

OFERTA WDROŻENIOWA

Wykorzystanie techniki real-time PCR do ilościowego oznaczania *Phytophthora alni* w tkance roślinnej

Słowa kluczowe: *Phytophthora alni*, real-time PCR, ilościowe oznaczanie

Phytophthora alni to gatunek, który wyspecjalizował się w porażaniu olszy czarnej (*Alnus glutinosa*), szarej (*A. incana*) oraz sercowatej (*A. cordata*). Od czasu pierwszej izolacji w 1993 r. w południowej Anglii, jest powszechnie wykrywany w Europie, w tym także w Polsce. Objawy chorobowe powodowane przez *P. alni* to przejaśnienie liści wierzchołkowych, małe, rzadkie i często żółte listowie, wczesne i nadmierne owocowanie, tworzenie małych, nietypowych szyszek, zamieranie korzeni włóśnikowych, zgnilizna podstawy pędu oraz ciemnobrunatne wysięki na pniach. Wczesne i prawidłowe wykrycie patogena w materiale roślinnym, mające charakter nie tylko jakościowy, lecz także ilościowy, jest niezbędne do podjęcia racjonalnych działań przeciwdziałających wystąpieniu choroby i podjęciu skutecz-

negu zwalczania oraz zahamowania rozprzestrzeniania się czynnika chorobotwórczego. Taką możliwość daje technika real-time PCR, która umożliwia monitorowanie ilości produktu w każdym cyklu reakcji amplifikacji, dzięki czemu można oszacować liczbę kopii DNA na początku reakcji, porównując do krzywej standardowej, sporządzonej dla znanej liczby kopii DNA. Ponadto, amplifikacja i detekcja produktu odbywa się w jednym, zamkniętym naczyniu, co zmniejsza ryzyko zanieczyszczenia badanej próby. Proponowana metoda ilościowej oceny *P. alni* obejmuje izolację DNA z materiału roślinnego, według zmodyfikowanej procedury Doyle and Doyle, a następnie ilościowe oszacowanie DNA patogena przy użyciu techniki real-time PCR z zastosowaniem barwnika SYBR Green.



Zamieranie siewki olszy powodowane przez *P. alni*



Ciemnobrunatne wysięki na pniu olszy porażonej przez *P. alni*

Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne

Wczesne oszacowanie ilościowej obecności DNA patogena *P. alni* w tkance roślinnej będzie wskaźnikiem pomocnym w podjęciu działań zmniejszających możliwość wystąpienia choroby i zahamowania rozprzestrzeniania się czynnika chorobotwórczego. Metoda cechuje się dużą czułością, wysoką precyzją uzyskanych wyników oraz krótkim czasem oczekiwania na wynik.

Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa

Gospodarstwa szkółkarskie ogrodnicze i leśne, Ośrodki Doradztwa Rolniczego, Państwowy Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa

Twórcy oferty wdrożeniowej:

Samodzielna Pracownia Mikroskopii

Autor:

mgr Aleksandra Trzewik
tel. 46 834 55 34
e-mail: aleksandra.trzewik@inhort.pl

Współautorzy:

prof. dr hab. Teresa Orlikowska
prof. dr hab. Leszek B. Orlikowski