

Konferencja Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego „Nowoczesne spojrzenie na fitopatologię”

Problemy i nowe rozwiązania dotyczące diagnostyki
kwarantannowej bakterii *Clavibacter sepedonicus* -
- sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka.

Dr hab. inż. Włodzimierz Przewodowski
IHAR – PIB, Oddział w Boninie

Poznań, 7-8 września 2022 r.

***Clavibacter sepedonicus* (Cs) (Spieckermann & Kotthoff 1914) Nouioui et al. 2022**

Cechy charakterystyczne:

- agrofag kwarantanny, sprawca bakteriozy pierścieniowej ziemniaka,
- organizm szkodliwy podlegający urzędowemu zwalczaniu,
- występuje głównie w klimacie umiarkowanym,
- jedna roślina żywicielska – ziemniak (*Solanum tuberosum*), żywiciele pośredni (burak cukrowy, pomidor, papryka, oberżyna, chwasty z rodziny psiankowatych),
- trudno go zwalczyć:
 - Bakterie Cs zlokalizowane są głównie w tkankach przewodzących ziemniaka co utrudnia ich zwalczanie bezpośrednio w roślinach i bulwach.
 - Brak chemicznego lub biologicznego sposobu zwalczania Cs w tkankach ziemniaka.
 - Bakterie przeżywają zimę w porażonych resztkach roślin i bulw, samosiewach ziemniaka, a także na resztkach innych roślin żywicielskich, powierzchni ścian przechowalni, pojemników i urządzeń, które miały kontakt z porażonymi bulwami.
- sprawia problemy w diagnostyce.

Problemy związane z diagnostyką *C. sepedonicus*:

- Bakterie *C. sepedonicus* często wywołują bezobjawową (latentną) formę choroby. Powód to niska koncentracja bakterii Cs w tkankach i/lub tolerancyjność odmian ziemniaka. Skutek to brak widocznych objawów infekcji.
- Pełnoobjawowa postać choroby uwidacznia się zazwyczaj pod koniec okresu wegetacji lub w trakcie przechowywania bulw i często mylona jest z objawami innych chorób ziemniaka oraz objawami suszy.
- Utrudnienia związane z izolacją i identyfikacją bakterii bezpośrednio z prób środowiskowych (rośliny i bulwy ziemniaka, gleba i woda). Powód to niska koncentracja bakterii Cs i/lub obecność różnych zanieczyszczeń pochodzenia mikrobiologicznego, chemicznego, biochemiczne, biologiczne i fizykochemiczne), których obecność może doprowadzić do zafałszowania wyniku testu diagnostycznego. Brak metody, która pozwoliłaby na całkowitą eliminację zanieczyszczeń podczas izolacji bakterii Cs z prób środowiskowych.
- Brak dostępnych komercyjnie odpowiednio specyficznych przeciwciał do diagnostyki Cs co utrudnia identyfikację metodami immunologicznymi.
- Brak efektywnej metody izolacji Cs z prób środowiskowych, która pozwoliłaby na zachowanie żywotności badanych komórek bakteryjnych i jednoczesne pozbycie się substancji i mikroorganizmów działających toksycznie na komórki Cs.
- Brak w pełni selektywnych podłoży mikrobiologicznych dla namnażania bakterii Cs, co znacznie ogranicza izolację czystych izolatów bakterii i wykonania testu biologicznego pozwalającego na określenie patogeniczności Cs.
- Ograniczenia stosowanych obecnie metod diagnostycznych.

Nowe rozwiązania związane z diagnostyką *C. sepedonicus*:

- Diagnostyka testami zalecanymi w nowym rozporządzeniu wyk. Komisji UE 2022/1194 z 11.07.2022 r.:
 - Izolacja Cs bezpośrednio na podłożach mikrobiologicznych lub po wzbogaceniu w teście biologicznym.
 - test immunofluorescencyjny (IFAS),
 - testy molekularne (konwencjonalny test PCR (Patrik (2000), test Real-Time PCR TaqMan® z użyciem starterów i sond: Schaad i in. (1999), Vreeburg i in. (2018) (tzw test NYtor), Gudmestad i in. (2009) i Massart i in. (2014), barkodowanie DNA oraz MALDI-TOF MS (Zaluga et al. (2011).
- Testy dostępne komercyjnie:
 - Test ELISA, IFAS, LF, zestawy do PCR i Real-Time PCR (Loewe, Niemcy),
 - Test AmplifyRP® XRT, ELISA i IFAS (Agdia, USA)
- Nowe rozwiązania diagnostyczne opracowane w Oddziale IHAR-PIB w Boninie:
 - Przeciwciała anty-Cs - Patent PL 210394, (Przewodowski i Przewodowska 2017),
 - Immunosorbenty, startery, sposób immobilizacji IgG i zestaw do wykrywania Cs Patenty PL P 213855 i PL 238783, Przewodowski i in. (2021),
 - Test filtracyjny Patent PL P 213858, EP 2 205 735 B1 i US 8,642,275 B2.
 - Test immunofiltracyjny Patent PL 213857, EP 2 205 735 B1 i US 8,642,275 B2.
 - Test paskowy typu Lateral-Flow, Przewodowski i in. (2021) wyniki nieopublikowane,
 - Testy immuno-PCR, immuno-Real-Time PCR i immuno-LAMP na bazie nowo opracowanych IgG i starterów PCR, Real-Time i LAMP, Patent PL 210394, PL 210395 i PL 238783.

Dziękuję za uwagę

Radzików
05-870 Błonie
tel. +48 22 733 45 00
NIP: 5290007029
REGON: 000079480
e-mail: postbox@ihar.edu.pl
www.ihar.edu.pl

Dr hab. inż. Włodzimierz Przewodowski

IHAR-PIB Oddział w Boninie
Bonin 3, 76-009 Bonin
tel. 94 342 30 31
e-mail: w.przewodowski@ihar.edu.pl