

STRESZCZENIE

Grzyby rodzaju *Monilinia*, sprawcy brunatnej zgnilizny drzew ziarnkowych i brunatnej zgnilizny drzew pestkowych, powodują corocznie straty o znaczeniu gospodarczym, zarówno w wielkości, jak i jakości plonów. W różnych krajach zidentyfikowano dotychczas następujące gatunki porażające drzewa owocowe: *M. fructigena*, *M. laxa*, *M. fructicola*, *M. polystroma*, *M. mumecola* i *M. yunnanensis*. W Polsce, do czasu rozpoczęcia badań opisanych w niniejszej pracy, wykryto tylko *M. fructigena* i *M. laxa*.

Celem niniejszej pracy była identyfikacja czynników sprawczych brunatnej zgnilizny drzew ziarnkowych i brunatnej zgnilizny drzew pestkowych oraz opracowanie charakterystyki fenotypowej i molekularnej wybranych izolatów *Monilinia* spp. porażających różne gatunki drzew owocowych w Polsce.

W latach 2010-2015, z owoców z objawami brunatnej zgnilizny drzew ziarnkowych i brunatnej zgnilizny drzew pestkowych, zebranych z 62 komercyjnych sadów zlokalizowanych w różnych regionach kraju uzyskano 1208 izolatów, z których utworzono kolekcję kultur jednocarodnikowych *Monilinia* spp. Ich identyfikację przeprowadzono w oparciu o cechy fenotypowe przedstawione w standardzie EPPO PM 7/18(2) (2009), a także przy użyciu techniki multiplex PCR opisanej przez Côté i in. (2004) oraz na podstawie sekwencji nukleotydowej regionu ITS dla wybranych izolatów. Na tej podstawie 677 izolatów zaklasyfikowano do gatunku *M. fructigena*, 410 do – *M. laxa*, 73 do – *M. fructicola* i 48 do – *M. polystroma*. Zastosowane metody identyfikacji pozwoliły na wykrycie w naszym kraju dwóch nowych czynników sprawczych badanych chorób, a mianowicie *M. fructicola* i *M. polystroma*. Wykazano zdolność szczepów reprezentujących cztery zidentyfikowane w Polsce gatunki do wywoływania objawów chorobowych w teście na owocach śliwy. Stwierdzono także ich zróżnicowanie pod względem tempa przyrostu grzybni czy zdolności do wytwarzania form przetrwalnych na selektywnych pożywkach: APDA-F500 i CHA.

W celu poznania zależności filogenetycznych między szczepami czterech gatunków *Monilinia* spp. oraz określenia czynników wpływających na zróżnicowanie genetyczne populacji tych grzybów w Polsce zaprojektowano startery do dotychczas niebadanych dla grzybów tego rodzaju fragmentów genów *hsp60*, *acp1* i *pac1*. Analiza sekwencji przeprowadzona dla tych genów oraz dla genu *tub2*, jako genu referencyjnego, a także dla sekwencji powstałej z połączenia czterech genów wykazała wysoki poziom podobieństwa wszystkich testowanych szczepów w obrębie gatunków, co wskazuje na klonalny charakter badanych populacji *Monilinia* spp. Nie wykryto również zdarzeń rekombinacji dla żadnego

z analizowanych *loci*. Uzyskane wyniki sugerują, że zmienność genetyczna szczepów w obrębie gatunków grzybów rodzaju *Monilinia* w naszym kraju jest wynikiem mutacji zachodzących w ich genomach, a nie skutkiem wymiany materiału genetycznego. Dodatkowo stwierdzono, że geny *acp1* i *pac1* są dobrymi markerami filogenetycznymi, a analiza ich sekwencji może być traktowana jako metoda identyfikacji badanych gatunków grzybów rodzaju *Monilinia*.

W toku badań wykazano, że *M. polystroma* wywołuje brunatną zgniliznę drzew pestkowych na wiśniach i czereśniach. Jak dotąd, jest to pierwsze takie doniesienie na świecie. W celu określenia poziomu genetycznego zróżnicowania szczepów tego gatunku, wyizolowanych z wiśni i czereśni oraz innych drzew owocowych poddano je genotypowaniu z zastosowaniem różnych technik genetycznego odcisku palca (*ang.* DNA fingerprinting): RAPD, ISSR oraz PCR MP. Analiza uzyskanych wyników wykazała niski poziom zmienności genetycznej szczepów pochodzących z Polski i ich wysokie podobieństwo do szczepu referencyjnego pochodzącego z Japonii. Największy poziom zróżnicowania szczepów *M. polystroma* uzyskano na podstawie wyników genotypowania metodą ISSR. Na dendrogramach skonstruowanych na podstawie polimorfizmu produktów amplifikacji dla każdej z użytych technik PCR szczepy *M. polystroma* pochodzące z wiśni i czereśni nie tworzyły jednej monofiletycznej grupy, a grupowały się razem ze szczepami wyizolowanymi z innych roślin-gospodarzy. Szczepy *M. polystroma* pozyskane z wiśni i czereśni wywoływały objawy na owocach innych gatunków drzew owocowych, w tym śliwy i jabłoni, co świadczy o braku specjalizacji patogenicznej w stosunku do rośliny-gospodarza.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad brunatną zgnilizną drzew pestkowych i brunatną zgnilizną drzew ziarnkowych przeprowadzonych po raz pierwszy w Polsce w tak szerokim zakresie, zarówno nad występowaniem, jak i etiologią tych chorób na różnych gatunkach drzew owocowych.