

**BADANIA ZIEMNIAKÓW NA OBECNOŚĆ
GUZAKA AMERYKAŃSKIEGO (MELOIDOGYNE
CHITWOODI) I GUZAKA HOLENDERSKIEGO
(MELOIDOGYNE FALLAX) PROWADZONE
PRZEZ PAŃSTWOWĄ INSPEKCJĘ OCHRONY
ROŚLIN I NASIENNICTWA W LATACH 2010-2018**

**POTATO TESTING ON THE PRESENCE OF THE COLUMBIA ROOT-KNOT
NEMATODE (MELOIDOGYNE CHITWOODI) AND THE FALSE COLUMBIA
ROOT-KNOT (MELOIDOGYNE FALLAX) PERFORMED BY THE STATE PLANT
HEALTH AND SEED INSPECTION SERVICE IN 2010-2018**

dr Witold Karnkowski
Główny Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa
Centralne Laboratorium w Toruniu, ul. Żwirki i Wigury 73, 87-100 Toruń
e-mail w.karnkowski@piorin.gov.pl

Streszczenie

Oba guzaki są organizmami kwarantannowymi we wszystkich państwach członkowskich UE, a także w wielu innych krajach spoza Unii. Z uwagi na możliwość przeniknięcia ich do Polski wraz z bulwami pracownicy PIORiN prowadzą poszukiwania obu tych gatunków nicieni w ziemniakach. W latach 2010-2018 laboratoria PIORiN przebadaly na ich obecność, metodą przeglądania miąższu bulw, 29 718 próbek ziemniaków, z czego 683 (2,30%) zostały dodatkowo poddane analizie z zastosowaniem metody enzymatycznej. Obecność guzaków stwierdzono w 61 próbkach ziemniaków (0,21%), w tym w 59 próbkach sadzeniaków krajowych (34 z woj. lubelskiego, 8 z pomorskiego, 5 z kujawsko-pomorskiego, 4 z lubuskiego, 3 z podkarpackiego, 2 z podlaskiego i po 1 próbce z łódzkiego oraz wielkopolskiego), a także w 2 próbkach ziemniaków jadalnych pochodzących z Egiptu, pobranych ze

sklepów na terenie woj. łódzkiego i świętokrzyskiego. Testy molekularne (PCR-ITS i PCR-SCAR) wykluczyły obecność kwarantannowych gatunków – *M. chitwoodi* i *M. fallax*. W sadzeniakach krajowych zidentyfikowano gatunek *M. hapla*, a w ziemniakach z Egiptu gatunek *M. javanica*.

Słowa kluczowe: Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne fallax, urzędowe badanie, ziemniaki

Abstract

Both root-knot nematode species are quarantine pests in all member states of the European Union (EU) and some countries not belonging to the EU. Because of the possibility of their spread on potato tubers, the staff of the Inspectorate of Plant Health and Seed Inspection (PIORiN) performs a survey of both nematode species on potatoes. In the period 2010-2018 PIORiN laboratories tested on their presence, with the analysis of potato flesh method, 29,718 potato samples. Six hundred eighty-three of these samples (2.30%) were additionally analyzed with enzymatic digestion method. The root-knot nematodes were detected in sixty-one potato samples (0.21%), including fifty-nine seed potato samples of domestic origin. These samples included thirty-four samples from lubelskie voivodeship, eight samples from pomorskie voivodeship, five samples from kujawsko-pomorskie Voivodeship, four samples from lubuskie voivodeship, three samples from podkarpackie voivodeship and 1 sample from łódzkie and wielkopolskie voivodeship, respectively. Additional detection was found in two samples of potatoes for consumption coming from Egypt, taken from shops on the territory of łódzkie and świętokrzyskie voivodeship. Performed molecular tests (PCR-ITS and PCR-SCAR) excluded the presence of quarantine pests *M. chitwoodi* and *M. fallax*. The nematodes occurring in seed potatoes of national origin were identified to *M. hapla* species, while these found in Egyptian potatoes – to *M. javanica* species.

Keywords: Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne fallax, official testing, potatoes

Guzaki (*Meloidogyne* spp.) są osiadłymi endopasożytami roślin wyższych jedno- i dwuliściennych (Jepson 1987; Eisanback, Trianthaphyllou 1991; den Nijs i in. 2004; Karssen i in. 2013). Niektóre gatunki tych nicieni mogą także rozwijać się w bulwach ziemniaka. Wśród nich szczególne znaczenie mają dwa blisko spokrewnione ze sobą gatunki: guzak amerykański (*Meloidogyne chitwoodi* Golden et al.) i guzak holenderski (*Meloidogyne fallax* Karssen), które mają status organizmów kwarantannowych we wszystkich państwach członkowskich Unii Europejskiej, a także w wielu innych spoza UE. Ich obecność odnotowano w kilku krajach europejskich (Belgia, Francja, Holandia, Niemcy, Portugalia, Szwecja, Turcja i Wielka Brytania). Należy zauważyć, że w bulwach ziemniaka stwierdzono obecność kilku innych gatunków guzaków, które nie podlegają obowiązkowi zwalczania w krajach UE. Stąd szczególnie istotne jest, aby wykryte nicienie zostały poprawnie zidentyfikowane.

Z uwagi na możliwość przeniknięcia *M. chitwoodi* i *M. fallax* do Polski wraz z bulwami ziemniaka pracownicy Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa (PIO-RiN) prowadzą poszukiwania obu tych gatunków zarówno w ziemniakach pochodzenia krajowego, jak i pochodzących z importu.

Materiał i metody

Badania próbek sadzeniaków ziemniaka pochodzenia krajowego oraz ziemniaków konsumpcyjnych z importu były prowadzone przez laboratoria PIORiN w latach 2010-2018. Bulwy analizowano makroskopowo w celu zlokalizowania zewnętrznych objawów porażenia – niewielkich płaskich wyrosli na powierzchni skórki, zwykle o średnicy nieprzekraczającej 1 cm, wyglądem przypominających zmiany chorobowe powodowane przez parch. Następnie zdejmowano skórkę bulw w celu poszukiwania objawów porażenia wewnętrznego w postaci brązowych nekrotycznych plamek o średnicy ok. 1 mm, pojawiających się w miejscu występowania samic guzaków.

Ponadto co roku z pięciu próbek elitarnych i kwalifikowanych sadzeniaków ziemniaka wyprodukowanych na terenie każdego województwa (poza dolnośląskim – ze względu na brak prób sadzeniaków) oraz ze wszystkich roślin podejrzanych o porażenie przez guzaki pobierano próby obejmujące skórkę bulw i znajdującą się pod nią warstwę miąższu o grubości 1-3 mm, które poddawano analizie w laboratoriach Inspekcji z zastosowaniem metody enzymatycznej (Karnkowski i in. 2013).

Identyfikację samic i osobników młodocianych J_2 przeprowadzono metodą mikro-

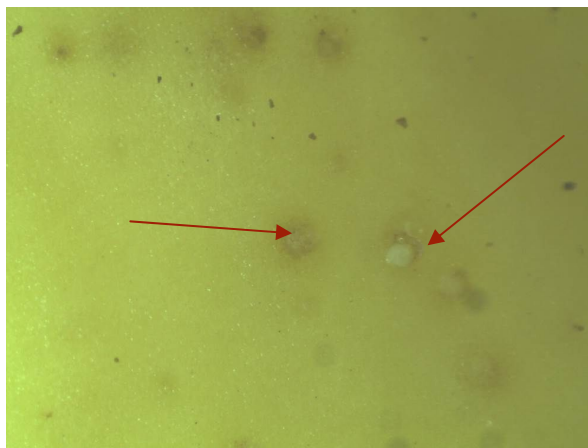
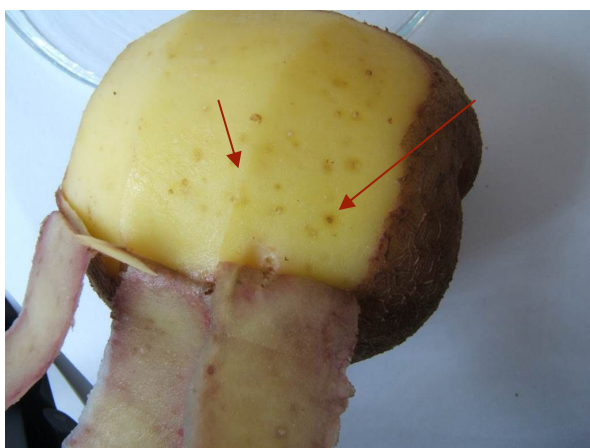
skopową (morfologiczno-metryczną) na podstawie publikacji Brzeskiego (1998), Karsse-na (1999) oraz Dobosz i innych (2008, 2014). Następnie samice, złoża jajowe i osobniki młodociane nicieni poddawano identyfikacji w Centralnym Laboratorium GIORiN w Toruniu z zastosowaniem technik biologii molekularnej. Przynależność materiału do rodzaju *Meloidogyne* potwierdzano testem PCR-ITS. W przypadku pozytywnego wyniku badania stosowano metodę PCR-SCAR, pozwalającą wykluczyć obecność gatunków *M. chitwoodi* i *M. fallax* (OEPP/EPPO 2009, 2016). W celu dalszej identyfikacji badanych nicieni do innych, niekwarrantannowych gatunków z rodzaju *Meloidogyne*, zastosowano cięcie produktu PCR enzymami restrykcyjnymi (OEPP/EPPO 2009; Karnkowski i in. 2013).

Wyniki

W latach 2010-2018 laboratoria PIORiN przebadaly na obecność *M. chitwoodi* i *M. fallax*, metodą przeglądania mięszu bulw, 29 718 próbek ziemniaków, z czego 683 (2,30%) zostały dodatkowo poddane analizie z zastosowaniem metody enzymatycznej. Obecność guzaków (*Meloidogyne* spp.)

stwierdzono w 61 próbkach (0,21%), w tym w 59 próbkach sadzeniaków pochodzenia krajowego (34 z woj. lubelskiego, 8 z pomorskiego, 5 z kujawsko-pomorskiego, 4 z lubuskiego, 3 z podkarpackiego, 2 z podlaskiego i po 1 próbce z łódzkiego oraz wielkopolskiego), a także w 2 próbkach ziemniaków jadalnych pochodzących z Egiptu, pobranych do badań ze sklepów na terenie województw łódzkiego i świętokrzyskiego.

Bulwy pochodzenia krajowego porażone przez guzaki nie wykazywały żadnych objawów zewnętrznych porażenia. Obecność małych (ok. 1 mm średnicy) nekrotycznych plamek zaobserwowano dopiero po zdjęciu skórki, głównie w okolicach oczek (w miejscach występowania samic guzaków i ich złoż jajowych). Z reguły plamki te występowały w niewielkiej liczbie, rzadziej notowano ich większe nasilenie (fot. 1). Objawy porażenia wewnętrznego bulw wywołwane przez różne gatunki guzaków są podobne i nie pozwalają na odróżnienie gatunków tych nicieni. W kilku przypadkach nie stwierdzono zewnętrznych ani wewnętrznych objawów porażenia i dopiero użycie metody enzymatycznej pozwoliło na wykrycie obecności guzaków, których liczebność była niewielka.



Fot. 1. Bulwa ziemniaka porażona przez *Meloidogyne* hapla – widoczne wewnętrzne objawy porażenia w postaci znacznej liczby brunatnych plamek w miejscu występowania samic nicieni (fot. Małgorzata Stadnicka)

Na ziemniakach pochodzenia egipskiego także nie było widocznych objawów zewnętrznych porażenia, a objawy porażenia wewnątrz były analogiczne jak w przypadku bulw pochodzenia krajowego, chociaż generalnie objawy te wskazywały na większą populację nicieni w materiale roślinnym niż w większości porażonych próbek sadzeniaków

krajowych (fot. 2). Cechy morfologiczne analizowanych płytek perinealnych samic (w ich obrębie znajduje się wulwa, czyli otwór płciowy i odbyty) oraz osobników młodocianych guzaków, stwierdzonych w ziemniakach krajowych i importowanych z Egiptu, wykluczyły ich przynależność do gatunków *M. chitwoodi* i *M. fallax*.



Fot. 2. Bulwa ziemniaka porażona przez *Meloidogyne javanica* – brak wyraźnych zewnętrznych objawów porażenia (po lewej) oraz widoczne wewnętrzne objawy porażenia w postaci znacznej liczby brunatnych plamek w miejscu występowania samic nicieni (fot. Tomasz Konefał)

Przeprowadzone testy molekularne (PCR-ITS i PCR-SCAR) również wykluczyły wystąpienie gatunków kwarantannowych. W sadzeniakach pochodzenia krajowego zidentyfikowano gatunek *M. hapla* (często występujący w Polsce, porażający rośliny zielne i zdrewniałe w gruncie oraz pod osłonami) z zastosowaniem testu PCR-RFLP.

W ziemniakach pochodzenia egipskiego wykryto gatunek *M. javanica*, który w Polsce jest notowany tylko w uprawach szklarniowych. Nasilenie występowania obu gatunków nicieni było jednak stosunkowo niewielkie.

Należy nadmienić, że w Polsce po raz pierwszy guzaka północnego znaleziono w uprawie ziemniaka w latach 50. XX wieku (Wilski 1971), lecz przedstawione wyniki opisują jedynie obraz porażenia korzeni ro-

ślin. Brakuje informacji, czy nicien ten był obserwowany także na bulwach.

Na występowanie objawów na bulwach ziemniaka porażonych przez guzaki może mieć wpływ rozmieszczenie geograficzne. Przykładowo, na powierzchni bulw porażonych przez *M. hapla*, stwierdzonych w Bośni i Hercegowinie, często obserwuje się wyraźne guzowate wyrośla przypominające wyglądem objawy powodowane przez parch ziemniaka (fot. 3), czego jak dotąd nie notowano na ziemniakach zebranych na terenie Polski. Prawdopodobnie przyczyną takiego stanu rzeczy jest cieplejszy klimat w Bośni i Hercegowinie niż w naszym kraju. Dzięki temu guzaki mogą rozwijać się intensywniej, wytwarzając większą liczbę pokoleń w ciągu roku, a tym samym dając wyraźne objawy porażenia, co ułatwia wykrycie szkodnika w porażonych bulwach.



Fot. 3. Bulwa ziemniaka porażona przez *Meloidogyne hapla* – widoczne zewnętrzne objawy porażenia w postaci wyraźnych guzowatych wyrośli przypominających wyglądem objawy powodowane przez parch ziemniaka, które nie były jak dotąd notowane na porażonych przez tego nicienia ziemniakach pochodzenia krajowego (fot. Branimir Njezić, Banja Luka, Bośnia i Hercegowina)

Wyniki badań wskazują, że w sadzeniakach ziemniaka mogą być obecne guzaki (*Meloidogyne* spp.). Wprawdzie jak dotąd nie wykryto kwarantannowych gatunków *M. chitwoodi* i *M. fallax*, to jednak ich pojawienie się w Polsce na ziemniakach jest prawdopodobne.

Guzak amerykański i guzak holenderski mogą zostać zawleczone do Polski przede wszystkim z sadzeniakami ziemniaka, roślinami do sadzenia innych gatunków żywicielskich, chociaż nie można wykluczyć przeniesienia z materiałem konsumpcyjnym, takim jak ziemniaki do konsumpcji, warzywa korzeniowe itp. Szczególnym zagrożeniem wydają się sadzeniaki ziemniaka, zważywszy na skalę ich importu do Polski oraz możliwość zasiedlenia szkodnika na nowych terenach po wysadzeniu porażonych bulw. Dlatego badania na obecność tych nicieni będą kontynuowane w kolejnych latach. Ponadto w roku 2019 rozpoczęto badania na obecność guzaków w ziemniakach innych niż sadzeniaki, tj. ziemniaki konsumpcyjne i przemysłowe. Badania te będą prowadzone z użyciem metody przeglądania miąższu bulw oraz metody enzymatycznej.

Ekspresowe Oceny Zagrożenia Agrofagiem (Express PRA) przeprowadzone dla gatunków *M. chitwoodi* (Dobosz i in. 2016a) i *M. fallax* (Dobosz i in. 2016b) wykazały, że obydwa te nicienie wprowadzone na terytorium Polski mogą zasiedlić potencjalnie obszar całego kraju. Podkreślono, że w Polsce występuje wiele gatunków roślin wyższych będących ich żywicielami. W dokumencie Express PRA dla *M. chitwoodi* (Dobosz i in. 2016a) uznano, że dane o warunkach klimatyczno-glebowych Polski dają podstawy do przypuszczeń, że nicien ten może wyrządzać szkody w południowo-zachodniej części naszego kraju. Można tam oczekiwać spadku jakości i wartości plonu w uprawie odmian ziemniaka i marchwi o długim okresie wegetacji. W pozostałej części kraju guzak amerykański nie powinien wywoływać szkód. Natomiast *M. fallax* może stanowić zagrożenie głównie w uprawach marchwi, ziemniaka i skorzonery na terenie całego kraju. Istnieje również prawdopodobieństwo wyrządzania szkód przez nicienia w uprawach pod osłonami, np. pomidora (Dobosz i in. 2016b).

W przypadku stwierdzenia guzaka agresywnego i/lub guzaka amerykańskiego w ziemniakach (zarówno sadzeniakach, jak i ziemniakach konsumpcyjnych oraz przemysłowych pochodzenia krajowego), a także w uprawach innych roślin żywicielskich dla guzaków (np. pomidora, warzyw korzeniowych, ozdobnych roślin cebulowych) konieczne będzie podjęcie działań w celu wyeliminowania nicieni oraz ustalenie miejsca pochodzenia ziemniaków, cebul roślin ozdobnych, rozsady warzyw itp, z których wyprodukowano porażony materiał, i podjęcie odpowiednich kroków także w tych miejscach. Niezbędne będzie także zintensyfikowanie lustracji poszukiwawczych szkodników, obejmujących pobieranie i analizę laboratoryjną materiału roślinnego oraz gleby, aby wykryć ewentualne dalsze stanowiska, w których one występują, i podjąć niezwłoczne działania w celu ich zwalczania.

Literatura

- 1. Brzeski M. W. 1998.** Nematodes of *Tylenchina* in Poland and temperate Europe. Muzeum i Instytut Zoologii PAN Warszawa;
- 2. Dobosz R., Czyż M., Gawlak M., Kałuski T. 2016a.** Ekspresowa Ocena Zagrożenia Agrofagiem (Express PRA): *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo et Finley, 1980. IOR-PIB Poznań: 16 s. https://www.plantquarantine.pl/user_storage/36/pliki/pr_67/Meloidogyne%20chitwoodi.pdf;
- 3. Dobosz R., Czyż M., Gawlak M., Kałuski T. 2016b.** Ekspresowa Ocena Zagrożenia Agrofagiem (Express PRA): *Meloidogyne fallax* Karssen, 1996. IOR-PIB Poznań: 17 s.;
- 4. Dobosz R., Obrępałska-Stęplowska A., Nowaczyk K., Kornobis S. 2008.** Diagnostyka nicieni pasożytów objętych regulacjami prawnymi. Instr. do rozpoznawania gatunków z rodzaju *Meloidogyne*. IOR-PIB Poznań: 32 s.;
- 5. Dobosz R., Wieczorek P., Nowaczyk K., Obrępałska-Stęplowska A. 2014.** Diagnostyka nicieni pasożytów objętych regulacjami prawnymi. Instr. do rozpoznawania gatunków z rodzaju *Meloidogyne*. Wyd. 2. IOR-PIB Poznań: 32 s. https://www.plantquarantine.pl/user_storage/36/pliki/pr_68/Meloidogyne%20fallax.pdf;
- 6. Eisanback J. D., Trianthaphyllou H. H. 1991.** Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. [In:] Manual of Agricultural Nematology. Nickle W. R. (ed.). Marcel Dekker Inc., New York-Basel-Hong Kong: 191-274;
- 7. Jepson S. B. 1987.** Identification of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). CAB Int. Wallingford (Wielka Brytania);
- 8. Karnkowski W., Dobosz R., Stadnicka M., Saldat M. 2014.** Wystąpienie guza-

- ka północnego (*Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949) (*Nematoda, Meloidogynidae*) w sadzeniakach ziemniaka na terytorium Polski. – Prog. Plant Prot. 32, 2: 371-375; **9. Karssen G. 1999.** The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Goldi, 1892 (*Tylenchida*) in Europe. PH.D. Thesis, Ghent Univ.: 160 s.; **10. Karssen G., Wesemael W., Moens M. 2013.** Root-knot nematodes. [In:] Plant Nematology. 2nd edn (ed Perry R. N., Moens M.). CAB Int., Wielka Brytania: 73-108; **11. Nijs L. J. M. F. den, Brinkman H., Sommen A. T. C. van der 2004.** A Dutch contribution to knowledge on phytosanitary risk and host status of various crops for *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*, an overview. Nematology 5: 727-734; **12. OEPP/EPPO 2009.** EPPO Standards. PM 7/41 (2) *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. – Bull. OEPP 39: 5-17; **13. OEPP/EPPO 2016.** EPPO Standards. PM 7/41 (3) *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. – Bull. OEPP 46: 171-189; **14. Wilski A. 1971.** Doświadczenia wazono-we nad wpływem porażenia ziemniaków przez mątwika północnego (*Meloidogyne hapla*) na plon bulw. – Pr. Nauk. IOR 13(1): 191-194