąpienie bakterii może być przyczyną poważnych strat gospodarczych. Bezpośrednie straty związane z obniżeniem plonu w następstwie zamierania roślin i gnicia bulw nie mają w Europie dużego znaczenia gospodarczego. O wiele poważniejsze w skutkach są straty

pośrednie wynikające z konieczności dyskwalifikacji porażonych plantacji nasiennych, zakazu eksportu oraz dystrybucji wewnątrz kraju zainfekowanych partii ziemniaków. Szacując straty należy również uwzględnić nakłady finansowe poniesione podczas utylizacji partii ziemniaków uznanych za porażone, dezynfekcji pomieszczeń i maszyn oraz straty wynikające z nałożenia kwarantanny, czyli wyłączenia danego pola z uprawy ziemniaka (Chotkowski i Rembeza, 2013).

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka jest trudna do wykrycia ze względu na jej cechy epidemiologiczne takie jak: wewnętrzne przemieszczanie się bakterii wiązkami naczyniowymi, bardzo powolny rozwój objawów na roślinie i ich późne występowanie pod koniec okresu wegetacji lub dopiero w trakcie przechowywania bulw, maskowanie objawów przez zgnilizny wywoływane przez towarzyszące mikroorganizmy oraz często bezobjawowa (latentna) postać choroby. Objawy na roślinach, jeśli występują, bywają niespecyficzne, podobne do tych, jakie wywołują inne patogeny, czy też trudne do odróżnienia od objawów fizjologicznego starzenia się roślin (van der Wolf i in., 2005). W związku z powyższym, nie jest możliwe wczesne wykrycie choroby na plantacji na podstawie objawów chorobowych i szybkie reagowanie. Bezobjawowo zainfekowane rośliny i bulwy stanowią niekontrolowane źródło dalszego rozprzestrzeniania bakterii (Manzer i McKenzie, 1988).

Obecnie brak jest dostępnej metody bezpośredniego chemicznego czy biologicznego zwalczania bakteriozy pierścieniowej ziemniaka. Głównym sposobem zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby jest stosowanie materiału nasiennego wolnego od bakterii *C. sepedonicus*. Istotnym i zalecanym elementem prewencji jest także dezynfekcja sprzętu i narzędzi wykorzystywanych na każdym etapie produkcji ziemniaka.

Niewątpliwie podstawą skutecznego zwalczania chorób jest znajomość biologii patogenu i epidemiologii choroby, która w przypadku bakteriozy pierścieniowej ziemniaka wciąż nie jest dostatecznie poznana. Jakkolwiek wiele wyników badań wskazuje, że nasilenie infekcji i występowanie objawów chorobowych zależy od poziomu inokulum bakteryjnego w roślinie (Nelson, 1982; Bishop i Slack, 1987), odmiany ziemniaka (Sletten, 1985; De Boer i McCann, 1990; Nelson i in., 1992; Pastuszewska i in., 2010) oraz czynników zewnętrznych takich jak temperatura i wilgotność (Bishop i Slack, 1982; Westra i Slack, 1994; Kawchuk i in., 1998) to nie określono jak dotąd szczegółowo prawidłowości, które warunkują pojawianie się infekcji latentnych. Także badania ukierunkowane na ocenę wpływu interakcji czynników genetycznych i środowiskowych na rozwój bakteriozy pierścieniowej oraz występowanie objawów bądź infekcji latentnych nie dały jednoznacznych wyników (Hukkanen i in., 2005;

Kaemmerer i in., 2007; Hill i in., 2011; Whitworth i in., 2019; Gryń i in., 2021). Niedostatecznie poznane są zależności patogen-roślina-środowisko, mające decydujący wpływ na rozwój procesu chorobowego oraz nasilenie porażenia. Dlatego w ramach badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej podjęłam badania, które miały na celu uzupełnienie wiedzy z zakresu epidemiologii bakteriozy pierścieniowej ziemniaka.

## 2. CEL PRACY

Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu zróżnicowanych warunków pogodowych i glebowych na rozprzestrzenianie się bakteriozy pierścieniowej ziemniaka wywoływanej przez *C. sepedonicus*. Cel pracy zrealizowano przeprowadzając następujące zadania badawcze:

Zadanie 1. Określenie wpływu zróżnicowanych warunków pogodowych (temperatury i wilgotności) i glebowych (z uwzględnieniem rozkładu granulometrycznego gleby) oraz ich współdziałania na poziom infekcji latentnej w liściach i bulwach ziemniaka.

Zadanie 2. Określenie wpływu środowiska glebowego na poziom infekcji *C. sepedonicus* w bulwach potomnych.

Zadanie 3. Określenie wpływu zakażenia sadzeniaków przez *C. sepedonicus* na rozwój roślin oraz liczebność bulw ziemniaka i wielkość plonu.

Zadanie 4. Ocena dynamiki rozwoju i nasilenia występowania *C. sepedonicus* w poszczególnych organach roślin ziemniaka (korzenie, łodygi i bulwy) w okresie wegetacji, w kontekście określenia optymalnego czasu wczesnego wykrywania bakterii.

Tak postawiony cel i zadania rozprawy oprócz znaczenia poznawczego, powinny przyczynić się do opisanie procedur niezbędnych do efektywniejszego zwalczania bakteriozy pierścieniowej ziemniaka.

## 3. MATERIAŁ I METODY

Każde z zadań badawczych stanowiło odrębne doświadczenie mikropoletkowo-laboratoryjne, które przeprowadzano w cyklach trzyletnich w latach 2014-2020 w IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie.

**Materiał roślinny.** Badania prowadzono łącznie na 13 odmianach ziemniaka, w tym 11 jadalnych i 2 skrobiowych. Stosowano sadzeniaki kwalifikowane, wolne od bakterii *C. sepedonicus*.

**Szczep i izolaty bakterii.** Zawiesina bakteryjna używana do zakażenia bulw przed sadzeniem była sporządzana z kolonii bakterii szczepu referencyjnego *C. sepedonicus* NCPPB 4053

lub kolonii każdego z czterech izolatów *C. sepedonicus*, uzyskanych w wyniku izolacji bakterii z ekstraktów z tkanek bulw ziemniaka porażonych latentnie. Ekstrakty te pochodziły z rutynowych kontroli przeprowadzanych przez pracowników Wojewódzkich Inspektoratów Ochrony Roślin i Nasiennictwa u rolników. Izolację bakterii z ekstraktów oraz identyfikację homogennych kultur klonalnych wykonano z zastosowaniem metody serologicznej, molekularnej i testu biologicznego w dawnej Pracowni Fitopatologii IHAR-PIB w Radzikowie.

**Mikropoletka doświadczalne** były zbudowane na bazie sześciu profili glebowych, w których warstwę orną stanowiła gleba o następującym rozkładzie granulometrycznym: I - piasek, II - piasek słabogliniasty, III - piasek gliniasty, IV - piasek słabogliniasty, V - piasek gliniasty, VI - glina piaszczysta (PTG, 2009). Każdy profil glebowy obejmował 24 oddzielne mikropoletka, w tym 8 mikropoletek przeznaczonych pod uprawę ziemniaka, każde o powierzchni 5,6 m<sup>2</sup>. Na jednym mikropoletku wysadzano 24 roślin ziemniaka.

**Monitorowanie warunków pogodowych** przeprowadzono z wykorzystaniem stacji meteorologicznej Campbell (Campbell Scientific Inc.) usytuowanej na obiekcie mikropoletkowym. Odnotowywano sumę opadów, średnią temperaturę powietrza w każdej dekadzie miesiąca danego roku. Na podstawie sumy średnich dobowych temperatur (t) i sumy opadów atmosferycznych dla każdej dekady miesiąca (P), obliczono współczynnik hydrotermiczny Sielianiowa (K) według formuły:  $K = 10 P / \Sigma t$  (Skowera, 2014).

**Wilgotność gleby** w II, III i VI profilu glebowym mierzono sondami ECH<sub>2</sub>O Dielectric Aquameter (Decagon Devices) umieszczonymi w glebie na stałe na głębokości 20 cm. Sondy określały wilgotność objętościową podłoża, wykorzystując zasadę pomiaru opartą o przewodnictwo elektryczne. Wilgotność gleby na I i V profilu glebowym mierzono metodą suszarkowo-wagową (grawimetryczną). Określała ona wilgotność wagową (W), stanowiącą stosunek masy wody zawartej w danej próbie gruntu (M<sub>w</sub>) do masy tej próby wysuszonej w temperaturze 110 °C (M<sub>s</sub>), wyrażoną w procentach:  $W = M_w * 100\% / M_s$  (Myślińska, 1998).

**Temperatura gleby** była mierzona rtęciowym termometrem glebowym, zainstalowanym na stałe na jednym z mikropoletek każdego profilu glebowego, na głębokości 10 cm.

**Wykrywanie komórek bakterii *C. sepedonicus* w materiale roślinnym wykonywano testem immunofluorescencji pośredniej (IF).** Testy IF wykonywano zgodnie z procedurą EPPO PM 7/59(1) (OEPP/EPPO, 2006). W testach użyto poliklonalne przeciwciała kozie (Loewe Biochemica GmbH) i koniugat króliczy (Loewe Biochemica GmbH, rabbit antibodies -Cy3). Pojedynczą **próbę bulw** w teście IF, stanowiły wszystkie bulwy potomne bez objawów typowych dla porażenia przez bakterie *C. sepedonicus*, wyrosłe z jednej bulwy matecznej. Próba składała się średnio z 12 bulw.

W ramach jednej **próby liści** pobierano po 2 zdrowe liście z niższych pięter każdej łodygi danej rośliny ziemniaka. Jedną próbę stanowiło około 10 liści jednej rośliny.

Korzenie, podstawy i wierzchołki wszystkich łodyg jednej rośliny stanowiły pojedyncze i oddzielne próby do testowania metodą IF.

**Określanie poziomu infekcji latentnej *C. sepedonicus* w próbach na podstawie wyników testu IF.** Podczas obserwacji preparatów mikroskopowych liczone komórki bakterii w polach widzenia mikroskopu oraz okienkach preparatu. Następnie, dla każdej próby określano liczbę komórek bakterii, będącą średnią arytmetyczną wyliczoną na podstawie liczby komórek z 20 pól widzenia mikroskopu. Określonej liczebności bakterii w polu widzenia mikroskopu lub w całym okienku preparatu, przyporządkowano odpowiedni stopień skali infekcji latentnej, w której „0” oznaczało brak obecności komórek bakterii, a „9” – średnio powyżej 500 komórek w polu widzenia mikroskopu (Tab. 1). W zadaniach badawczych numer 2 i 3 wartości wyrażone w stopniach infekcji latentnej przeliczano na wyrażony w procentach indeks zainfekowania bulw z danego obiektu (Townsend i Heuberger, 1943).

Do **obliczeń statystycznych** zastosowano program STATISTICA 12 i analizę wariancji ANOVA. Istotne różnice weryfikowano testem Tukey’a ( $P < 0,05$ ).

**Tab. 1.** Skala infekcji latentnej roślin i bulw wywołanej przez *Clavibacter sepedonicus*, określona na podstawie wyników testu IF

Liczba komórek <i>C. sepedonicus</i> w preparacie		Stopień infekcji
0 komórek w całym okienku preparatu		0
Średnio 1-20 komórek w całym okienku preparatu		1
Liczba komórek w polu widzenia mikroskopu	0-5	2
	1-5	3
	6-10	4
	11-50	5
	51-100	6
	101-200	7
	201-500	8
>500	9	

#### 4. WYNIKI

**Zadanie 1. Określenie wpływu zróżnicowanych warunków pogodowych (temperatury i wilgotności) i glebowych (z uwzględnieniem rozkładu granulometrycznego gleby) oraz ich współdziałania na poziom infekcji latentnej w liściach i bulwach ziemniaka**

Stopień infekcji latentnej spowodowanej przez *C. sepedonicus* w liściach i bulwach zależał od warunków pogodowych w danym roku. Wykazano także istotną różnicę stopnia latentnego

zainfekowania liści w zależności od składu granulometrycznego gleby. Udowodniono również wpływ interakcji warunków pogodowych i glebowych na stopień zakażenia liści i bulw.

Najniższy stopień bezobjawowego zainfekowania liści i bulw wystąpił w 2016 roku, charakteryzującym się najwyższą sumą opadów. W warunkach niedoboru opadów w 2014 i 2015 roku istotne różnice w nasileniu infekcji wystąpiły tylko w przypadku bulw. Wyższy stopień infekcji miały bulwy wyrastające z roślin uprawianych w 2014 roku – o niedoborze opadów w okresie wegetacyjnym znacznie mniejszym niż w roku 2015.

Badanie wpływu rodzaju gleby na rozwój infekcji latentnej stanowiło nowy element w epidemiologii bakterii *C. sepedonicus*. Istotnie najniższy średni stopień zainfekowania liści odnotowano na piasku gliniastym (III profil glebowy), zaś najwyższy na glinie piaszczystej (VI profil glebowy). Zaobserwowano jednak, że gleba gliniasta, wilgotna sprzyjała infekcji latentnej w umiarkowanie suchych i ciepłych warunkach 2014 roku, ale była niekorzystna do rozwoju *C. sepedonicus* w roślinach w deszczowym 2016 roku. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku infekcji latentnej bulw (Tab. 2).

**Tab. 2.** Wpływ profilu glebowego i warunków pogodowych na stopień infekcji latentnej wywołanej przez *Clavibacter sepedonicus* w liściach i bulwach ziemniaka

Rok/Profil glebowy	Stopień infekcji latentnej liści ziemniaka			Średnia dla lat	Stopień infekcji latentnej bulw potomnych ziemniaka			Średnia dla lat
	II	III	VI		II	III	VI	
<b>2014</b>	3,1	2,9	5,9	3,8 ab*	7,6	6,8	8,3	7,5 c
<b>2015</b>	4,5	3,9	4,1	4,2 b	6,0	6,8	5,3	6,0 b
<b>2016</b>	3,7	3,0	2,8	3,2 a	5,4	5,4	5,2	5,3 a
<b>Średnia dla prof. gleb.</b>	3,7 ab	3,3 a	4,3 b	x	6,3 a	6,3 a	6,2 a	x

\*średnie z tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie ( $P < 0,05$ )

II - piasek słabogliniasty; III- piasek gliniasty; VI – glina piaszczysta

Potwierdzeniem wyników wskazujących, że wyższa suma opadów w sezonie wegetacyjnym i podwyższona wilgotność gleby były niekorzystne dla rozwoju bakteriozy pierścieniowej powodowanej przez *C. sepedonicus* w liściach i bulwach, były statystycznie istotne, ujemne współczynniki korelacji dla tych zmiennych. Wykazano również, że wraz ze wzrostem temperatury powietrza malało nasilenie infekcji bakteryjnej liści i bulw. Natomiast wraz ze wzrostem temperatury gleby wzrastała liczebność komórek *C. sepedonicus* w próbach pobranych z bulw. Uzyskane wyniki były zgodne z niektórymi obserwacjami Hukkanen i in. (2005), Kaemmerer i in. (2007), Gryń i in. (2021).

Cechy odmianowe miały największy wpływ na rozwój populacji *C. sepedonicus*. Reakcja odmian na infekcję liści była zróżnicowana w zależności od warunków lat badań i rodzaju gleby na profilach. Natomiast reakcja odmian na infekcję bulw była zróżnicowana w zależności od

warunków lat badań. Zaobserwowano silniejszy wpływ warunków pogodowych u odmian bardziej odpornych na zakażenie.

Rozpoznano i scharakteryzowano czynniki pogodowe i glebowe mające wpływ na rozwój populacji bakterii *C. sepedonicus* w liściach i bulwach ziemniaka. Natomiast określenie wpływu wynikającego ze współdziałania poszczególnych czynników pogodowych i glebowych jest bardzo złożone i wymaga prowadzenia dłuższych badań niż trzyletnie.

## **Zadanie 2. Określenie wpływu środowiska glebowego na poziom infekcji *C. sepedonicus* w bulwach potomnych**

Badanie miało na celu ocenę możliwości odglebowego zakażenia bulw potomnych oraz określenie wpływu warunków środowiska glebowego na rozwój infekcji wywoływanej przez *C. sepedonicus*.

W pierwszym roku badań efektem uprawy sadzeniaków sztucznie zakażanych czterema izolatami *C. sepedonicus* pozyskanymi z WIORiN-ów, były nieliczne rośliny ziemniaka i bulwy z objawami porażenia, bulwy zgniłe (maksimum 16,3%) oraz bulwy z infekcją latentną. W drugim roku uprawy zdrowych sadzeniaków na tym samym podłożu glebowym, podczas wegetacji roślin nie zaobserwowano występowania objawów charakterystycznych dla porażenia przez *C. sepedonicus*. Nie stwierdzono również występowania objawów porażenia na bulwach potomnych. Natomiast podczas zbioru bulw lub w trakcie przygotowywania prób do testu IF odnotowano występowanie bulw zgniłych (maksimum 4,5%). Testy IF wykonane z tkanek bulw niewykazujących objawów, potwierdziły obecność bakterii *C. sepedonicus* w 6,2% badanych prób. Indeks zainfekowania bulw w większości tych prób był niski (1,6%). W trzecim roku uprawy zdrowych sadzeniaków na tym samym podłożu, nie stwierdzono występowania objawów chorobowych spowodowanych przez *C. sepedonicus* na części nadziemnej roślin ziemniaka jak i na bulwach. Odnotowano natomiast udział w plonie bulw całkowicie lub częściowo zgniłych (maksimum 2,5%). Wykonując testy IF z tkanek bulw niewykazujących objawów, nie wykryto obecności bakterii *C. sepedonicus* w żadnej z badanych prób. Zgodnie z danymi literaturowymi (Nelson, 1985; Bentley i in., 2008), źródłem infekcji były najprawdopodobniej częściowo zgniłe bulwy potomne pochodzące od sadzeniaków inokulowanych *C. sepedonicus*, które zostały na mikropletkach podczas zbioru i ewentualne resztki pozbiiorowe z poprzedniego sezonu uprawy. W roku 2015, najwyższy indeks zainfekowania bulw - 56,3% odnotowano w bulwach potomnych roślin inokulowanych izolatem Cs 38, rosnących na piasku gliniastym (V profil glebowy). Natomiast w roku 2016, najwięcej pozytywnych prób i najsilniejszą infekcję odglebową – indeks zainfekowania bulw



równy 6,6%, stwierdzono w bulwach rosnących na piasku (I profil glebowy), na którym rok wcześniej uprawiano ziemniaki zakażane izolatem Cs 37.

W całym analizowanym okresie od maja 2015 roku do sierpnia 2017 roku, piasek gliniasty (V profil glebowy) charakteryzował się niższą temperaturą oraz wyższą wilgotnością w porównaniu do warstwy ornej jaką stanowił piasek (I profil glebowy). Na piasku gliniastym (V profil glebowy) odnotowano większy udział bulw całkowicie lub częściowo zgniłych, wyższy indeks latentnego zainfekowania bulw potomnych roślin inokulowanych *C. sepedonicus* w pierwszym roku badań, dwa razy więcej prób pozytywnych w teście IF oraz wyższy indeks odglebowego zainfekowania bulw w drugim roku badań, w porównaniu do wyników uzyskanych na piasku (I profil glebowy). Różnice między indeksami zainfekowania bulw na dwóch profilach glebowych nie były jednak istotne statystycznie.

### **Zadanie 3. Określenie wpływu zakażenia sadzeniaków przez *C. sepedonicus* na rozwój roślin oraz liczebność bulw ziemniaka i wielkość plonu**

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że rośliny inokulowane *C. sepedonicus* wykazały istotnie niższe wartości parametrów morfologicznych takich jak: długość i masa łodyg, masa liści i bulw, w porównaniu z roślinami nieinokulowanymi *C. sepedonicus*, w początkowej fazie rozwoju roślin (BBCH 55-60, 45 dni od sadzenia). W drugim terminie oceny roślin (BBCH 70) – 65 dni od sadzenia, nie udowodniono statystycznie istotnego wpływu inokulowania sadzeniaków na cechy morfologiczne roślin.

Długość łodyg roślin inokulowanych *C. sepedonicus* była mniejsza średnio o 6,6 cm od długości łodyg roślin nieinokulowanych. Cecha ta w sposób istotny zależała także od współdziałania kombinacji (*C. sepedonicus* vs. kontrola) i profilu glebowego. Średnia masa łodyg i masa liści roślin inokulowanych była mniejsza odpowiednio o 31,9 g i 32,9 g od masy łodyg i masy liści roślin kontrolnych. Po 45 dniach od sadzenia, średnia masa bulw wytworzonych przez rośliny inokulowane była mniejsza o 28,9 g od masy bulw roślin nieinokulowanych. Wykazano, iż na masę łodyg i liści oraz masę bulw, wytworzonych po 45 dniach od sadzenia, w sposób istotny wpływało także współdziałanie trzech czynników: kombinacja (*C. sepedonicus* vs. kontrola), profil glebowy, dawka azotu.

Potwierdzone występowanie różnic w morfologii roślin zakażonych *C. sepedonicus* w porównaniu do niezakażonych, może stanowić ważny aspekt w trakcie kontroli bakteriozy pierścieniowej ziemniaka na plantacji. Należy jednak zaznaczyć, że odmiany charakteryzują się różną podatnością na infekcję, a co za tym idzie także różną reakcją roślin na infekcję. Z różnic w podatności roślin różnych odmian ziemniaka na infekcję wynikać może brak

istotnych różnic w długości łodyg roślin zakażanych i niezakażanych u odmiany tolerancyjnej względem *C. sepedonicus*, obserwowany przez Hukkanen in. (2005), mimo iż w łodygach wykryto znaczną liczbę komórek bakterii.

Ocena plonu zebranego po zakończeniu wegetacji roślin, pod względem masy i liczby bulw pod krzakiem, wykazała istotny wpływ kombinacji (*C. sepedonicus* vs. kontrola) i dawki azotu na obydwie cechy oraz wpływ warunków lat badań na wielkość masy bulw pojedynczej rośliny. Profil glebowy nie miał istotnego wpływu na powyższe cechy.

Inokulacja sadzeniaków zawiesiną bakterii *C. sepedonicus* istotnie wpłynęła na redukcję masy i liczby bulw w plonie. Masa i liczba bulw pojedynczej, zakażonej rośliny były niższe od masy i liczby bulw rośliny wolnej od *C. sepedonicus*, odpowiednio o 35,3% i 32,4%. W obydwu badanych odmianach odnotowano podobny spadek masy i liczby bulw. Zbliżony, dość wysoki indeks latentnego zainfekowania bulw, uzyskany w teście IF dla obydwu odmian, pozwala stwierdzić, że były to odmiany o podobnej podatności na infekcję *C. sepedonicus*, dlatego też nie wystąpiły między nimi istotne różnice w wielkości spadku plonu i liczebności bulw. W badaniach Hukkanen i in. (2005) oraz Gryń i in. (2021) redukcja plonu u roślin zakażanych zależała od podatności odmiany na infekcję.

#### **Zadanie 4. Ocena dynamiki rozwoju i nasilenia występowania *C. sepedonicus* w poszczególnych organach roślin ziemniaka (korzenie, łodygi i bulwy) w okresie wegetacji, w kontekście określenia optymalnego czasu wczesnego wykrywania bakterii**

Możliwość wykrycia *C. sepedonicus* przed zbiorami pozwoliłaby producentowi, którego plantacja jest dotknięta chorobą odpowiednio wcześniej zarządzać dalszą uprawą, tak aby w jak największym stopniu ograniczyć szkody. Przeprowadzone badania wykazały, iż we wszystkich testowanych częściach roślin (korzenie, podstawa i wierzchołek łodygi, bulwy) procent prób, w których wykrywano komórki *C. sepedonicus* oraz nasilenie poziomu infekcji wzrastało w czasie wegetacji roślin ziemniaka. Około trzy i pół tygodnia po sadzeniu sztucznie inokulowanych sadzeniaków można było z dużym prawdopodobieństwem (powyżej 85%) wykryć komórki bakterii *C. sepedonicus* w próbach pobranych z korzeni i podstawy łodyg. Kaemmerer i in. (2007), którzy w badaniu zastosowali sadzeniaki naturalnie zainfekowane *C. sepedonicus*, rzadko wykrywali komórki bakterii w próbach pobranych z podstawy łodyg w trzecim tygodniu po sadzeniu. Ale już trzy tygodnie później (41 dni od sadzenia) w znacznym i jednakowym stopniu wykrywali infekcję w próbach pobranych z podstawy łodyg i bardzo młodych bulw potomnych.

Nasilenie infekcji wzrastało stopniowo do V terminu oceny tj. do 83-85 dni od sadzenia, natomiast w ostatnim - VI terminie oceny (97-99 dni od sadzenia) niezależnie od badanego organu (korzenie, łodygi i bulwy) odnotowano niewielki spadek jej nasilenia. Stopień infekcji zwiększał się średnio o 0,7 stopnia pomiędzy kolejnymi terminami. W każdym terminie oceny, podstawy łodyg i korzenie wykazywały największą liczbę bakterii *C. sepedonicus*. Wzrost stopnia zainfekowania tych dwóch organów rośliny, od I do VI terminu oceny wynosił średnio 4,4. Należy jednak zaznaczyć, że w próbach pobranych z korzeni, oglądanych pod mikroskopem odnotowywano w teście IF występowanie reakcji krzyżowych i obecność komórek o kształtach nietypowych dla *C. sepedonicus*. Stopień infekcji bulw wzrósł średnio o 3,8 stopnia (między II a VI terminem oceny). Bakterie *C. sepedonicus* w bulwach wykrywano po raz pierwszy w III terminie oceny tj. 50-57 dni od sadzenia (BBCH 63). Najniższy wzrost poziomu infekcji latentnej w czasie, występował w próbach pobranych z wierzchołków łodyg, wynosił 1,3 stopnia.

We wszystkich latach badań i w przypadku każdej z badanych odmian, podstawa łodyg była najsilniej zainfekowana *C. sepedonicus* w porównaniu do pozostałych testowanych organów rośliny. Najniższy poziom bakterii obserwowano w wierzchołkach łodyg. Cechy odmianowe ziemniaka nie miały istotnego wpływu na stopień zainfekowania podstawy łodyg. W literaturze spotyka się jednak doniesienia wskazujące, że możliwość wczesnego wykrywania bakterii *C. sepedonicus* w łodygach była zależna od podatności odmiany ziemniaka na infekcję i liczebności populacji *C. sepedonicus* w tkance roślinnej (De Boer i McCann, 1989; De Boer i in., 1992; Pastuszewska i in., 2005; Whitworth i in., 2019).

## 5. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. Największy wpływ na rozwój infekcji latentnej ocenianej metodą immunofluorescencji w liściach i bulwach, miała podatność odmiany ziemniaka na *C. sepedonicus*. Warunki pogodowe (temperatura i wilgotność powietrza) miały istotny wpływ na rozwój infekcji latentnej w liściach i bulwach. Natomiast rodzaj podłoża glebowego na jakim rosły rośliny ziemniaka determinował infekcję latentną liści.
2. Infekcji latentnej bulw potomnych, wywoływanej przez *C. sepedonicus*, sprzyjało podłoże glebowe charakteryzujące się niższą temperaturą i wyższą wilgotnością.
3. Uprawa roślin ziemniaka na podłożu glebowym, na którym rok wcześniej rosły ziemniaki inokulowane *C. sepedonicus*, skutkowałą wykryciem niewielkiej liczby komórek bakterii w bulwach potomnych w niskim procencie badanych prób. W drugim roku uprawy roślin

ziemniaka na tym samym podłożu glebowym, testem immunofluorescencji nie wykryto komórek bakterii w plonie bulw.

4. Na rozwój infekcji latentnej, wykrywanej testem immunofluorescencji, w drugim i trzecim roku uprawy ziemniaków w monokulturze, nie miało wpływu nasilenie infekcji bulw potomnych wyrastających z sadzeniaków inokulowanych *C. sepedonicus* w roku poprzedzającym.
5. Inokulacja sadzeniaków zawiesiną bakterii *C. sepedonicus* wpłynęła na zmniejszenie długości i masy łodyg oraz masy liści i bulw ocenianych w początkowej fazie kwitnienia roślin (BBCH 55-60, 45 dni po sadzeniu). Po zakończeniu wegetacji, rośliny ziemniaka wyrastające z bulw inokulowanych *C. sepedonicus* wykazywały niższą liczbę i masę bulw niż rośliny wyrastające z bulw nieinokulowanych.
6. Podatność odmian ziemniaka na *C. sepedonicus* może mieć wpływ na występowanie różnic w morfologii i plonowaniu roślin inokulowanych i wolnych od patogenu.
7. Nawożenie azotem mineralnym determinowało większość ocenianych cech morfologicznych roślin oraz wielkość plonu i liczebność bulw. Wyższe nawożenie azotowe pozytywnie wpływało na plon bulw roślin wyrastających z sadzeniaków inokulowanych i kontrolnych, w szczególności rosnących na piasku gliniastym, podłożu o wyższej wilgotności niż piasek. Rodzaj gleby na jakiej były uprawiane ziemniaki wpływał istotnie tylko na długość i masę łodyg.
8. Badanie metodą immunofluorescencji prób uzyskanych z podstaw łodyg roślin ziemniaka, w pierwszych tygodniach wegetacji roślin (BBCH 29) pozwala na wczesne wykrywanie infekcji latentnej *C. sepedonicus* na plantacji ziemniaka i podjęcie odpowiednich działań zapobiegających rozwojowi i rozprzestrzenieniu się infekcji. Skuteczność wczesnego wykrywania bakterii może być uzależniona od podatności odmiany na infekcję oraz wielkości populacji *C. sepedonicus* w sadzeniakach.
9. Badanie metodą immunofluorescencji prób uzyskanych z korzeni ziemniaka nie może być zalecane do wczesnego wykrywania infekcji latentnej *C. sepedonicus* ze względu na możliwość otrzymania fałszywie pozytywnych wyników spowodowanych występowaniem reakcji krzyżowych z przeciwciałami wykorzystywanymi do wykrywania *C. sepedonicus*.
10. Ze względu na istotny wpływ odporności odmiany na rozwój infekcji latentnej *C. sepedonicus* istotnym krokiem w kierunku zwalczania bakteriozy pierścieniowej ziemniaka byłoby określanie podatności odmian na infekcję na etapie hodowli.

Przeprowadzone badania poszerzyły wiedzę na temat epidemiologii bakteriozy pierścieniowej ziemniaka, w szczególności z zakresu wpływu warunków pogodowych i glebowych na występowanie infekcji letentnej wywoływanej przez *C. sepedonicus*.

## 6. LITERATURA

- Bentley S.D., Corton C., Brown S.E., Barron A., Clark L., Doggett J., Harris B., Ormond D., Quail M.A., May G., Francis D., Knudson D., Parkhill J., Ishimaru C.A. (2008). *J. Bacteriol.* 190 (6): 2150–2160. doi: 10.1128/JB.01598-07.
- Bishop A.L., Slack S.A. (1982). *Phytopathology* 72: 1382.
- Bishop A.L., Slack S.A. (1987). *Phytopathology* 77: 1085–1089.
- Chotkowski J., Rembeza J. (2013). *Rocz. Nauk. Stow. Ekon. Rol. Agrobiz.* 15 (1): 12–17.
- De Boer S.H., McCann M. (1989). *Phytopathology* 79: 946–951.
- De Boer S.H., McCann M. (1990). *Am. Potato J.* 57: 685–694.
- De Boer S.H., Janse J.D., Stead D.E., Van Varenbergh J., McKenzie A.R. (1992). *Potato Res.* 35: 207–216.
- FAOstat (2022). FAOSTAT Statistical Databases, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Gryn G., Pietraszko M., Przewodowski W., Franke K., Nowakowski M., Nowakowski M. (2021). *Eur. J. Plant Pathol.* 1, 113–125. DOI: 10.1007/s10658-021-02226-7
- Hill B.D., Kalischuk M., Waterer R.W., Bizimungu B., Howard R. and Kawchuk L.M. (2011). An environmental model predicting bacterial ring rot symptom expression. *Am. J. Potato Res.* 88: 294–301. doi: 10.1007/s12230-011-9193-4.
- Hukkanen A., Karjalainen R., Nielsen J., van der Wolf J.M. (2005). *J Plant Dis Prot* 112(1): 88–97
- Kaemmerer D., Seigner L., Poschenrieder G., Zellner M., Munzert M. (2007). *J Plant Dis Prot* 114(4): 159–166.
- Kawchuk L. M., Lynch D. R., Kozub G. A., Nelson G. A., Kulcsar F., Fujimoto D. K. (1998). *Am. J. Potato Res.* 75: 235–243.
- Li X., Tambong J., Yuan K.X., Chen W., Xu H., Lévesque C.A., De Boer S.H. (2018). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68: 234–240. doi: 10.1099/ijsem.0.002492.
- Manzer F.E. and McKenzie A.R. (1988). *Am. Potato J.* 65: 333–339.
- Myślińska E. (1998). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. ISBN 83-01-12423-7.
- Nelson G.A. (1982). *Can. J. Plant Pathol.* 4: 129–133.
- Nelson G.A. (1985). *Am. Potato J.* 62: 23–28.
- Nelson G.A., Lynch D.R., Kozub G.C. (1992). *Potato Res.* 35: 133–142.
- Nouioui I., Carro L., García-López M., Meier-Kolthoff J.P., Woyke T., Kyrpidis N.C., Pukall R., Klenk H.P., Goodfellow M., Göker M. (2018). *Front Microbiol* 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.02007.
- OEPP/EPPO (2006). EPPO Standards PM 7/59 (1). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 36: 99–109
- Pastuszevska T., Lewosz J., Sadoch Z. (2005). *Phytopathol. Pol.* 35: 95–102.
- Pastuszevska T., Gryn G., Franke K. (2010). *J Plant Prot Res* 50(1): 245–248.
- PIORiN (2022). Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa, [HTTP://PIORIN.GOV.PL/GI-AKTUALNOSCI/WYSTEPOWANIE-BAKTERIOZY-PIERSCIENIOWEJ-ZIEMNIAKA-W-UNII-EUROPEJSKIEJ-W-TYM-W-POLSCE,572.HTML#](http://PIORIN.GOV.PL/GI-AKTUALNOSCI/WYSTEPOWANIE-BAKTERIOZY-PIERSCIENIOWEJ-ZIEMNIAKA-W-UNII-EUROPEJSKIEJ-W-TYM-W-POLSCE,572.HTML#), (dostęp: luty 2023).
- PTG (2009). Polskie Towarzystwo Gleboznawcze. *Rocz. Glebozn. – Soil Sci. Ann* 60 (2): 5–16.
- Skowera B. (2014). *Fragm. Agron.* 31 (2): 74–87.
- Sletten A. (1985). *Potato Res.* 28: 27–33.
- Spieckermann A., Kotthoff P. (1914). *Landwirtschaftliche Jahrbücher* 64: 659–732.
- Townsend G.R., Heuberger J.W. (1943). *Plant dis. rep.* 27: 340–3.
- van der Wolf J.M., Elphinstone J.G., Stead D.E., Metzler M., Müller P., Hukkanen A., Karjalainen R. (2005). Plant Research International B.V., Wageningen: 3–21.
- Westra A.A.G., Slack S.A. (1994). *Phytopathology* 84: 228–235.
- Whitworth J.L., Selstedt R.A., Westra A.A.G., Nolte P., Duellman K., Yellareddygar S.K.R., Gudmestad N.C. (2019). *Am. J. Potato Res.* 96 (4): 427–444.
- Zimnoch-Guzowska E. (2016). Program zwalczania bakteriozy pierścieniowej w produkcji ziemniaków wymaga korekty. *Ziem. Pol.* 4: 46.