

STAȚIUNEA DE CERCETARE – DEZVOLTARE PENTRU CARTOF TÂRGU SECUIESC



ADER 5.2.1. - Cercetări privind perfecționarea sistemului de monitorizare, prevenire și control a principalelor boli bacteriene și dăunători de carantină care afectează producerea cartofului în România, *Clavibacter*, *Ralstonia*, *Synchytrium endobioticum*, *Dithylenchus* sp

Contract de finanțare 5.2.1. / 19.09.2019

FAZA II / 29.10.2020

Obiectivele generale

01

Elaborarea unei strategii pentru monitorizarea și controlul suprafețelor de cartof contaminate cu organisme de carantină la nivel de parcelă conform hărților APIA;

02

Elaborarea și implementarea de metodologii noi pentru prelevare de probe și testare, în vederea depistării prezenței / absenței organismelor de carantină fitosanitară la cartof într-o perioadă mai scurtă de timp.

Obiective specifice

01

Stabilirea suprafeței contaminate / organisme de carantină, în exploatarea autorizată pentru producerea cartofului pentru sămânță;

02

Testări privind toleranța liniilor noi de cartof la nematozii cu chiști și râia neagră în vederea omologării;

03

Îmbunătățirea metodelor de laborator privind identificarea absenței / prezenței organismelor de carantină în probele de sol și tuberculi la cartof.

Obiective măsurabile

01

Grafice de prelevare probe și testare pentru fiecare organism de carantină cu perioade bine stabilite și evitarea blocajelor în valorificarea producției

02

Ghiduri de specialitate
Broșuri și pliante pentru implementarea rezultatelor

03

Manual de prezentare "Organisme de carantină la cartof"

Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivelor fazei

01 Elaborarea unui model experimental pentru depistarea rapidă a râiei negre și a putregaiului inelar

02 Rezultate privind rezistența noilor soiuri de cartof create în țara noastră, a soiurilor din import, precum și a liniilor în curs de ameliorare la *Synchytrium endobioticum*

03 Monitorizarea și identificarea suprafețelor afectate de atacul nematozilor din genul *Dithylenchus*, la nivel de plantă și în depozit

Activități preconizate pentru atingerea obiectivului fazei II / 29.10.2020

Denumire fază	Parteneri implicați	Rezultate	Elem. de monitorizare
Activitatea 2.1. Analiza metodelor de depistare a organismelor de carantină la cartof (râia neagră și putregaiul inelar) în vederea îmbunătățirii acestora pentru scurtarea timpului de diagnosticare	CP, P₁ P₃	- Model experimental pentru depistarea rapidă a râiei negre și a putregaiului inelar	Raport de cercetare
Activitatea 2.2. Testarea unor soiuri / linii de cartof pentru stabilirea toleranței la organisme de carantină fitosanitară	CP, P₁ P₂ P₃	Lista soiurilor / liniilor testate	Raport de cercetare
Activitatea 2.3. Monitorizarea și identificarea suprafețelor afectate de atacul nematozilor din genul <i>Dithylenchus</i> , la nivel de plantă și în depozit. Analize de laborator, determinări, înregistrare date pedoclimatice	P₂	Influența gradului de infecție asupra producției totale	Raport privind gradul de atac la cartoful pentru sămânță și consum din câmp și depozit. Date pedo-climatice

CP – Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Cartof Târgu Secuiesc

P₁ – Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare Agricolă Suceava

P₂ – Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Cartof și Sfeclă de Zahăr Brașov

P₃ – Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Cinegetică și Resurse Montane Miercurea Ciuc

Activitatea 2.1: Analiza metodelor de depistare a organismelor de carantină la cartof (râia neagră și putregaiul inelar) în vederea îmbunătățirii acestora pentru scurtarea timpului de diagnosticare

Rezistența sau sensibilitatea soiurilor de cartof la *Synchytrium endobioticum* se determină prin testări în condiții de laborator și de câmp.

În cadrul testărilor în laborator tuberculii se infectează artificial iar pentru testările de câmp infestarea plantelor se face natural din solul puternic infestat cu agentul patogen de *Synchytrium endobioticum*.

a) Metode de analiză în laborator:

Testarea în condiții de laborator se execută prin două metode :

- metoda lui *Glynne*
- metoda *Lammertahil* (metoda paharului)

b) Analize în condiții de câmp

Dezavantajul testărilor în laborator constă în faptul că plantele sunt expuse la infecție în timp mult mai scurt.

Avantajul testărilor în laborator constă în posibilitatea asigurării condițiilor optime de umiditate și temperatură.

Considerăm că pentru aprecierea corespunzătoare a rezistenței sau sensibilității la agentul patogen a genotipurilor de cartof este necesară folosirea atât a metodelor de laborator cât și a celor de câmp.

Ca noutate la S.C.D.A. Suceava, unde există un laborator acreditat pentru râia neagră s-au inițiat cercetări pentru determinarea rezistenței la acest patogen prin determinarea compoziției chimice privind:

- conținutul de substanță uscată, umiditate, cenușă, aciditate titrabilă, acid ascorbic și amidon;
- conținutul de azot total și proteină brută, activitatea catalizică și activitatea polifenoloxidazie.

Metoda de determinare a rezistenței cartofului la râia neagră produsă de ciuperca *Synchytrium endobioticum* prin analize biochimice, este mai rapidă și mai precisă și va ușura foarte mult munca de testare a rezistenței la acest patogen prin eliminarea unui volum foarte mare de testări în condiții de câmp prin infecție naturală și în condiții de laborator prin infecție artificială.

METODE de detectare și identificare a bacteriei *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* pe probe de tuberculi de cartof fără simptome

Procedura de testare vizează detectarea infecțiilor latente ale tuberculilor de cartof. Orice rezultat pozitiv la cel puțin două teste de depistare, bazate pe principii biologice diferite, trebuie completat cu izolarea organismului patogen, urmată, în caz de izolare a coloniilor caracteristice, de confirmarea unei culturi pure ca fiind *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. Rezultatul pozitiv al unui singur test de depistare nu este suficient pentru ca proba să fie considerată suspectă.

Dimensiunea probei standard este de 200 de tuberculi, deși procedura poate fi aplicată și unor probe mai mici, în cazul în care nu se dispune de 200 de tuberculi.

În cazul în care cel puțin două teste bazate pe principii biologice diferite sunt pozitive, trebuie să se efectueze izolarea și confirmarea. Se va realiza cel puțin un test de depistare. În cazul în care testul respectiv este negativ, proba se consideră negativă. În cazul în care testul este pozitiv, trebuie să se efectueze cel puțin un al doilea test de depistare, bazat pe principii biologice diferite, pentru a verifica primul rezultat pozitiv.

În cazul în care al doilea test sau următoarele sunt negative, proba este considerată negativă. În acest caz nu este necesară efectuarea altor teste.

Testul de imunofluorescență utilizează întotdeauna un anticorp policlonal, se poate obține o specificitate mai mare, asociind anticorpului menționat anticorpi monoclonali suplimentari.

Testul reacției de polimerizare în lanț (PCR) utilizează reactivi și protocoale PCR validate în mod corespunzător.

Testul de hibridizare fluorescentă in situ (FISH) utilizează reactivi și protocoale validate.

Izolarea selectivă este asociată cu utilizarea unui mediu MTNA sau NCP-88 și a unei diluări la 1 / 100 din sediment resuspendat, izolarea selectivă constituie, în numeroase cazuri, o metodă bună de izolare directă a bacteriei *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus*. În cazul obținerii unui rezultat eronat la testul de însămânțare, izolarea trebuie efectuată din plantele utilizate pentru testul biologic.

Testul biologic este utilizat pentru izolarea bacteriei *Clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus* din extractele de cartof, prin îmbogățire selectivă în plante de vinete (*Solanum melongena*). Sunt necesare condiții optime de incubare, în conformitate cu specificațiile procedurii în cauză.

Activitatea 2.2: Testarea unor soiuri / linii de cartof pentru stabilirea toleranței la organismele de carantină fitosanitară

În anul 2020 au fost supuse procesului de analiză a rezistenței la infecția cu râia neagră (*Synchytrium endobioticum*) un număr de 79 genotipuri nou create (linii de ameliorare) în cadrul programelor de ameliorare la cultura cartofului din S.C.D.A. Suceava, S.C.D.C. Târgu Secuiesc și I.N.C.D.C.S.Z. Brașov.

După efectuarea bonității materialului genetic (luna septembrie) s-a constatat că din cele 79 genotipuri analizate, 33 (41%) au manifestat reacție de sensibilitate la patogen. Pentru a da un calificativ final cu privire la rezistența la patogen se impune ca genotipurile care s-au manifestat ca rezistente să fie testate încă două cicluri de vegetație sub presiunea agentului patogen.

Testarea soiurilor de cartof cu privire la reacția față de infecția cu *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* (putregaiul inelar)

La S.C.D.C. Târgu Secuiesc în anul 2020 au fost prelevate de către inspectorii fitosanitari pentru testare la Laboratorul Central Fitosanitar București un număr de 42 probe din 7 soiuri de cartof cultivate pentru producere de sămânță pe o suprafață de 21 ha. Toate probele prelevate au fost negative.

Activitatea 2.3: Monitorizarea și identificarea suprafețelor afectate de atacul nematozilor din genul *Ditylenchus*, la nivel de plantă și în depozit. Analize de laborator, determinări, înregistrare date pedoclimatice

Pentru stabilirea rezistenței la *Ditylenchus destructor* a fost monitorizată simptomatologia externă și internă a tuberculilor de cartof prelevați din diferite locații.

Au fost efectuate observații și analize în câmp și în laborator.

S-a evidențiat importanța calității fitosanitare a materialului de plantat (o parte din el din import).

Majoritatea producătorilor de cartof pentru sămânță fiind informați și conștienți de riscul infestărilor nedetectate în perioada de vegetație și de depozitare a cartofului sunt dispuși la colaborare pentru a împiedica apariția acestor dăunători de carantină

Niciunul dintre soiurile supuse analizei în perioada de vegetație nu a prezentat simptome externe specifice atacului cu nematozi.

Alte fenomene (puire, încolțire, inverzire) au fost observate în proporții variabile în funcție de soiurile studiate.

De asemenea a fost observat atacul unor boli și dăunători care nu sunt de carantină.

Rezultate, stadiul realizării obiectivului, concluzii și propuneri pentru continuarea proiectului:

- ✓ În cadrul Fazei II / 29.10.2020 au fost executate integral activitățile prevăzute în planul de realizare și avizate prin procesele verbale de avizare internă.
- ✓ În laboratorul de la Pojorâta, acreditat pentru testarea toleranței tuberculilor la râia neagră (*Synchytrium endobioticum*) au fost testate un număr de 79 linii și soiuri de cartof.
- ✓ Scurtarea perioadei de determinare a rezistenței la râia neagră reprezintă o noutate la nivel național și se realizează prin determinări biochimice din pulpa de cartof.
- ✓ Cu privire la reacția față de infecția cu *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (putregaiul inelar) au fost prelevate pentru testare la Laboratorul Central Fitosanitar București un număr de 42 probe din 7 soiuri de cartof cultivate pe o suprafață de 21 ha pentru producere de sămânță, toate probele fiind negative.

Rezultate, stadiul realizării obiectivului, concluzii și propuneri pentru continuarea proiectului:

- ✓ Pentru stabilirea rezistenței la *Ditylenchus destructor* a fost monitorizată simptomatologia externă și internă a tuberculilor de cartof prelevați din diferite locații.
 - ✓ Au fost efectuate observații și analize în câmp și în laborator.
 - ✓ S-a evidențiat importanța calității fitosanitare a materialului de plantat (o parte din el din import). Majoritatea producătorilor de cartof pentru sămânță fiind informați și conștienți de riscul infestărilor nedetectate în perioada de vegetație și de depozitare a cartofului și sunt dispuși la colaborare pentru a împiedica apariția acestor dăunători de carantină
- 