

MILENA PIETRASZKO
DOMINIKA BOGUSZEWSKA-MAŃKOWSKA
WOJCIECH NOWACKI

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB
Zakład Agronomii Ziemiaka w Jadwisinie

Rozwój bakteriozy pierścieniowej ziemniaka w bulwach odmiany Drop, zachodzący w okresie przechowywania

Development of potato ring rot in tubers of cultivar Drop during storage period

Badania przeprowadzono w latach 2007–2009 na mikroplotkach i w przechowalni doświadczalnej IHAR — PIB Oddział w Jadwisinie. Celem badań była ocena rozwoju bakteriozy pierścieniowej w bulwach potomnych ziemniaka odmiany Drop, po sześciomiesięcznym okresie przechowywania. Przed sadzeniem sadzeniaki inokulowano zawiesiną bakteryjną *Cms* o dwóch gęstościach: 10^6 jtk/ml i 10^8 jtk/ml. Bulwy potomne oceniano pod względem wystąpienia objawów bakteriozy pierścieniowej na ich przekroju oraz poddano analizie laboratoryjnej testem IF w celu stwierdzenia bezobjawowej postaci choroby. Bulwy potomne z objawami porażenia przez *Cms* stanowiły łącznie 1,9% bulw poddanych ocenie makroskopowej. Wyższy udział bulw z objawami porażenia stwierdzono w bulwach ocenianych po okresie przechowywania, pochodzących od sadzoniaków inokulowanych zawiesiną bakteryjną *Cms* o gęstości 10^8 jtk/ml. Udział prób z wykrytą obecnością komórek *Cms*, na podstawie obserwacji testu IF wzrósł po okresie przechowywania o 9%. Obserwowano różnice w nasileniu porażenia latentnego bulw badanych po zbiorze i po przechowywaniu. Silniej porażone przez *Cms* były bulwy po okresie przechowywania. Stwierdzono wyższy stopień porażenia latentnego bulw potomnych, pochodzących od sadzoniaków inokulowanych zawiesiną bakteryjną o większym zagęszczeniu komórek *Cms*, tj. 10^8 jtk/ml, zarówno w próbach badanych bezpośrednio po zbiorze jak i po okresie przechowywania.

Słowa kluczowe: bakterioza pierścieniowa ziemniaka, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, przechowywanie ziemniaka, test IF, monitoring *Cms*, porażenie bezobjawowe

The study was conducted on microplots and in potato storage at the Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Division Jadwisin in 2007–2009. The aim of this study was to assess the development of latent form of ring rot in progeny tubers of Drop cultivar during storage period (6 months). Before planting, seed tubers were inoculated with bacterial suspension of two concentrations of *Cms* cells: 106 cfu/ml and 108 cfu/ml. The share of progeny tubers with visible symptoms was found in a 1.9% of the assessed tubers. The share of samples with *Cms* cells

detected using IF test increased after storage by 9%. Latent tuber infection rate increased after storage in comparison to results obtained directly after harvest. The highest percentage of latently infected progeny tubers was determined for samples in which potato seed tubers were inoculated with bacterial suspension of 10⁸ cfu/ml *Cms* concentration.

Key words: bacterial ring rot, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, storage period, test IF, monitoring *Cms*, latent infection

WSTĘP

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka wywoływana przez bakterie z gatunku *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) jest groźną chorobą kwarantannową. Dla producentów ziemniaka wykrycie choroby oznacza drastyczne konsekwencje w postaci: strat materialnych, restrykcji prawnych i fitosanitarnych skutkujących ograniczeniami w produkcji, obrocie krajowym i eksporcie ziemniaków.

Największe znaczenie w rozprzestrzenianiu bakterii *Cms* mają porażone sadzeniaki, dlatego tak istotne jest stosowanie kwalifikowanego materiału sadzeniakowego. Inną drogą szerzenia się choroby są zainfekowane maszyny, narzędzia, worki i pomieszczenia. W celu uniknięcia porażenia i rozprzestrzeniania *Cms* należy przestrzegać zasad higieny i dezynfekcji. Bakteria infekuje w sposób systemiczny wiązki naczyniowe roślin ziemniaka utrudniając bezpośrednie chemiczne bądź biologiczne jej zwalczanie.

Dopóki nie wystąpią wyraźne objawy choroby jest ona trudna do wykrycia na plantacji i w przechowalni. Pierwsze symptomy choroby na częściach nadziemnych roślin ziemniaka pojawiają się na niżej położonych liściach, wokół łodygi bądź z jednej jej strony. Brzegi liści zwijają się do zewnątrz ku górze, bledną i więdną. Liście stają się stopniowo matowo zielone, czasem są cętkowane, w końcu brunatnieją i obumierają.

Objawy porażenia bulw bakteriozą pierścieniową są obserwowane po przekrojeniu bulwy, w postaci wąskich, szklistych do kremowo żółtych przebarwień wiązki przewodzącej. W przypadku bardziej zaawansowanej infekcji przebarwienie wiązki przewodzącej może być koloru jasnobrazowego i obejmować cały jej obwód. Po ściśnięciu bulwy, w miejscu wiązki następuje jej rozwarstwienie i wyciek kremowego, bezwonnego śluzu bakteryjnego.

Objawy chorobowe, uwidaczniają się często dopiero pod koniec okresu wegetacji lub przechowywania bulw ziemniaka. Na roślinach mogą być mylone lub maskowane objawami innych chorób, takich jak: zaraza ziemniaka (*Phytophthora infestans*), więdnienie (*Verticillium albo-atrum*), lub błędnie identyfikowane jako objawy starzenia się rośliny. Natomiast na bulwach mogą być mylone z objawami mokrej zgnilizny (*Ervinia carotovora* subsp. *atroseptica*). Nasilenie objawów jest uzależnione od warunków otoczenia, stężenia bakterii wewnątrz rośliny, jak również odmiany ziemniaka (Pastuszewska, 2004).

Prawidłowa diagnostyka choroby przysparza wiele trudności powodując ograniczone możliwości zwalczania i kontrolowania rozprzestrzeniania się jej sprawcy (Przewodowski, 2012). Bakterie *Cms* trudno wykryć przede wszystkim ze względu na ich niskie tempo wzrostu. Koncentracja bakterii w bulwach i łodygach roślin ziemniaka przez długi czas jest bardzo niska, a rozwój choroby w pierwszej fazie zachodzi bezobjawowo (Dykstra, 1941;

Slack, 1987). Zanim bakterie *Cms* rozmnożą się do poziomu wywołującego makroskopowe objawy lub do poziomu wykrywalnego metodami immunologicznymi, choroba w postaci latentnej może utrzymywać się nawet przez kilka kolejnych rozmnożeń wegetatywnych roślin, stwarzając zagrożenie infekcyjne (De Boer i McNaughton, 1986; Slack, 1987; Manzer i in., 1987; De Boer i in., 1992a). Przypuszcza się, że na wielkość populacji bakterii *Cms* oraz zmienność nasilenia porażenia roślin i bulw ziemniaka mają wpływ warunki środowiskowe i odmiana (De Boer i McNaughton 1986; De Boer i in., 1992a; Nelson i in., 1992; Westra i in., 1994; Kawchuk i in., 1998; Pastuszewska i Junosza-Kisielewska, 2002, 2004).

Celem pracy była ocena rozmnażania się bakterii *Cms* w bulwach potomnych odmiany Drop, pochodzących od zainfekowanych sadzeniaków, w okresie przechowywania.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie polowe prowadzono w latach 2007–2009 na mikropoletkach, w Oddziale Jadwisin Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy. Materiał do badań stanowiły bulwy potomne ziemniaków odmiany Drop, których sadzeniaki każdego roku inokulowano zawiesiną komórek *Cms*. Do badań wykorzystano mieszaninę mukoidalnych szczepów *Cms*. Użyto dwie gęstości zawiesiny bakteryjnej: 10^6 jtk/ml i 10^8 jtk/ml (jednostek tworzących kolonie/ml). Inokulację sadzeniaków prowadzono przy zastosowaniu skalpela. Ostrze zanurzano w zawieszynie bakteryjnej, a następnie nakłuwano bulwy 10 razy w okolicy oczek. Daną zawiesiną bakteryjną zakażano 24 sadzeniaki, które następnie wysadzano do gleby.

Rośliny ziemniaka były sadzone i zbierane w zbliżonych do optymalnych terminach agrotechnicznych. Sadzenie i zbiór ziemniaków wykonywano ręcznie. Gęstość sadzenia wynosiła 60×40cm. Stosowano chemiczną ochronę roślin przeciwko stoncy i zarazie ziemniaka. Chwasty usuwano ręcznie.

W czasie wegetacji nie obserwowano objawów chorobowych na roślinach ziemniaka.

Bezpośrednio po zbiorze wybrane losowo bulwy analizowano pod względem wystąpienia objawów chorobowych na ich przekroju, oraz poddano je serologicznemu testowi immunofluorescencji pośredniej IF w celu stwierdzenia występowania komórek bakterii *Cms*. Następnie, bulwy złożono do przechowywania w plastikowych skrzyniach o pojemności 15 kg, ustawionych jedna nad drugą. W pomieszczeniu, w którym przechowywano bulwy utrzymywano temperaturę 4–6°C i wilgotność powietrza na poziomie 85–90%. Po sześciu miesiącach przechowywania przeprowadzono ponownie badanie tej samej partii ziemniaków przeprowadzając obserwacje objawów chorobowych oraz wykonując test immunofluorescencji pośredniej IF.

Losowo wybranych 10 bulw potomnych pochodzących z jednej rośliny stanowiło jedną próbę. W jednym terminie, dla każdej z dwóch w/w zawiesin *Cms* zastosowanych do zakażenia sadzeniaków, zbadano 24 próby. Łącznie przebadano 288 prób. Postępowanie z każdą z prób było zgodne z procedurą dla testu IF, podaną w Dyrektywie Komisji 2006/56/WE z dnia 12 czerwca 2006 roku.

Z umytych bulw wycinano zdezynfekowanym skalpelem fragment tkanki przewodzącej z części przystolonowej. Wycinki bulw umieszczano w pojemniku plastikowym, zalewano buforem do maceracji PB 0,05M, pH7,0 i wytrząsano na wytrząsarce. Roztwór wirowano, oddzielony w ten sposób supernatant odrzucano, a osad zawieszano w buforze PB 0,01M, pH 7,2.

Osad rozcieńczano dziesięcio- i stukrotnie w buforze PB 0,01M, pH 7,2. Kolejne rozcieńczenia osadu nanoszono na szkiełka wielopunktowe w ilości 20 μ l na okienko, które suszono i utrwalano 95% alkoholem etylowym. Następnie stosowano kozie przeciwciała poliklonalne i koniugat króliczy firmy Loeve. Preparaty pokryte przeciwciałami inkubowano przez 30 min. w wilgotnej, ciemnej komorze. Następnie przeprowadzono dwukrotnie płukanie w buforze PBS 0,01M, pH 7,2 i suszenie. Nanoszono koniugat przeciwciał króliczych, który płukano dwukrotnie jak poprzednio. Następnie na szkiełka nanoszono 0,1M roztwór PB z glicerolem, pH 7,6 i przykrywano je szkiełkami nakrywkowymi. Test odczytywano pod mikroskopem epifluorescencyjnym Nikon Eclipse E600, przy powiększeniu 1000 razy. W preparatach z badanych prób, w przynajmniej 10 polach widzenia, poszukiwano morfologicznie typowych, jaskrawo fluoryzujących komórek *Cms* i przeliczano ich liczbę na mililitr nierozcieńczonego osadu.

Do wykonania analiz statystycznych zebranych wyników użyto 8-stopniowej skali porażenia bulw w próbie. Skalę utworzono w oparciu o liczebność komórek *Cms* w 1 ml nierozcieńczonego osadu. W skali tej, 0 oznacza brak komórek *Cms* w preparacie, a 8 najwyższą liczbę i koncentrację komórek *Cms* w 1 ml osadu (tab. 1).

Tabela 1

Skala porażenia latentnego przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) bulw ziemniaka, na podstawie testu IF (opracowanie: Zakład Agronomii Ziemniaka IHAR-PIB w Jadwisinie)
Scale of latent tubers infection caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) on the basis of IF test

Stopień porażenia The degree of infection	Liczebność komórek <i>Cms</i> w 1 ml nierozcieńczonego osadu (jtk/ml) Concentration of <i>Cms</i> cells in 1 ml of pellet	Liczba komórek <i>Cms</i> obserwowanych w okienku preparatu lub polu widzenia Number of <i>Cms</i> cells observed in window of microscopic slide or field of vision
0	brak komórek <i>Cms</i> w preparacie lack of <i>Cms</i> cells	brak komórek <i>Cms</i> w okienku preparatu lack of <i>Cms</i> cells in window of microscopic slide
1	50-10 ³	1-20 w okienku preparatu — in window of a slide
2	1,4 \times 10 ⁵	0-5 w polu widzenia — in field of vision
3	2,9 \times 10 ³ -1,4 \times 10 ⁵	1-5 w polu widzenia — in field of vision
4	1,4 \times 10 ⁵ -2,9 \times 10 ⁵	5-10 w polu widzenia — in field of vision
5	1,4 \times 10 ⁶	50 w polu widzenia — in field of vision
6	2,9 \times 10 ⁶	100 w polu widzenia — in field of vision
7	5,8 \times 10 ⁶	200 w polu widzenia — in field of vision
8	1,4 \times 10 ⁷ i więcej	500 i więcej w polu widzenia — in field of vision

Wartości wyrażone w stopniach przeliczono na ogólny stopień porażenia bezobjawowego bulw z danego obiektu, według wzoru Townsenda i Heubergera (1943): $\frac{\sum n \cdot v}{i \cdot N} \cdot 100$ i średni stopień porażenia bulw: $\frac{\sum n \cdot v}{N}$, gdzie n — liczba prób z danego obiektu w danym stopniu porażenia, v — stopień porażenia, i — najwyższy stopień skali porażenia,

N — całkowita liczba badanych prób z danego obiektu. Wyniki poddano analizie statystycznej programem SAS Enterprise Guide 4, wykonując analizę wariancji ($\alpha = 0,05$) dla trzech zmiennych tj. terminu badania bulw, poziomu zawiesiny bakteryjnej i lat badań.

WYNIKI I DYSKUSJA

W latach 2007–2009 w 2,7% prób wykryto bulwy z objawami porażenia bakteriozą pierścieniową ziemniaka. Udział bulw z jawnymi objawami choroby stanowił 1,9% wszystkich badanych bulw. Charakterystyczne przebarwienie wiązek przewodzących zaobserwowano na 5 bulwach ocenianych bezpośrednio po zbiorze, oraz 10 bulwach ocenianych po okresie przechowywania. Bardziej podatnymi okazały się bulwy potomne pochodzące od sadzeniaków inokulowanych zawiesiną bakteryjną *Cms* o gęstości 10^8 jtk/ml.

Porażenie latentne bulw wykryto łącznie w 76,7% prób badanych bezpośrednio po zbiorze i po okresie przechowywania. Na podstawie testów wykonanych metodą IF, wyższy o 9% udział prób w których wykrywano obecność komórek *Cms*, stwierdzono w przypadku prób badanych po przechowywaniu (81,2%), w porównaniu do prób badanych bezpośrednio po zbiorze (72,2%). Liczba porażonych prób pobranych z bulw potomnych pochodzących od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^6 jtk/ml wzrosła o 4%, natomiast pochodzących od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml wzrosła o ok. 14% (tab. 2).

Tabela 2

Porażenie latentne przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) bulw potomnych odmiany Drop – procentowy udział prób w których na podstawie testu IF stwierdzono obecność komórek *Cms*. Lata 2007–2009

Latent infection by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* of potato cultivar Drop progeny tubers — percentage of infected samples (IF test). Years 2007–2009

Termin badania bulw potomnych Date of <i>Cms</i> detection in progeny tubers	Po zbiorze After harvest		Po przechowywaniu After storage	
Gęstość zawiesiny <i>Cms</i> użytej do zakażenia sadzeniaków Concentration of <i>Cms</i> suspension used to inoculate seed	106jtk/ml 106cfu/ml	108jtk/ml 108cfu/ml	106jtk/ml 106cfu/ml	108jtk/ml 108cfu/ml
Procent prób w których stwierdzono obecność <i>Cms</i> Percentage of infected samples	75,0	69,4	79,1	83,3

Obserwowano istotne różnice w nasileniu porażenia bulw w zależności od terminu badania. Silniej porażone przez *Cms* były bulwy po okresie przechowywania. Najsilniej porażone były bulwy ziemniaków przechowywanych, pochodzące od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml. Ogólny stopień porażenia tych bulw osiągnął poziom 54,9%, średni stopień porażenia — 4,39. Najsłabsze porażenie odnotowano w bulwach badanych bezpośrednio po zbiorze, pochodzących od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^6 jtk/ml. Ogólny stopień porażenia bulw w tym przypadku wyniósł 37%, a średni stopień porażenia — 2,96.

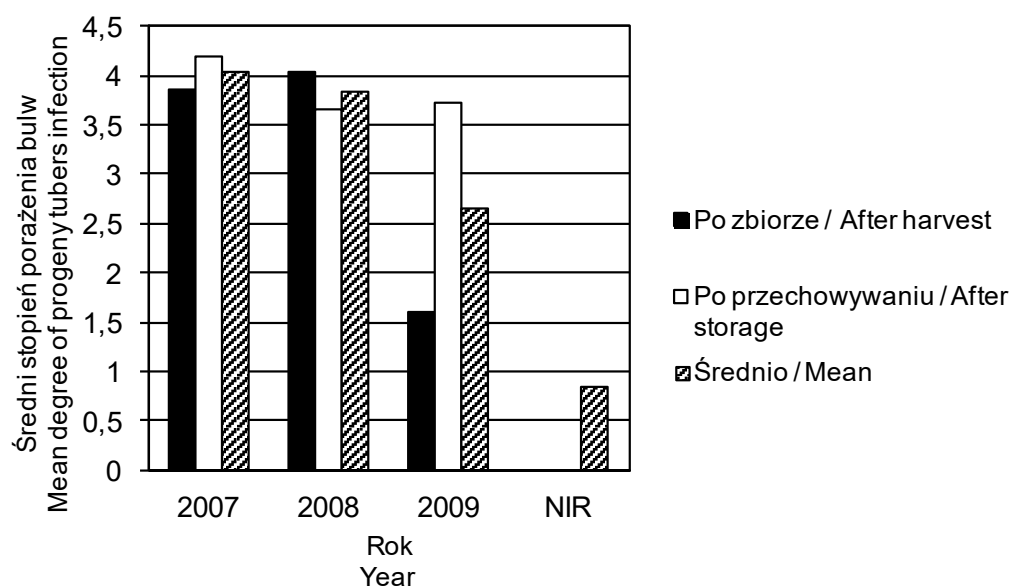
Stwierdzono istotne zróżnicowanie stopnia porażenia bulw potomnych w zależności od koncentracji komórek bakterii *Cms* w zawieszynie bakteryjnej, zastosowanej do zakażenia

sadzeniaków. Średni stopień porażenia bulw dla gęstości zawiesiny bakteryjnej równej 10^6 jtk/ml wynosił 3,14, zaś dla zawiesiny o liczebności komórek *Cms* 10^8 jtk/ml — 3,90 (NIR = 0,59). Porażenie przez bakterie *Cms* bulw potomnych zebranych z roślin wyrastających z sadzeniaków zakażanych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml było wyższe zarówno w przypadku oceny przeprowadzonej po zbiorze jak i po przechowywaniu (tab. 3).

Tabela 3

Stopień porażenia przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) bulw potomnych odmiany Drop, na podstawie wyników testu IF, w latach 2007–2009
Infection of potato cultivar Drop progeny tubers by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* on the basis of IF test, in the years 2007–2009

Termin badania bulw potomnych Date of <i>Cms</i> detection in progeny tubers	Po zbiorze After harvest		Po przechowywaniu After storage	
	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml
Gęstość zawiesiny <i>Cms</i> użytej do zakażenia sadzeniaków Concentration of <i>Cms</i> suspension used to inoculate seed				
Ogólny stopień porażenia bulw (%) General degree of tubers infection (%)	37,0	42,5	41,5	54,9
Średni stopień porażenia bulw Mean degree of progeny tubers infection	2,96	3,40	3,32	4,39
NIR $p=0,05$ — LSD $p=0,05$	3,18		3,85	
			0,59	



Rys. 1. Porażenie latentne przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* bulw potomnych w zależności od terminu i roku badań, na podstawie testu IF

Fig. 1. Latent infection of potato progeny tubers by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* depending on the date and year of research, on the basis of IF test

Średni stopień porażenia bulw w roku 2009 był najniższy. Jednocześnie, wzrost nasilenia porażenia *Cms* po okresie przechowywania bulw był w tym roku największy. W

roku 2008 odnotowano wyższe porażenie bulw w próbach badanych bezpośrednio po zbiorze. W latach 2007 i 2009 wyższe porażenie przez *Cms* wykazywały bulwy ziemniaków przechowywanych (rys. 1).

Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze badania Boguszewskiej i Brzozowskiego (2007). Wykazali oni znaczny wzrost liczby wykryć porażenia latentnego bakteriozą pierścieniową bulw ziemniaka po sześciu miesiącach przechowywania. Udowodnili także, zależność poziomu porażenia bulw potomnych od koncentracji zawiesiny bakterii *Cms* użytej do zakażenia sadzeniaków. Uzyskali wyższy poziom porażenia bulw potomnych pochodzących od sadzeniaków zakażanych zawiesiną o największej liczebności komórek *Cms* — 10^8 jtk/ml. Kawchuk i inni (1998) prowadząc 11-letnie obserwacje dotyczące rozwoju bakteriozy pierścieniowej na roślinach ziemniaka, zwrócili uwagę, że liczebność komórek *Cms* w tkance, jest czynnikiem decydującym o poziomie porażenia i wystąpieniu objawów choroby. Podobne wyniki uzyskali wcześniej De Boer i in. (1992 b) oraz Westra i Slack (1994).

W pracy, mimo zastosowania wysokich poziomów koncentracji *Cms* w zawieszynie służącej do zakażenia sadzeniaków wykazano zaledwie 1,9% udział bulw potomnych z wyraźnymi objawami porażenia. Pastuszewska (2002, 2004) sztucznie zakażając *Cms* sadzeniaki tej samej odmiany Drop, stwierdziła blisko 50% (2002) i ponad 21% (2004) udział bulw potomnych z widocznymi objawami porażenia, oceniany po zbiorze. Być może na zaistniałe różnice miały wpływ warunki meteorologiczne.

Zaobserwowany w badaniach własnych wzrost populacji komórek *Cms* w bulwach potomnych ziemniaka odmiany Drop w miarę upływu czasu, można spróbować odnieść do wyników badań Pastuszewskiej (2008). W swoich badaniach odnotowała znaczny wzrost liczby komórek *Cms* w bulwach potomnych, następujący w kolejnych sześciu rozmnożeniach wegetatywnych roślin ziemniaka. Wyniki te potwierdzają możliwość bezobjawowego zasiedlenia bulw przez żywe bakterie *Cms* przez wiele lat, stanowiąc źródło porażenia (Manzer i in., 1987).

Wysoki udział w plonie bulw porażonych latentnie jest zjawiskiem często notowanym w literaturze (Golenia i Pajewska 1978; De Boer i McCann 1990; Kawchuk i in., 1998; Pastuszewska i Junosza-Kisielewska 2002, 2004; Pastuszewska i in., 2004, 2008, 2010). W przedstawionej pracy również odnotowano wysoki udział prób z wykrytą za pomocą testu IF obecnością komórek *Cms*, równy 76,7%. Porażenie bezobjawowe bulw wynikające z niskiej koncentracji komórek *Cms* w tkance, mogące utrzymywać się przez kilka rozmnożeń wegetatywnych roślin jest główną przyczyną rozprzestrzeniania się choroby i jednocześnie głównym problemem w jej zwalczaniu.

Namnażanie się komórek *Cms* w tkance ziemniaka po okresie przechowywania wydaje się być istotne dla systemu prowadzenia kontroli fitosanitarnej. Wiadomo, że istnieje problem z identyfikacją niskiej koncentracji komórek *Cms* w bulwach nawet najbardziej zaawansowanymi metodami molekularnymi. Stąd możliwe jest występowanie rozbieżności w wynikach rutynowych kontroli prowadzonych przez służby fitosanitarne, w zależności od czasu jej przeprowadzenia. Skrajnie niska, niewykrywalna stosowanymi obecnie metodami liczebność komórek bakterii *Cms* w bulwach występująca po zbiorze, i jej wzrost w okresie przechowywania, może być przyczyną otrzymywania dwóch różnych

wyników kontroli tej samej partii ziemniaków. W celu skutecznego zwalczania występowania bakteriozy pierścieniowej w kraju, warto by zwrócić jeszcze większą uwagę na fakt, iż to sadzeniaki są główną przyczyną jej rozprzestrzeniania (Dykstra 1941) oraz na zwiększone prawdopodobieństwo wykrycia bakterii *Cms* po okresie przechowywania bulw.

WNIOSKI

1. Objawy porażenia przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* wystąpiły zaledwie na 1,9% badanych bulw. Liczba bulw z objawami wzrosła po okresie przechowywania i była wyższa dla bulw pochodzących od sadzeniaków zakażanych zawiesiną bakteryjną o koncentracji *Cms* równej 10^8 jtk/ml.
2. Po okresie przechowywania bulw ziemniaka odmiany Drop wzrosła liczba prób w których na podstawie testu IF stwierdzono obecność komórek *Cms* oraz zwiększył się stopień porażenia latentnego bulw przez *Cms*.
3. Większa liczebność komórek *Cms* w zawieszynie bakteryjnej zastosowanej do inokulowania sadzeniaków powodowała zwiększenie liczby prób, w których stwierdzono występowanie *Cms* oraz wzrost stopnia porażenia latentnego bulw przez *Cms*.
4. Niższa koncentracja bakterii *Cms* w bulwach stwierdzona po zbiorze i jej wzrost w okresie przechowywania, może być przyczyną otrzymywania rozbieżnych wyników kontroli tej samej partii ziemniaków, zależnie od jesiennego czy wiosennego terminu jej badania.

LITERATURA

- Boguszewska D., Brzozowski S. 2007. Identification of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers during storage period using PCR method. Polish J. Environ. Stud. Vol. 16, No 3A: 32 — 37.
- De Boer S. H., Van Vaerenbergh J., Stead D. E., Janse J. D., Mc Kenzie A. R. 1992 a. A comparative study in five laboratories on detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato stems and tubers. Potato Research 35: 217 — 226.
- De Boer S. H., Janse J. D., Stead D. E., Van Vaerenbergh J., Mc Kenzie A.R. 1992 b. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato stems and tubers grown from seed pieces with various levels of inoculums. Potato Research 35: 202 — 216.
- De Boer S. H., Mc Cann M. 1990. Detection of *Corynebacterium sepedonicum* in potato cultivars with different propensities to express ring rot symptoms. Am. Potato J., 57: 685 — 694.
- De Boer S. H., McNaughton M. E., 1986. Evaluation of immunofluorescence with monoclonal antibodies for detecting latent bacterial ring rot infection. Am. Potato J. 63: 533 — 542.
- Dykstra T.P. 1941. Result of experiments in control of bacterial ring rot of potatoes in 1940. Am. Potato J. 18: 17, 27 — 55.
- Dyrektywa Komisji 2006/56/WE z dnia 12 czerwca 2006 r. zmieniająca załączniki do dyrektywy Rady 93/85/EWG w sprawie zwalczania bakteriozy pierścieniowej ziemniaka. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L.182/ PL/1 — 43.
- Golenia A, Pajewska M. 1978. Badania nad rozprzestrzenianiem bakteriozy pierścieniowej ziemniaka (*Corynebacterium sepedonicum* (Spieck. et Koth.) skapt. (et Burkh.)) z sadzeniaków na rośliny i bulwy potomne oraz z roślin porażonych na zdrowe na polu. Roczniki Nauk Rolniczych. Seria E, T. 7, Z. 2: 37 — 47.

- Kawchuk L. M., Lynch D. R., Kozub G.A., Nelson G. A., Kulcsar F., Fujimoto D. K. 1998. Multi-year evaluation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* disease symptoms in cultivated potato genotypes. *Am. J. Potato Res.*, 75: 235 — 243.
- Manzer F. E., Gudmestad N. C., Nelson G. A. 1987. Factors affecting infection disease development and symptom expression of bacterial ring rot. *Am. Potato J.*, 64: 641 — 676.
- Nelson G. A., Lynch D. R., Kozub G. C. 1992. Ring rot symptom development on potato cultivars and lines in southern Alberta. *Potato Research* 35: 133 — 142.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I. 2002. Podatność wybranych odmian ziemniaka na bakteriozę pierścieniową (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*). *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* 42 (2): 920 — 923.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I. 2004. Reakcja wybranych odmian ziemniaka na inokulację bakteriami *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* 44 (2): 1014 — 1016.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I., Grzech W., Brzozowski S. 2004. Rozwój bakteriozy pierścieniowej ziemniaka w rozmnożeniach wegetatywnych roślin. *Biul. IHAR* 233: 277 — 287.
- Pastuszewska T. 2008. Tempo rozwoju bakteriozy pierścieniowej ziemniaka z formy bezobjawowej w objawową w potomstwie bulw ziemniaka. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 531: 161 — 168.
- Pastuszewska T., Gryń G., Franke K. 2010. Podatność wybranych odmian ziemniaka na porażenie przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* 50 (1): 245 — 248.
- Przewodowski W. 2012. Wykrywanie zróżnicowanych mukoidalnie szczepów bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* w odniesieniu do testów przesiewowych zalecanych przez EPPO. *Mat. Konf. Nasienictwo i Ochrona Ziemniaka, Darłówko 24–25 maja 2012*: 18 — 19.
- Slack S. A. 1987. Biology and ecology of *Corynebacterium sepedonicum*. *Am. Potato J.* 64:665 — 669.
- Townsend G., Heuberger J. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Pl. Dis. Rep.* 27: 340–343.
- Westra A. A. G., Slack S. A. 1994. Effect of interaction of inoculum dose, cultivar, and geographic location on the magnitude of bacterial ring rot symptom expression in potato. *Phytopathology* 84 (3): 228 — 235.