

Bakterie pektynolityczne z rodziny *Pectobacteriaceae*, a należące do rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium*, powodują czarną nóżkę oraz mokrą zgniliznę ziemniaka. Warto wspomnieć, że objawy mokrej zgnilizny obserwuje się także na innych roślinach uprawnych, warzywach czy też roślinach ozdobnych. Straty ekonomiczne powodowane przez tę grupę drobnoustrojów mogą sięgać nawet $50 - 100 \times 10^6$ dolarów amerykańskich rocznie. Obecnie dużym zainteresowaniem fitopatologów cieszy się gatunek *Dickeya solani*. Wynika to zarówno ze stosunkowo niedawnego wyodrębnienia tego taksonu, jak również wysokiej wirulencji izolowanych dotychczas szczepów. Należy podkreślić, że stosowane jak dotąd metody ochrony roślin przed czarną nóżką oraz mokrą zgnilizną ograniczają się jedynie do środków prewencyjnych. Stąd, w ramach przedstawionej rozprawy doktorskiej podjęto się następujących zadań badawczych: i) monitoringu występowania mikroorganizmów z rodziny *Pectobacteriaceae* na terenie Polski, ii) analizy bioróżnorodności w obrębie gatunku *D. solani* na poziomie fenotypowym i genetycznym, iii) opracowania nowych metod kontroli bakterii fitopatogennych.

Na podstawie badań występowania bakterii pektynolitycznych na plantacjach nasiennych ziemniaka, prowadzonych w latach 2013 oraz 2014, stwierdzono obecność drobnoustrojów z gatunku *D. solani* na obszarze Polski. Jednakże te mikroorganizmy wykrywano znacznie rzadziej niż bakterie należące do rodzaju *Pectobacterium*. Szczegółowa charakterystyka 20 szczepów *D. solani*, izolowanych na przestrzeni wielu lat na różnych obszarach geograficznych, wykazała, że efektywnie produkują one czynniki wirulencji, włączając w to enzymy degradujące ścianę komórkową roślin. Posiadają także zdolność do maceracji tkanki cykorii oraz ziemniaka. Warto podkreślić, że zidentyfikowano dwa szczepy (IFB0223 i IFB0455) o znacząco niższym poziomie aktywności wspomnianych enzymów degradujących ścianę komórkową roślin, obniżonej zdolności do wywoływania objawów chorobowych oraz wolniejszym tempie namnażania się. Analiza chemicznej struktury antygeny O w obrębie lipopolisacharydu u 4 szczepów *D. solani* o zróżnicowanej wirulencji wykazała, że na tę cząsteczkę składają się monomery 6-deoksy-d-altrozy, oraz że ma ona taką samą strukturę jak w przypadku szczepu modelowego *D. dadantii* 3937.

W ramach niniejszej pracy opracowano również metodę składania i anotacji genomów *D. solani*, której zastosowanie pozwoliło na zamknięcie sześciu składanych *de novo* sekwencji. Wykorzystanie zaproponowanej metody oraz uwzględnienie w analizie 22 genomów, pozwoliło na zamknięcie pangenu *D. solani*, co oznacza, że sekwencjonowanie kolejnych genomów nie doprowadzi do zwiększenia opisanej dotąd puli genowej tego gatunku. Badania wykazały, że struktura pangenu *D. solani* charakteryzuje się dominacją frakcji genów

rdzenia (ang. *core genome*; 84.7%), jak również relatywnie niewielkim udziałem genów pomocniczych (ang. *accessory genome*; 7.2%) oraz unikatowych (ang. *unique genome*; 8.1%). Anotacja funkcjonalna składników unikatowego pangenu do klastrów grup ortologicznych uwypukliła nadreprezentację w tej frakcji pangenu genów zaangażowanych w regulację transkrypcji oraz należących do szeroko-przyjętej grupy elementów mobilnych. Warto również podkreślić, że przeprowadzona analiza filogenetyczna, oparta o rdzeniową frakcję pangenu, pozwoliła na wykazanie pewnego związku pomiędzy szlakami handlu materiałem sadzeniakowym a rozprzestrzenianiem się bakterii fitopatogennych.

W trakcie przygotowywania tej rozprawy opracowano dwie nowe metody eradykacji fitopatogenów opierające się o wykorzystanie wyładowań jarzeniowych generowanych pod ciśnieniem atmosferycznym. Zastosowanie skonstruowanego na potrzeby tej pracy przepływowego układu reakcyjno-wyładowczego skutkowało unieczynnieniem od 3.43 logarytmu do wszystkich komórek drobnoustrojów fitopatogennych uwzględnionych w analizie. Efektywność zaproponowanego rozwiązania wynika z aktywności reaktywnych form tlenu i azotu oraz emisji promieniowania UV. Zaproponowana metoda może znaleźć zastosowanie w dekontaminacji płynnych odpadów pochodzących z sektora rolniczego bądź przemysłowego, jak również jakichkolwiek innych cieczy będących potencjalnymi nośnikami drobnoustrojów chorobotwórczych względem roślin. Druga metoda bazuje na wykorzystaniu sferycznych nanocząstek srebra, o strukturze regularnej centrowanej powierzchniowo, stabilizowanych za pomocą pektyn bądź SDS, a uzyskanych z zastosowaniem wspomnianych wyładowań jarzeniowych generowanych pod ciśnieniem atmosferycznym. Aplikacja zsyntetyzowanych nanostruktur o rozmiarze odpowiednio 9.33 ± 3.37 nm bądź 28.3 ± 11.7 nm względem szczepów należących do rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium* skutkowało wyznaczeniem minimalnych stężeń hamujących oraz bakteriobójczych w zakresie 0.75 - 5.5 mg l⁻¹. Warto nadmienić, że produkcja nanostruktur z wykorzystaniem plazm atmosferycznych nie wymaga zastosowania reduktorów o charakterze drażniącym czy toksycznym. Ta cecha zaproponowanej metody jest niezwykle istotna, mając na celu jej przyszłe wdrożenie do sektora rolniczego.