



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN  
– PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY  
W RADZIKOWIE

Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemiaka w Boninie

# *Nasiennictwo i ochrona ziemiaka*

*48. konferencja  
naukowo-szkoleniowa*



Dźwirzyno  
13-15 maja 2015 r.

Bonin 2015

## LITERATURA

1. Baer D., Gudmestad N. C. 1995. In vitro cellulolytic activity of plant pathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. – Canad. J. Microbiol. 41 (10): 877-888
2. Jahr H., Bahro R., Ahlemeyer J., Eichenlaub R. 1999. Interactoins between *Clavibacter michiganensis* and its host plants. – Environ. Microbiol. 1(2): 113-118
3. Nissinen R., Kassuwi S., Peltola R., Metzler M. C. 2001. In planta – complementation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* strains deficient in cellulose production or HR induction restores virulence. – Eur. J. Plant Path. 107: 175-182

### **PODATNOŚĆ WYBRANYCH ODMIAN ZIEMNIAKA NA PORĄŻENIE BAKTERIAMI *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SUBSP. *SEPEDONICUS* W ZRÓŻNICOWANYCH WARUNKACH GLEBOWYCH**

***mgr Milena Pietraszko<sup>1</sup>, dr inż. Włodzimierz Przewodowski<sup>2</sup>  
dr inż. Teresa Pastuszevska<sup>3</sup>, dr inż. Grzegorz Gryń<sup>3</sup>***

<sup>1</sup>IHAR-PIB Oddz. w Jadwisinie, ul. Szaniawskiego 15, 05-140 Jadwisin

<sup>2</sup>IHAR-PIB Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemiaka w Boninie

<sup>3</sup>IHAR-PIB Oddz. w Bydgoszczy, al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz  
e-mail: m.pietraszko@ihar.edu.pl

**P**odgatunek bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) (Spickermann et Kotthoff) Davies et al., jest organizmem kwarantannowym wywołującym bakteriozę pierścieniową ziemniaka. Występowanie Cms na plantacjach powoduje znaczne straty gospodarcze. Bezpośrednie straty, które w Polsce występują sporadycznie, są efektem wędnięcia części nadziemnej ziemniaka, redukcji plonów i gnicia bulw podczas przechowywania. Znaczne są natomiast straty pośrednie, które wynikają z konieczności respektowania przepisów fitosanitarnych określonych w dyrektywach unijnych i krajowych rozporządzeniach, nakazujących utylizację ziemniaków, kilkuletni zakaz ich uprawy oraz ograniczenia w eksporcie.

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka jest chorobą trudną do rozpoznania i zwalczania ze względu na zasiedlanie przez patogen systemu naczyniowego bulw, łodyg i liści, powolny rozwój objawów na roślinach oraz występowanie całkowicie bezobjawowej (latentnej) postaci choroby.

Rozwój objawów i nasilenie porażenia bakteriozą pierścieniową zależy od wielkości i rodzaju inokulum bakteryjnego, odmiany ziemniaka i warunków środowiskowych, takich jak temperatura, wilgotność i skład gleby. Nie wyhodowano do tej pory odmian odpornych na Cms, jedynie tolerancyjne, które mogą stanowić groźne źródło rozprzestrzeniania się bakterii w bulwach porażonych latentnie (Van der Wolf 2005).

Praca stanowi wstępne opracowanie wyników trwających badań, którego celem jest ocena podatności odmian ziemniaka wybranych z krajowego rejestru na sztuczną inokulację zawieszoną komórek Cms w zależności od warunków glebowych.

Porównywano dwie odmiany średnio późne skrobiowe pochodzące z polskiej hodowli: Bosman i Ikar. Sadzeniaki tych odmian inokulowano zawieszoną patogenicznego szczepu Cms. Sadzeniaki nieinokulowane stanowiły kontrolę negatywną. Bulwy wysadzano na mikropolet-



kach do trzech różnych gleb o następującym składzie granulometrycznym: piasek gliniasty lekki pylasty na glinie lekkiej węglanowej, piasek gliniasty lekki całkowity i glina lekka na glinie ciężkiej. Prowadzono obserwacje rozwoju roślin oraz ocenę uzyskanego plonu. W okresie wegetacji pobierano próby z łodyg i próby z bulw po zbiorze w celu identyfikacji *Cms* testem immunofluorescencyjnym (IF).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono zróżnicowanie podatności badanych odmian na bakteriozę pierścieniową ziemniaka. Znacznie mniejszą liczbę zgromadzonych bulw potomnych oraz wyższy stopień porażenia przez *Cms* zarówno części nadziemnej, jak i bulw odnotowano u odmiany Bosman (tab. 1 i 2). Ponadto zaobserwowano tendencję do szybszego tempa rozwoju roślin, dłuższego okresu wegetacji oraz wyższego plonu u odmiany Ikar – o niższym indeksie porażenia roślin i bulw.

Suma liczby bulw znacznie różniła się pomiędzy roślinami inokulowanymi *Cms* i roślinami kontrolnymi, wynosząc 35 dla roślin zainfekowanych *Cms* i 43,2 dla roślin wolnych od bakteriozy pierścieniowej. Podobną, istotną statystycznie zależność uzyskano w przypadku roślin odmiany Bosman.

Istotne zróżnicowanie profili glebowych udowodniono również pod względem liczby zgromadzonych bulw potomnych (tab. 1). Na ww. cechę znaczący wpływ miało także współdziałanie: profil glebowy x kombinacja (*Cms*-kontrola). Szczegółowe analizy każdej z odmian wykazały, że termin zasychania roślin w przypadku odmiany Bosman i wysokość plonu u odmiany Ikar były uzależnione od składu granulometrycznego gleby. Glina lekka na glinie ciężkiej była najbardziej niekorzystna pod względem plonowania roślin, ale sprzyjająca porażeniu bakteriozą.

Tabela 1

**Zróżnicowanie profili glebowych i odmian  
pod względem zgromadzonej liczby bulw potomnych**

Suma liczby bulw						
odmiana	kombinacja	profil glebowy			średnio dla odmiany i kombinacji	
		piasek gliniasty lekki pylasty na glinie lekkiej węglanowej	piasek gliniasty lekki całkowity	glina lekka na glinie ciężkiej		
Bosman	Cms	29	23	11	21,0 a	29,3 a
	kontrola neg.	36	41	36	37,7 b	
Średnio		32,5 a*	32,0 a	23,5 a	x	
Ikar	Cms	57	47	43	49,0 a	48,8 b
	kontrola neg.	49	50	47	48,7 a	
Średnio		53,0 a	48,5 a	45 a	x	
Średnio dla profilu glebowego		42,8 a	40,3 ab	34,3 b	x	

\*średnie z tą samą literą nie różnią się istotnie ( $\alpha = 0,05$ )

Tabela 2

**Ocena preparatów IF wykonanych z łodyg i bulw ziemniaka  
badanych odmian, łącznie dla profili glebowych**

Odmiana	Stopień porażenia łodyg (%)	Stopień porażenia bulw (%)
Bosman	87,5	100,0
Ikar	18,8	70,8

## LITERATURA

1. Van der Wolf J. M., Elphinstone J. G., Stead D. E., Metzler M., Müller P., Hukkanen A., Karjalainen R. 2005. Epidemiology of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot. Plant Research International B.V., Wageningen: 3-21

## OCZYSZCZANIE PRZECIWCIAŁ KRÓLICZYCH METODĄ POWINOWACTWA

dr inż. Włodzimierz Przewodowski, mgr inż. Wioleta Stochła  
IHAR-PIB, ZNiOZ w Boninie, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii  
e-mail: [wlodzimierz.przewodowski@tu.koszalin.pl](mailto:wlodzimierz.przewodowski@tu.koszalin.pl)

Przeciwciała (immunoglobuliny), jako cząstki receptorowe mające zdolność specyficznego oddziaływania z innymi cząstkami – antygenami (np. bakteriami, wirusami, białkami itp.), odgrywają kluczową rolę w diagnostyce immunologicznej wykorzystującej zasadę immunopowinowactwa. Czułość i specyficzność metod immunologicznych zależy w głównej mierze od jakości, związanej z mianem i specyficznością stosowanych przeciwciał. Ze względu na specyficzność rozróżnia się dwa rodzaje przeciwciał – poli- i monoklonalne, które reagują odpowiednio z wieloma oraz jednym epitopem (fragmentem antygeny) na powierzchni antygeny. Stosując w diagnostyce przeciwciała poliklonalne, uzyskuje się zwykle większą czułość, ale mniejszą specyficzność, natomiast przeciwciała monoklonalne zapewniają przeważnie większą specyficzność oraz niższą niż poliklonalne czułość. Optymalnym rozwiązaniem byłoby zastosowanie czułych przeciwciał poliklonalnych, charakteryzujących się wysoką specyficznością przeciwciał monoklonalnych. Przeciwciała takie, stosowane w diagnostyce ważnych mikroorganizmów patogennych, pozwoliłyby uzyskać wysoką czułość metody, zachowując równocześnie wysoką specyficzność.

Dlatego też za cel pracy przyjęto opracowanie metodyki pozwalającej na podniesienie czułości i specyficzności poliklonalnych przeciwciał króliczych skierowanych na komórki sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka – kwarantannowych bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Chcąc poprawić jakość badanych przeciwciał IgG anti-Cms, zastosowano metodę chromatografii powinowactwa, wykorzystując wzajemne oddziaływanie immunoglobulin w stosunku do komórek bakterii Cms. W celu przeprowadzenia procesu chromatograficznego antygen (komórki bakteryjne oraz komponenty śluzu bakteryjnego) umieszczano poprzez kopolimeryzację w żelu poliakrylamidowym. Po inkubacji przeciwciał z badanym złożem i usunięciu niezwiązanych przeciwciał IgG związane w kompleksie antygen-przeciwciało uwalniano za pomocą odpowiednio dobranych buforów elucyjnych. Ilość otrzymanych przeciwciał oceniano na każdym z etapów testami BCA oraz spektrofotometrycznym przy  $\lambda = 280$  nm, natomiast skuteczność wzbogacania miana i czystość wyznaczano elektroforytycznie oraz metodą DAS-ELISA.

Wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy wskazują na użyteczność stosowanej metody chromatografii immunopowinowactwa w polepszeniu miana badanych przeciwciał w stosunku do tradycyjnie stosowanych metod oczyszczania.