

JAROSŁAW PRZETAKIEWICZ**KATARZYNA KOPERA**Zakład Fitopatologii, Pracownia Hodowli Odpornościowej
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Porównanie przydatności metod Glynne-Lemmerzahla i Spieckermanna do oceny odporności ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. patotyp 1 (D₁) dla potrzeb testów masowych

Comparison of the usefulness of Glynne-Lemmerzahl and Spieckermann methods to assess resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.) to *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. pathotype 1 (D₁) in mass tests

Porównano przydatność metod stosowanych do oceny odporności w warunkach laboratoryjnych na patotyp 1 (D₁) *S. endobioticum* (metody Glynne-Lemmerzahla i Spieckermanna). W doświadczeniach użyto 6 rodów ziemniaka o znanej wysokiej podatności na patotyp 1. W metodzie Glynne-Lemmerzahla jako inokulum zastosowano świeże narośla rakowe zawierające sorusy (zespoły zarodni letnich). W drugiej metodzie do infekcji użyto kompostu zawierającego przetrwalnikowe (zimowe) zarodnie grzyba. Zarówno jedną jak i drugą metodą potwierdzono podatność testowanych rodów ziemniaka. Jednak tylko przy użyciu metody Glynne-Lemmerzahla potwierdzono wysoką podatność wszystkich badanych rodów na raka ziemniaka (patotyp 1). Pełna ocena przydatności obu metod będzie możliwa po porównaniu wyników porażenia dla rodów lub odmian wzorcowych ziemniaka o znanym stopniu odporności: o pełnej (odporność laboratoryjna i polowa) i pośredniej (tylko odporność polowa).

Słowa kluczowe: metoda Glynne-Lemmerzahla, metoda Spieckermanna, *Synchytrium endobioticum*, *Solanum tuberosum*, odporność, rak ziemniaka, ziemniak

Two laboratory tests for evaluating potato resistance to *Synchytrium endobioticum* were compared. The study included plants from six potato breeding lines, generally known to be susceptible to *S. endobioticum* pathotype 1. The Glynne-Lemmerzahl method involved plant inoculation with fresh wart with summer sporangia, whereas winter sporangia were used for plant inoculation in the method proposed by Spieckermann. The results obtained using each of the tests provided additional evidence for susceptibility of the breeding lines to *S. endobioticum*. A high level of susceptibility of all the lines was only revealed using the Glynne-Lemmerzahl method. However, further investigations including

potato genotypes expressing, established different levels of resistance to *S. endobioticum* are required to obtain complete and reliable data regarding the usefulness of the two methods.

Key words: Glynne-Lemmerzahl method, potato, potato wart disease, resistance Spieckermann method, *Synchytrium endobioticum*, *Solanum tuberosum*

WSTĘP

Synchytrium endobioticum wywołuje chorobę zwaną rakiem ziemniaka. Głównym żywicielem *S. endobioticum* jest ziemniak, ale porażane mogą być również inne gatunki z rodzaju *Solanum* (Malec, 1983). W regionie Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (z ang. EPPO), do której należy również Polska, *S. endobioticum* występuje lokalnie w minimalnym nasileniu prawie we wszystkich krajach (OEPP/EPPO, 1999).

Rak ziemniaka jest groźną chorobą, która posiada status choroby kwarantannowej podlegającej obowiązkowi zwalczania z urzędu w wielu krajach świata, w tym także w krajach UE i Polski. Sposoby zwalczania i rozprzestrzeniania się *S. endobioticum* są określone w odpowiednich Dyrektywach Unii Europejskiej, tj. w Dyrektywie 69/464/EWG z dnia 8 grudnia 1969 r. w sprawie zwalczania raka ziemniaka (*Synchytrium endobioticum*) (Dz. Urz. WEL 323, 24.12.1969), Dyrektywie 2000/29/WE z dnia 8 maja 2000 roku w sprawie środków fitosanitarnych przeciwko wprowadzeniu na obszar Wspólnoty organizmów szkodliwych dla roślin lub produktów roślinnych i przeciwko ich rozprzestrzenianiu się na obszarze Wspólnoty (Dz. Urz. WEL 169, 10.07.2000, z późn. zm.) oraz polskich Rozporządzeń Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 sierpnia 2004 r. (Dz. U. nr 183, poz. 1891) w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się *Synchytrium endobioticum* oraz z dnia 28 stycznia 2005 r. (Dz. U. nr 26, poz. 226), a także z dnia 2 sierpnia 2006 (Dz. U. nr 148, poz. 1072) zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum*.

Jedyną skuteczną metodą walki z rakiem ziemniaka jest dopuszczanie do uprawy wyłącznie odmian rakoodpornych. W Polsce obowiązuje Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 października 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum* (Dz. U. nr 207 poz. 1737), zgodnie z którym za odporną uznaje się: „odmianę, która w badaniach przeprowadzonych zgodnie ze standardami w zakresie środków fitosanitarnych, wydawanymi przez Europejską i Śródziemnomorską Organizację Ochrony Roślin, reaguje w każdych warunkach na porażenie czynnikiem patogenicznym w taki sposób, że nie istnieje możliwość wtórnego porażenia, wykazując pełną odporność laboratoryjną i polową na określone patotypy grzyba *Synchytrium endobioticum*”.

Laboratoryjna ocena odporności rodów hodowlanych i odmian ziemniaka na raka ziemniaka jest możliwa przy użyciu metody Glynne-Lemmerzahla (Glynne, 1925; Lemmerzahl, 1930; Noble, Glynne, 1970) i Spieckermanna (Spieckermann i Kothoff,

1924). Metody te są powszechnie stosowane i zgodne z międzynarodowymi standardami (OEPP/EPPO, 1999).

Celem pracy było wstępne porównanie skuteczności tych metod w ocenie odporności genotypów ziemniaka na raka.

MATERIAŁ I METODY

W doświadczeniach wykorzystano 6 rodów hodowlanych ziemniaka, które otrzymano z Pomorsko-Mazowieckiej Spółki Hodowlanej Ziemniaka z siedzibą w Strzekęcinie (762, 883 i 1169) oraz z Hodowli Ziemniaka w Zamartem (Z-975742, Z-973249 i Z-992254). Rody te odznaczały się wysoką podatnością na patotyp 1 (D₁) *S. endobioticum*. W doświadczeniach użyto całych bulw lub ich fragmentów zawierających oczka.

Zastosowaną w doświadczeniach metodę Glynne-Lemmerzahla wykonano zgodnie z oryginalnymi pracami Glynne (1925), Lemmerzahl (1930) oraz Noble i Glynne (1970) oraz protokołem diagnostycznym PM 7/28 (OEPP/EPPO, 2004), a także z modyfikacjami wprowadzonymi przez Malca (Malec, 1972, 1980; Malec i Lubiewska, 1979). Metodę Spieckermanna wykonano zgodnie z pracą Spieckermanna i Kothoffa (1924) oraz protokołem diagnostycznym PM 7/28 (OEPP/EPPO, 2004).

Przygotowanie bulw do zakażeń

Bulwy przeznaczone do zakażeń przechowywano w chłodni w ażurowych skrzynkach w temperaturze 2–4°C i wilgotności względnej powietrza ok. 80%. Bulwy przenoszono do pomieszczenia o temperaturze pokojowej do czasu wytworzenia kiełków o długości 0,2–0,5 cm. Do zakażeń wybierano tylko te bulwy, na powierzchni których nie obserwowano żadnych widocznych oznak gnicia.

Przygotowanie inokulum

Narośla rakowe przeznaczone do zakażeń otrzymywano początkowo z roślin rosnących w zainfekowanej zarodnikami przetrwalnikowymi glebie, a w późniejszym okresie tylko z wcześniej zakażanych bulw. Do infekcji podkiełkowanych bulw używano narośli, na powierzchni których występowały w dużych ilościach dojrzałe zarodnie letnie (sorusy).

Przygotowanie kompostu zawierającego zarodnie zimowe *S. endobioticum* wykonano zgodnie z protokołem diagnostycznym PM 7/28. Dojrzałe narośla rakowe cięto na fragmenty grubości 1 cm i mieszano z piaskiem rzeczonym w proporcjach: 1 kg narośli rakowych na 3 kg piasku. Piasek wcześniej autoklawowano. Mieszaninę utrzymywano w stanie wilgotnym i inkubowano przez cztery miesiące w temperaturze pokojowej mieszając co jakiś czas całą zawartość. Przez kolejne dwa miesiące mieszaninę osuszano na powietrzu w temperaturze pokojowej. Tak przygotowany kompost zawierający zarodnie przetrwalnikowe *S. endobioticum* poddawano ocenie pod względem zawartości zarodni i zdolności infekcyjnych.

Bezpośrednią detekcję zarodni przetrwalnikowych w podłożu wykonano zgodnie z procedurą fitosanitarną PM 3-59 (OEPP/EPPO, 1999) oraz metodyką opisaną przez Pratt (1976).

Próbki gleby lub kompostu zawierającego inokulum osuszano w temperaturze ok. 25–30°C przez 14 dni. Próbkę ważono (dla badanej gleby odważano ok. 100 g, dla kompostu

— ok. 20 g), a następnie moczo w wodzie przez 24 godziny. Tak przygotowany roztwór przenoszono w całości do przesiewacza wibracyjnego Analysette 3 Pro (firma Fritsch) i przesiewano przez sita o średnicy oczek: 500, 250, 125, 71, 40 i 25 μm . Osad z sit o średnicy oczek 40 i 25 μm zbierano i filtrowano przez bibułę filtracyjną. Wyszuszony osad rozpuszczano w nasyconym roztworze CaCl_2 o gęstości 1,4 g/cm^3 . Mieszaninę wirowano w probówkach stożkowych w przysp. 800 g. Supernatant filtrowano i ponownie wirowano w identycznych warunkach. Cały proces powtarzano kilkakrotnie do czasu, gdy na dnie próbówki nie było osadu. Supernatant ponownie filtrowano, a zebrany osad zawieszano w objętości 2 cm^3 wody lub błękitu laktofenolowego. Po dokładnym wymieszaniu zawiesiny, pobierano niewielką objętość i przenoszono do komory Fuchsa-Rosenthala. Zarodnie liczone przy użyciu mikroskopu i pod powiększeniem 200 \times . Z kolejnych wylizzeń określano liczbę zarodni w 1 g podłoża.

Metoda Glynne-Lemmerzahla

Do przygotowania komór wodnych wykorzystano wazelinę białą typu Pionier 5464. Wazelinę topiono w łaźni wodnej do uzyskania stanu półpłynnego (w temp. ok. 40°C). Półpłynną wazeliną napełniano strzykawkę o pojemności 30–50 ml i nanoszono na powierzchni bulwy pierścień wokół oczek o wysokości ścianki 0,5–1,0 cm. Bulwy z przytwierdzonymi pierścieniami wstawiano do plastikowych pojemników wyłożonych matą podsiakową. Do komór nalewano wody bieżącej (uprzednio przegotowanej i schłodzonej do temperatury 12°C) i sprawdzano szczelność pierścieni. W przypadku stwierdzenia nieszczelności komór proces powtarzano. Po napełnieniu pierścieni wodą, wkładano do środka kawałki świeżych i wolnych od jakichkolwiek objawów gnicia narośli rakowych (około 5-tygodniowych) o ciężarze 1,5–3,0 g każda. Powierzchnia narośli zawierająca sorusy stykała się bezpośrednio z kielkami w środowisku wodnym, natomiast powierzchnia cięcia była skierowana do góry. Czas inkubacji wynosił 48 godzin, a temperatura 10–12°C. W trakcie inkubacji narośle były kilkakrotnie przekładane z jednej bulwy na inną, a brakującą wodę w komorach uzupełniano. Po upływie 48 godzin zdejmowano kawałki narośli rakowych i usuwano komory wodne. Bulwy przenoszono do inkubatora o zmiennej temperaturze 10–22°C (lub stałej temp. 22°C) na okres 15 dni. W tym czasie bulwy były regularnie zraszane wodą destylowaną w celu utrzymania wysokiej wilgotności powietrza.

Ocena porażenia kielków metodą Glynne-Lemmerzahla

Za pomocą mikroskopu stereoskopowego, przy powiększeniu 20 \times lub większym, na kielkach poddanych infekcji poszukiwano rozwijających się narośli rakowych, zniekształceń tkanek i zarodni grzyba. Stopień porażenia określano według pięciostopniowej skali opisanej przez Malca (1980):

- 0 — brak sorusów,
- IV — pojedyncze sorusy,
- III — mała liczba sorusów (do kilkunastu), słaba proliferacja pędów: większa liczba sorusów (do kilkudziesięciu), brak proliferacji pędów,
- II — duża liczba sorusów, wyraźna proliferacja pędów, początek tworzenia się narośli rakowej na części kielka,

— I — duża liczba sorusów, cały kielék zmieniony w narośl rakową.

Metoda Speckermanna

Zastosowana w doświadczeniach metoda Speckermanna była wykonana zgodnie z oryginalną pracą Speckermann and Kothoff (1924) oraz protokołem diagnostycznym PM 7/28 (OEPP/EPPO, 2004). Bulwy ziemniaków przechowywano w przechowalni w temperaturze 2–4°C. Przed wykonaniem testów z bulw wycinano próbki o wymiarach 2 × 2 cm zawierające przynajmniej jedno oczko. Próbki bulw dezynfekowano w fungicydzie Monceren 250 FS (zawierającym pencykuron), co zapobiega porażeniu przez *Thanatephorus cucumeris* (anamorf *Rhizoctonia solani*). Fragmenty bulw po osuszeniu wstawiano na 24 godziny do pomieszczenia o temperaturze 4°C. Tak przygotowany materiał wykładano na zwilżonych matach podsiąkowych (firma Brinkman) do plastikowych skrzynek i nakładano na każdy blok ok. 1,5 g kompostu zawierającego zarodnie zimowe. Całość zwilżano wodą destylowaną i inkubowano w warunkach bez dostępu światła w temperaturze 16–18°C. Przez pierwsze dwa tygodnie inkubacji utrzymywano wilgotność względną na poziomie 80%, a następnie przez kolejne 6 tygodni podwyższano do ponad 90%. W trakcie inkubacji kilkakrotnie przycinano wyrastające pędy. Bloki wraz z kompostem systematycznie zwilżano poprzez delikatne zamglawianie.

Ocena porażenia pędów metodą Speckermanna

Stopień porażenia kielków (pędów) określano według holenderskiej pięciostopniowej skali opisaney w protokole diagnostycznym PM 7/28 (OEPP/EPPO, 2004) oraz publikacji Baayen i wsp. (2005): Typ „-”, — wczesne reakcje nekrotyczne, Typ P — późne reakcje nekrotyczne, Typ F — bardzo późne reakcje nekrotyczne, Typ R — słabo podatne, Typ rakowy — podatne. Typ rakowy jest dzielony na 6 grup w zależności od wielkości narośli rakowych: I: < 3 mm, II: 4–5 mm, III: 6–7 mm, IV: 8–10 mm, V: 11–15 mm, X: 16–20 mm i więcej.

WYNIKI I DYSKUSJA

Metoda Glynne-Lemmerzahla

W metodzie Glynne-Lemmerzahla zastosowano wazelinę jako materiał do wykonywania komór wodnych niezbędnych przy infekcji kielków. Dzięki wykorzystaniu wazeliny zarówno kształt jak i wielkość bulw nie miał znaczenia. Możliwa była również infekcja wszystkich kielków na bulwie. Parametry fizyczne wazeliny dobrano w taki sposób, aby zachowywała stałą konsystencję w temperaturze 10–12°C. Pozwalało to na manipulowanie (konieczne przy kilkakrotnym przekładaniu narośli rakowych) komorami bez większego ryzyka uszkodzenia ich konstrukcji. Pierwsze objawy porażenia kielków obserwowano już po 8 dniach od momentu inokulacji. Na powierzchni epidermy pędów widoczne były liczne zespoły zarodni letnich (sorusów). Na tak wczesnym etapie prawidłowe zdiagnozowanie było możliwe tylko przy użyciu mikroskopu stereoskopowego, przy powiększeniu 20x lub większym. Dla potwierdzenia prawidłowej oceny wykonywano preparaty mikroskopowe i potwierdzano obecność rozwijających się sorusów.

Proces dojrzewania sorusów trwał przez kolejne kilka dni, dając charakterystyczne objawy porażenia po 2 tygodniach od zakażenia. Tak szybki rozwój patogena uzyskiwano tylko przy stałej wysokiej temperaturze (ok. 22°C) otoczenia. Cykl rozwojowy, od wniknięcia zarodnika pływkowego do komórki epidermy żywiciela aż do dojrzewania zarodni letnich (pływkowych), trwa od kilku do kilkunastu dni i zależy od temperatury (Malec, 1983). Według Hartmana (1956), temperatura 22°C jest punktem krytycznym dla rozwoju raka ziemniaka. Optimum temperaturowe dla rozwoju choroby wynosiło 16–17°C. Badania te jednak dotyczyły wpływu temperatury na wystąpienie objawów chorobowych na roślinach ziemniaka w glebie. Dalsze utrzymywanie stałej wysokiej temperatury nie powodowało wtórnych infekcji, gdyż była ona za wysoka dla zarodników pływkowych. Według protokołu diagnostycznego PM 7/28 (OEPP/EPPO, 2004), przedział temperaturowy dla infekcji pływkami grzyba powinien zawierać się w granicach od 8 do 12°C, natomiast wg Malca (1980) infekcję przeprowadzano w temp. 10–15°C. Na tej podstawie wysunięto wniosek, że dobowy rozkład temperatur powinien być zmienny i wynosić od 10–16°C do 22°C (maksymalnie). Taki rozkład temperatur wpływał na przyspieszenie cyklu rozwojowego patogena w zainfekowanych komórkach gospodarza i jednocześnie pozwalała na wtórne infekcje i wzrost narośli rakowych.

Metodę Glynne-Lemmerzahla wykorzystano do przetestowania ponad 1500 bulw 6 rodów hodowlanych. W stopniu I lub II poraziło się 95,9% testowanych bulw (tab. 1). Wyniki te nie tylko potwierdziły podatność testowanych rodów na patotyp D₁, ale również dały pewność, że zastosowana metoda pozwala na wykrycie form podatnych.

Tabela 1

Stopień porażenia kielków (pędów) przez *S. endobioticum* (patotyp D₁) podatnych rodów ziemniaka inokulowanych wg metody Glynne-Lemmerzahla
Proportion of infected sprouts in potato breeding lines susceptible to *S. endobioticum* (pathotype D₁) determined using the Glynne-Lemmerzahl method

Rody hodowlane Breeding lines	Stopnie porażenia Percentage of infection												Suma Total
	0		IV		III		II		I		gnijące kielki rotted sprouts		
	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	
762	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	1,3	300	97,4	4	1,3	308
883	3	0,5	0	0,0	0	0,0	9	1,6	550	95,7	13	2,3	575
1169	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	7,2	251	90,6	6	2,2	277
Z-975742	0	0,0	0	0,0	4	3,8	15	14,4	79	76,0	6	5,8	104
Z-973249	3	2,0	0	0,0	5	3,3	11	7,3	120	79,5	12	7,9	151
Z-992254	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	7,9	131	86,8	8	5,3	151
Suma Total	6	0,4	0	0,0	9	0,6	71	4,5	1431	91,4	49	3,1	1566

l.b. — Liczba testowanych bulw

n.t. — Number of tested tubers

Stwierdzono również, że część kielków była porażona w stopniu III (ok. 0,6%) lub nie poraziła się w ogóle (ok. 0,4%). Taki wynik świadczy o nieprawidłowo przeprowadzonej infekcji i mieści się w granicach błędu technicznego wykonania. Najczęściej jest to

spowodowane nieszczelnością pierścieni i brakiem pomostu wodnego pomiędzy kiełkami i sorusami. Zarodniki pływkowe mogą poruszać się tylko w środowisku wodnym i przy braku dostatecznej ilości wody tylko część z nich ma szansę dotrzeć do komórek epidermy gospodarza.

Metoda Spieckermanna

Zgodnie z procedurą EPPO (OEPP/EPPO, 2004) wynik porażenia oceniano po 8 tygodniach inkubacji, a ponadto obserwacje prowadzono przez cały okres trwania testu. Pomimo zastosowania pencykuronu (fragmenty bulw inkubowano w atmosferze nasyconej parą wodną i przy względnie wysokiej temperaturze 16°C), w trakcie inkubacji, stwierdzono gnicie kiełków. Straty spowodowane gniciem wynosiły od 2,1% (ród Z-973249) do 27,7% (ród Z-992254). Przedwczesne gnicie kiełków uniemożliwiało ich ocenę, co jednocześnie ograniczało liczbę ocenianych roślin. Po zakończeniu inkubacji i usunięciu kompostu obserwowano reakcję roślin na kontakt pędów z zarodnikami przetrwalnikowymi *S. endobioticum*. Narośla rakowe rozwijały się na pędach, bulwach, oczkach i liściach. W typie rakowym zakwalifikowano rośliny należące do trzech rodów (762, 883 i 1169). Stanowiły one 1,8% wszystkich testowanych bulw (tab. 2). Dla kolejnych trzech rodów (Z-992254, Z-973249, Z-975742) nie znaleziono objawów porażenia odpowiadających typowi rakowemu. W typie R (słabo odporne) oceniono rośliny pochodzące z wszystkich testowanych rodów. Stanowiły one 23,7% infekowanych fragmentów bulw. Pędy, na których nie znaleziono dojrzałych sorusów stanowiły aż 62,8% bulw z sześciu testowanych rodów. Na pędach tych obserwowano jedynie zmiany nekrotyczne na różnym etapie rozwoju. Otrzymane wyniki wykazały, że wszystkie testowane rody były podatne na *S. endobioticum* (typ rakowy i typ R) jednak narośla rakowe otrzymano tylko na trzech rodach (762, 883 i 1169), a ich wielkość zakwalifikowano do grupy II i III. Duży udział nieporażonych roślin może świadczyć o niskiej zdolności infekcyjnej zarodni przetrwalnikowych grzyba, jak również o zbyt krótkim czasie inkubacji.

Zarodnie przetrwalnikowe wykorzystywane są również do oceny polowej (doniczkowej), gdzie ich liczba w jednostce gleby jest znacznie niższa (ok. 625 zarodni na 1 g gleby) niż w kompoście użytym w teście Spieckermanna (ok. 20000 zarodni w 1 g inokulum). Zarodnie przetrwalnikowe mogą przetrwać w glebie w stanie żywym kilkadziesiąt lat i tylko niewielka część z nich kiełkuje w kolejnych latach (Malec, 1979). W zastosowanej metodzie Spieckermanna czas inkubacji jest ograniczony tylko do 8 tygodni, gdzie dla porównania w warunkach polowych, okres ten jest znacznie dłuższy i wynosi zwykle kilka miesięcy. Wydłużenie czasu inkubacji prawdopodobnie zwiększyłoby skuteczność testu jednak pociągnęłoby to za sobą również zwiększenie strat spowodowanych gniciem kiełków. Okres 8 tygodni może być zbyt krótki do tego, aby odpowiednia ilość zarodni przetrwalnikowych mogła skiełkować. Rak ziemniaka należy do grupy infekcyjnych chorób roślin, u której pojedyncze zarodniki pływkowe, po wnikięciu do komórek gospodarza, nie wywołują objawów choroby. Dla wywołania jawnego zaburzenia w organizmie gospodarza, potrzebna jest duża ilość ognisk infekcji, musi być ona zmasowana (Malec, 1983).

Tabela 2

Stopień porażenia kielków (pędów) przez *S. endobioticum* (patotyp D₁) podatnych linii ziemniaka inokulowanych wg metody Speieckermanna
Proportion of infected sprouts in potato breeding lines susceptible to *S. endobioticum* (pathotype D₁) determined using the Speieckermann test

Rody hodowlane Breeding lines	Poziom porażenia Percentage of infection												Suma Total
	Typ ^{3,4} , Type ^{3,4}		Typ P Type P		Typ F Type F		Typ R Type R		Typ rakowy Wart type		Gnijące fragm. bulw Rotted blocks		
	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	l.b. n.t.	%	
762	20	45,5	10	22,7	2	4,5	3	6,8	2	4,5	5	11,4	44
883	79	55,2	2	1,4	3	2,1	32	22,4	3	2,1	23	16,1	143
1169	39	58,2	4	6,0	5	7,5	2	3,0	5	7,5	2	3,0	67
Z-975742	0	0,0	46	46,0	0	0,0	50	50,0	0	0,0	4	4,0	100
Z-973249	56	57,7	0	0,0	0	0,0	39	40,2	0	0,0	2	2,1	97
Z-992254	28	27,7	37	36,6	0	0,0	5	5,0	0	0,0	28	27,7	101
Suma Total	222	40,2	99	17,9	10	1,8	131	23,7	10	1,8	64	11,6	552

l.b. — Liczba testowanych bulw

n.t. — Number of tested tubers

Tabela 3

Porównanie metody Glynne-Lemmerzahla z metodą Speieckermanna
The comparison of the Glynne-Lemmerzahl and the Speieckermann methods

Charakterystyka Characteristics	Test Speieckermanna Speieckermann test	Metoda Glynne-Lemmerzahla Glynne-Lemmerzahl method
Inokulum Inoculum	zarodnie przetrwalnikowe winter sporangia	zarodnie letnie summer sporangia
Wymagany czas inkubacji Required time of incubation	8 tygodni 8 weeks	2–2,5 tygodnia 2–2,5 weeks
Efektywność metody Efficiency of method	niska — low	wysoka (ok. 95% porażonych roślin na rakopodatnych rodach hodowlanych) high (about 95% of infected plants in susceptible breeding lines)
Minimalna wymagana liczba bulw dla uzyskania ostatecznego wyniku Number of tubers per sample (minimum)	ok. 54 — about 54	ok. 42–45 (w trzech powtórzeniach) about 42–45 (3 replications)
Materiałochłonność Expenditure of material	względnie niska relatively low	względnie wysoka relatively high
Pracochłonność Expenditure of work	niska — low	bardzo wysoka very high
Nakłady finansowe Expenditure of money	niskie — low	wysokie high

Miarą skuteczności metody Glynne-Lemmerzahla i Speieckermanna, dla potrzeb testów masowych, jest ich efektywność, bowiem prawidłowa ocena rakoodporności ma najważniejsze znaczenie. Wykorzystanie jednak do infekcji różnych stadiów rozwojowych patogena (zarodnie letnie lub przetrwalnikowe) ma swoje konsekwencje w metodyce, nakładach oraz planowaniu pracy. W tabeli 3 przedstawiono w skrótovej formie najważniejsze elementy charakteryzujące te dwie metody.

WNIOSKI

1. Zastosowanie metody Glynne-Lemmerzahla pozwala na precyzyjną ocenę laboratoryjną testowanych linii, a w konsekwencji eliminację rakopodatnych rodów. Metoda ta jednak wymaga znacznie większych nakładów pracy i wyższych kosztów dla potrzeb testów masowych.
2. Zastosowanie metody Spieckermanna jest tańsze i prostsze w wykonaniu. Stwarza jednak ryzyko słabszej oceny i braku eliminacji wszystkich rakopodatnych rodów.

LITERATURA

- Baayen R. P., Bonthuis H., Withagen J. C. M., Wander J. G. N., Lamers J. L., Meffert J. P., Cochius G., van Leeuwen G. C. M., Hendriks H., Heerink B. G. J., van den Boogert P. H. I. F., van de Griend P., Bosch R. A. 2005. Resistance of potato cultivars to *Synchytrium endobioticum* in field and laboratory tests, risk of secondary infection, and implications for phytosanitary regulations. EPPO Bulletin 35: 2 — 23.
- Dyrektywa Rady 2000/29/WE z dnia 8 maja 2000 r. w sprawie środków fitosanitarnych przeciwko wprowadzeniu na obszar Wspólnoty organizmów szkodliwych dla roślin lub produktów roślinnych i przeciwko ich rozprzestrzenianiu się na obszarze Wspólnoty (Dz. Urz. WE L 169, 10.07.2000, z późn. zm.).
- Dyrektywa Rady nr 69/464/EEC z dnia 8 grudnia 1969 roku w sprawie zwalczania raka ziemniaka (Dz. Urz. WEL 323, 24.12.1969).
- Glynne M. D. 1925. Infection experiments with wart disease of potato *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. Annals of Applied Biology 12: 34 — 60.
- Hartman, R.E. 1956. Potato wart eradication program in Pennsylvania. American Potato Journal. 32:317 — 326.
- Lemmerzahl J. 1930. Neues vereinfachtes Infektionsverfahren zur Prüfung von Kartoffelsorten auf Krebsfestigkeit. Züchter 2: 799 — 297.
- Malec K. 1972. Zmiany w metodyce badania rakoodporności materiałów hodowlanych ziemniaka. Biul. Inst. Ziemn. 10: 5 — 10.
- Malec K. 1979. Żywotność przetrwalnikowych zarodni grzyba *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. w glebie w naturalnych warunkach. Biul. Inst. Ziemn. 23: 87 — 95.
- Malec K. 1980. Metodyka badania rakoodporności materiałów hodowlanych ziemniaka stosowana w Samodzielnej Pracowni Badania Odporności na Choroby i Szkodniki Kwarantannowe Instytutu Ziemiaka. Biul. Inst. Ziemn. 25: 125 — 139.
- Malec K. 1983. Rak ziemniaka (*Synchytrium endobioticum* /Schilb./Perc.). Z prac Instytutu Ziemiaka, Bonin 1983.
- Malec K., Lubiewska E. 1979. Zmiany w metodyce badania rakoodporności materiałów hodowlanych ziemniaka. Biul. Inst. Ziemn. 23: 79 — 85.
- Noble M., Glynne M. D. 1970. Wart disease of potatoes. FAO Plant Protection Bulletin 18: 125 — 135.
- OEPP/EPPO. 1999. EPPO Standards PM 3/59 *Synchytrium endobioticum*: soil tests and rescheduling of previously infested plots. EPPO Bulletin 29: 225 — 231.
- OEPP/EPPO. 2004. EPPO Standards PM 7/28 *Synchytrium endobioticum*. EPPO Bulletin 34: 155 — 157.
- Pratt MA. 1976. A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* in soil. Annals of Applied Biology 82: 21 — 29.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 stycznia 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum* (Dz. U. nr 27, poz. 226).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 października 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum* (Dz. U. nr 207, poz. 1737).

- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 sierpnia 2004 r. w sprawie szczególnych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum* (Dz. U. nr 183, poz. 1891).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 sierpnia 2006 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczególnych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się grzyba *Synchytrium endobioticum* (Dz. U. nr 148, poz. 1072).
- Spieckermann A., Kothoff P. 1924. Die Prüfung von Kartoffeln auf Krebsfestigkeit. Dtsch. Landwirts. Press 51 (11): 114 — 115.