

Zadanie 1.6. Diagnostyka oraz zmienność populacyjna bakterii *Erwinia amylovora*, sprawcy zarazy ogniowej

Kierownik zadania: **dr hab. J. Puławska**

Wykonawcy: mgr A. Mikiciński, mgr M. Kałużna, prof. dr hab. P. Sobiczewski, H. Kijańska, H. Kołodziejek, K. Strojny

Celem badań była ocena przydatności różnych technik do wykrywania bakterii *Erwinia amylovora* – sprawcy zarazy ogniowej, w materiale roślinnym i opracowanie metody wykrywania z zastosowaniem najlepszej z technik. Oceniano cztery techniki: i/klasyczną mikrobiologiczną z hodowlą bakterii na podłożach mikrobiologicznych; ii/ technikę PCR z zastosowaniem starterów komplementarnych do DNA chromosomalnego, iii/ technikę real-time PCR ze starterami komplementarnymi do powszechnie występującego plazmidu pEA29, iv/ Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) pod kątem: a) czułości wykrywania w czystej kulturze bakteryjnej i w materiale roślinnym; b) wrażliwości na zanieczyszczenia pochodzenia roślinnego; c) powtarzalności otrzymanych wyników; d) czasochłonności, pracochołonności oraz kosztów. Wszystkie oceniane techniki wykazały się wysoką specyficznością przy wykrywaniu *E. amylovora*. Na najbardziej czułe wykrywanie bakterii, zarówno w czystej kulturze bakteryjnej jak i w materiale roślinnym, pozwalają techniki real-time PCR i LAMP (10^0 jtk/ml). Najmniej wrażliwa na zanieczyszczenia pochodzenia roślinnego jest technika LAMP, a najbardziej PCR. Najbardziej powtarzalne wyniki uzyskano w przypadku stosowania techniki klasycznej i real-time PCR, a najmniej w przypadku techniki LAMP. Najmniej czaso- i pracochołną techniką jest real-time PCR, a najbardziej - klasyczna technika mikrobiologiczna. Najtańszą techniką jest klasyczna technika mikrobiologiczna, a koszt analizy próbek wszystkimi technikami opartymi o analizę DNA jest na podobnym poziomie. Real-time PCR wybrano jako optymalną technikę i z jej zastosowaniem opracowano protokół wykrywania *E. amylovora*.